

**exportação – não se destina a venda nos EUA**
**ARK™ HS Benzodiazepine II Assay**

Leia atentamente este folheto informativo da ARK Diagnostics, Inc. antes de utilizar o Ensaio HS de benzodiazepina II da ARK. As instruções constantes no folheto informativo têm de ser rigorosamente observadas. O ensaio proporciona um procedimento de rastreio analítico simples e rápido para a detecção de benzodiazepinas na urina. Não é possível garantir a fiabilidade dos resultados do ensaio caso não se observem as instruções constantes neste folheto informativo.

Comunique ao fabricante qualquer incidente grave que tenha ocorrido relativamente ao dispositivo, assim como à autoridade competente adequada.

**Assistência ao cliente**

**ARK Diagnostics, Inc.**

48089 Fremont Blvd  
 Fremont, CA 94538 USA  
 Tel: 1-877-869-2320  
 Fax: 1-510-270-6298  
 customersupport@ark-tdm.com  
 SRN: US-MF-000023925












**2797**
**EC REP**

Emergo Europe  
 Westervoortsedijk 60  
 6827 AT Arnhem  
 The Netherlands

**CH REP**

MedEnvoy Switzerland  
 Gotthardstrasse 28  
 6302 Zug  
 Switzerland

**Símbolos utilizados**

	Código do lote	 YYYY-MM-DD	Data de validade
	Número de Catálogo		Fabricante
	Representante Autorizado	 2797	Marcação CE com número do organismo notificado
	Consulte as Instruções de Utilização		Reagente 1 / Reagente 2
	Limite de temperatura		Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
<b>Rx Only</b>	Para uso exclusivo sujeito a receita médica		

© 2025, ARK Diagnostics, Inc.

 Kit de reagentes  **5073-0001-00**

 Kit de reagentes  **5073-0001-01**

 Kit de reagentes  **5073-0001-02**

## 1 Nome

### **ARK™ HS Benzodiazepine II Assay**

## 2 Utilização prevista

O ensaio HS de benzodiazepina II ARK é um imunoensaio destinado à determinação qualitativa e/ou semiquantitativa de benzodiazepinas na urina humana, com concentrações limiares de 100 ng/ml e 200 ng/ml. O ensaio destina-se a ser utilizado em laboratórios com analisadores automáticos de química clínica. Este dispositivo para diagnóstico *in vitro* é de uso exclusivo sujeito a receita médica.

O modo semiquantitativo tem a finalidade de (1) permitir aos laboratórios determinar uma diluição adequada da amostra para confirmação através de um método confirmatório, como por exemplo cromatografia de gases acoplada a espectrometria de massas (GC/MS) ou cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em simultâneo (LC-MS/MS), ou (2) permitir aos laboratórios estabelecer procedimentos de controlo de qualidade.

O Ensaio HS de benzodiazepina II ARK proporciona apenas um resultado de teste analítico preliminar. Terá de utilizar-se um método químico alternativo mais específico para obter um resultado analítico positivo confirmado. A cromatografia de gases acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) ou cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em simultâneo (LC-MS/MS) é o método de confirmação preferencial. Deve usar-se de consideração clínica e discernimento profissional com qualquer resultado de teste a um fármaco, sobretudo quando o resultado do teste preliminar é positivo.

## 3 Resumo e explicação do teste

As benzodiazepinas pertencem a uma classe alargada de fármacos que deprimem o SNC, chamados sedativos-hipnóticos<sup>1</sup>. São prescritos como ansiolíticos, agentes indutores do sono, anticonvulsivantes, relaxantes musculares, e são também largamente utilizados para medicação pré-anestésica e para suplementar, induzir e manter a anestesia<sup>1,2,3</sup>.

Embora sejam amplamente prescritas, há também abuso no consumo das benzodiazepinas<sup>2-4</sup>. O uso crónico de benzodiazepinas pode causar dependência física, com sintomas de privação como insónia, agitação, irritabilidade, tensão muscular e, nos casos mais graves, alucinações, psicose e convulsões<sup>1,2</sup>.

O Ensaio HS de benzodiazepina II ARK foi concebido para detectar uma gama alargada de compostos e metabolitos da benzodiazepina, sem a necessidade de um pré-tratamento com glucuronidase.

## 4 Princípios do procedimento

O Ensaio HS de benzodiazepina II ARK é uma técnica de imunoensaio enzimático homogéneo, utilizada para a análise de benzodiazepinas na urina humana. O ensaio baseia-se na competição, pelos locais de ligação ao anticorpo, entre a

benzodiazepina presente na amostra e a benzodiazepina marcada com a enzima glicose-6-fosfato desidrogenase recombinante (rG6PDH). À medida que se dá a ligação deste último ao anticorpo, a actividade enzimática diminui. Na presença de benzodiazepinas proveniente da amostra, a actividade enzimática aumenta, sendo directamente proporcional à concentração de benzodiazepinas. A enzima activa converte a nicotinamida-adenina dinucleótido (NAD) em NADH na presença da glicose-6-fosfato (G6P), o que resulta numa alteração da absorvância, que é medida através de espectrofotometria. A G6PDH endógena não interfere porque a coenzima NAD funciona apenas com a enzima bacteriana usada no ensaio.

## 5 Reagentes

REF	Descrição do Produto	Quantidade/Volume
5073-0001-00	<b>Ensaio HS de benzodiazepina II ARK</b> <b>Reagente R1 – Anticorpo/Substrato</b> Anticorpos monoclonais de coelho para benzodiazepinas, glicose-6-fosfato, nicotinamida adenina dinucleótido, seralbumina bovina, azida sódica e estabilizadores	1 x 28 ml
	<b>Reagente R2 – Enzima</b> Derivado de benzodiazepina, marcado com glicose-6-fosfato desidrogenase recombinante (rG6PDH), seralbumina bovina, tampão, azida sódica e estabilizadores	1 x 14 ml

REF	Descrição do Produto	Quantidade/Volume
5073-0001-01	<b>Ensaio HS de benzodiazepina II ARK</b> <b>Reagente R1 – Anticorpo/Substrato</b> Anticorpos monoclonais de coelho para benzodiazepinas, glicose-6-fosfato, nicotinamida adenina dinucleótido, seralbumina bovina, azida sódica e estabilizadores	1 X 115 ml
	<b>Reagente R2 – Enzima</b> Derivado de benzodiazepina, marcado com glicose-6-fosfato desidrogenase recombinante (rG6PDH), seralbumina bovina, tampão, azida sódica e estabilizadores	1 X 58 ml

REF	Descrição do Produto	Quantidade/Volume
5073-0001-02	<b>Ensaio HS de benzodiazepina II ARK</b> <b>Reagente R1 – Anticorpo/Substrato</b> Anticorpos monoclonais de coelho para benzodiazepinas, glicose-6-fosfato, nicotinamida adenina dinucleótido, seralbumina bovina, azida sódica e estabilizadores	1 X 500 ml
	<b>Reagente R2 – Enzima</b> Derivado de benzodiazepina, marcado com glicose-6-fosfato desidrogenase recombinante (rG6PDH), seralbumina bovina, tampão, azida sódica e estabilizadores	1 X 250 ml

### Manuseamento e armazenamento do reagente

Os reagentes para o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK são fornecidos na forma líquida, pronta a usar, e podem ser usados imediatamente depois de retirar

do frigorífico. Quando não estiverem a uso, os reagentes têm de ser armazenados a 2 – 8°C (36 – 46°F), na posição vertical e com as tampas de rosca bem fechadas. Se armazenados conforme as instruções, os reagentes são estáveis até à data de validade impressa no rótulo. Não congelar os reagentes. Evitar a exposição prolongada a temperaturas acima de 32°C (90°F). **O armazenamento inadequado de reagentes pode afectar o desempenho do ensaio.**

Os produtos HS de benzodiazepina II ARK contêm ≤ 0,09% de azida sódica. Como medida de precaução, a canalização afectada e a instrumentação devem ser devidamente enxaguadas com água para mitigar a possível acumulação de azidas metálicas explosivas.

## 6 Advertências e precauções

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Requer prescrição médica. *Atenção: a lei federal restringe a venda deste dispositivo por um médico ou profissional devidamente autorizado.*
- Os reagentes **R1** e **R2** são fornecidos como conjunto, e não devem ser trocados com reagentes com números de lote diferentes.
- Não utilizar os reagentes após o fim do prazo de validade.
- Os reagentes contêm ≤ 0,09% de azida sódica.

## 7 Colheita de amostras e preparação para análise

- Cada laboratório é responsável por fornecer uma amostra válida para análise segundo os respectivos procedimentos de qualidade.
- É necessária urina humana. Trate como sendo material potencialmente infeccioso.
- Proceda à colheita de urina utilizando os frascos e procedimentos de amostragem padrão. Deve ter-se o cuidado de preservar a integridade química e física da amostra de urina, desde o momento da colheita até ao momento do ensaio, incluindo durante o transporte. Sugere-se a utilização de amostras frescas de urina.
- Tape a amostra de urina imediatamente após a colheita, conserve-a refrigerada a 2-8°C (36–46°F) e proceda ao ensaio nos 7 dias após a colheita. Se não for possível realizar o ensaio no prazo de 7 dias, conserve a amostra de urina congelada, a -20°C<sup>5,6</sup>.
- Não induzir a formação de espuma e evitar congelamento e descongelamento repetidos para preservar a integridade da amostra desde o momento da sua colheita até ao ensaio.
- As amostras congeladas terão de ser descongeladas e devidamente agitadas antes da análise.
- Antes de testar, centrifugue as amostras que apresentem elevada turbidez ou matéria particulada visível.
- A presença de bolhas ou espuma nas amostras pode levar a uma entrega incompleta da amostra e a resultados errôneos.
- Cada laboratório deve consultar a literatura disponível e os dados internos relativos à estabilidade das amostras.

- Caso haja suspeita de adulteração da amostra, obtenha outra amostra para teste. A adulteração das amostras de urina pode afectar o resultado do teste.

## 8 Procedimento

### Materiais fornecidos

Ensaio HS de benzodiazepina II ARK – **REF** 5073-0001-00, 5073-0001-01 ou 5073-0001-02

### Materiais necessários – Fornecidos separadamente

Calibrador HS de benzodiazepina II ARK (Conjunto) – **REF** 5073-0002-00

Calibrador A (Negativo) HS de benzodiazepina II ARK – **REF** 5073-0002-01

Calibrador B (limiar de 100 ng/mL) HS de benzodiazepina II ARK – **REF** 5073-0002-02

Calibrador C (limiar de 200 ng/mL) HS de benzodiazepina II ARK – **REF** 5073-0002-03

Controlo (75 / 125 ng/mL) HS de benzodiazepina II da ARK – **REF** 5073-0003-00

Controlo (150 / 250 ng/ml) HS de benzodiazepina II da ARK – **REF** 5073-0003-01

### Instrumentação

Antes de serem usados, os reagentes **R1** e **R2** podem precisar de ser transferidos para recipientes específicos do analisador. Evite a contaminação cruzada de **R1** e **R2**.

Muitos analisadores automatizados de química clínica com determinação fotométrica da taxa a 340 nm são adequados. Consulte a folha da aplicação específica do analisador para a programação do Ensaio HS de benzodiazepina II ARK, disponível junto do seu distribuidor ou da Assistência ao Cliente da ARK. As Folhas de Protocolo de Aplicação que ostentam a marcação CE foram verificadas pelo fabricante. O laboratório tem a responsabilidade de proceder a toda a validação adequada para a utilização do ensaio com outras configurações ou outros analisadores.

Consulte o manual do operador específico do instrumento quanto à manutenção diária.

### Sequência do ensaio

Para executar ou calibrar o ensaio, consulte o manual do operador.

### Resultados qualitativos

Utilize o Calibrador B, de 100 ng/ml, ou o Calibrador C, de 200 ng/ml, como Calibrador limiar para distinguir as amostras negativas e positivas. Execute os Controlos HS de benzodiazepina II da ARK Baixo (75 ng/ml) e Alto (125 ng/ml) com o Calibrador limiar B ou os Controlos HS de benzodiazepina II da ARK Baixo (150 ng/ml) e Alto (250 ng/ml) com o Calibrador limiar C como, respectivamente,

Negativo e Positivo. Registe os resultados do teste inferiores ao valor de resposta para o calibrador limiar aplicável como sendo negativos. Registe os resultados do teste maiores ou iguais ao valor de resposta para o calibrador limiar aplicável como sendo positivos.

### **Resultados semiquantitativos**

Faça um procedimento de calibração de 5 pontos; teste os calibradores em duplicado. Verifique a curva de calibração com os controlos HS de qualidade Baixo (Low) e Alto (High) de benzodiazepina II ARK para o seu limiar, segundo o plano de garantia de qualidade laboratorial estabelecido. As amostras com resultados acima do nível mais elevado de calibrador HS de benzodiazepina II da ARK (3000 ng/ml) podem diluir-se em Calibrador A (urina Negativa) HS de benzodiazepina II da ARK e testar-se novamente.

### **Quando recalibrar**

- Sempre antes da utilização de reagentes de um número de lote novo
- Sempre que necessário, com base nos resultados do controlo de qualidade
- Sempre que esteja previsto pelos protocolos padrão de laboratório
- Com base nos dados disponíveis, uma curva de calibração guardada revelou-se eficaz durante, pelo menos, 15 dias.

### **Controlo de qualidade (CQ) e calibração**

Os laboratórios devem estabelecer procedimentos de CQ para o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK. Todos os requisitos de controlos de qualidade e de testes devem ser realizados em conformidade com os regulamentos locais, regionais ou nacionais, ou com os requisitos de acreditação.

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos para cada novo lote de controlos. Os resultados do controlo devem encontrar-se dentro de intervalos estabelecidos, conforme determinado através dos procedimentos e orientações laboratoriais. O Controlo HS de benzodiazepina II ARK destina-se a ser utilizado no controlo de qualidade do Ensaio HS de benzodiazepina II ARK.

No modo qualitativo, o controlo Baixo deve ser negativo e o controlo Alto deve ser positivo relativamente ao calibrador limiar aplicável (100 ng/ml ou 200 ng/ml).

## **9 Resultados e valores esperados**

É necessário um método de confirmação mais específico, como por exemplo LC-MS/MS ou GC-MS, para obter um resultado positivo confirmado.

### **Análise qualitativa – resultados negativos**

Uma amostra que dê um valor de resposta inferior ao valor de resposta do Calibrador B HS de benzodiazepina II da ARK ou do Calibrador C, limiar, HS de benzodiazepina II da ARK é interpretada como sendo negativa; ou a amostra não contém benzodiazepinas ou as benzodiazepinas estão presentes numa concentração abaixo do nível limiar aplicável deste ensaio.

### **Análise qualitativa – resultados positivos**

Uma amostra que dê um valor de resposta maior ou igual ao valor de resposta do calibrador B HS de benzodiazepina II ARK ou do calibrador C, limiar, HS de benzodiazepina II ARK é interpretada como sendo positiva, indicando que estão presentes benzodiazepinas.

### **Análise semiquantitativa**

Não é possível determinar a concentração real de benzodiazepina com este ensaio. Os resultados semiquantitativos para as amostras positivas permitem ao laboratório determinar uma diluição adequada da amostra para o método de confirmação. Os resultados semiquantitativos também permitem ao laboratório estabelecer os procedimentos de controlo de qualidade e avaliar a reprodutibilidade. As amostras com resultados acima do nível mais elevado de calibrador HS de benzodiazepina II da ARK (3000 ng/ml) podem diluir-se em Calibrador A (urina Negativa) HS de benzodiazepina II da ARK e testar-se novamente.

Os resultados deste teste devem ser sempre interpretados em conjunto com a história médica, a apresentação clínica e outros achados do doente, sobretudo quando o resultado preliminar é positivo.

## **10 Limitações**

- O ensaio destina-se exclusivamente a ser utilizado com urina humana.
- Os reagentes, calibradores e controlos do Ensaio HS de benzodiazepina II ARK foram desenvolvidos para serem utilizados em conjunto. Não é possível garantir o desempenho com produtos de substituição.
- Um resultado positivo utilizando o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK indica apenas a presença de benzodiazepina e não está necessariamente correlacionado com a extensão dos efeitos fisiológicos e psicológicos.
- A interpretação dos resultados terá de ter em consideração que as concentrações de urina podem variar largamente com a ingestão de líquidos e outras variáveis biológicas.
- É possível que a presença de outras substâncias, que não as testadas no estudo de especificidade, possa interferir com o teste e dar origem a resultados falsos.

## **11 Características específicas do desempenho**

As seguintes características de desempenho foram determinadas para o analisador automático de química clínica Beckman Coulter AU680<sup>®</sup>, utilizando o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK.

### **Precisão**

Suplementou-se urina humana negativa, isenta de fármaco, com etizolam (0,0 a 200,0 ng/ml para o limiar de 100 ng/ml e 0,0 a 400,0 ng/ml para o limiar de 200 ng/ml). Cada nível foi ensaiado em quadruplicado, duas vezes por dia,

durante 20 dias (N = 160), tanto no modo qualitativo como no modo semiquantitativo. Os resultados encontram-se resumidos nas tabelas abaixo.

**Precisão qualitativa – limiar de 100 ng/ml**

Urina humana (ng/ml)	% do limiar relativo	N.º de resultados	Resultados de precisão qualitativa
0,0	-100	160	160 negativos
25,0	-75	160	160 negativos
50,0	-50	160	160 negativos
75,0	-25	160	160 negativos
100,0	Limiar	160	104 negativos; 56 positivos
125,0	+25	160	160 positivos
150,0	+50	160	160 positivos
175,0	+75	160	160 positivos
200,0	+100	160	160 positivos

**Precisão semiquantitativa – limiar de 100 ng/ml**

Urina humana (ng/ml)	% do limiar relativo	N.º de resultados	Média (ng/ml)	Resultados de precisão semiquantitativa
0,0	-100	160	1,1	160 negativos
25,0	-75	160	23,2	160 negativos
50,0	-50	160	50,5	160 negativos
75,0	-25	160	74,0	160 negativos
100,0	Limiar	160	98,6	93 negativos; 67 positivos
125,0	+25	160	123,3	160 positivos
150,0	+50	160	145,2	160 positivos
175,0	+75	160	170,5	160 positivos
200,0	+100	160	187,6	160 positivos

**Precisão qualitativa – limiar de 200 ng/ml**

Urina humana (ng/ml)	% do limiar relativo	N.º de resultados	Resultados de precisão qualitativa
0,0	-100	160	160 negativos
50,0	-75	160	160 negativos
100,0	-50	160	160 negativos
150,0	-25	160	160 negativos
200,0	Limiar	160	142 negativos; 18 positivos
250,0	+25	160	160 positivos
300,0	+50	160	160 positivos
350,0	+75	160	160 positivos
400,0	+100	160	160 positivos

Precisão semiquantitativa – limiar de 200 ng/ml

Urina humana (ng/ml)	% do limiar relativo	N.º de resultados	Média (ng/ml)	Resultados de precisão semiquantitativa
0,0	-100	160	1,1	160 negativos
50,0	-75	160	50,5	160 negativos
100,0	-50	160	98,6	160 negativos
150,0	-25	160	145,2	160 negativos
200,0	Limiar	160	187,6	147 negativos; 13 positivos
250,0	+25	160	240,3	160 positivos
300,0	+50	160	293,2	160 positivos
350,0	+75	160	342,8	160 positivos
400,0	+100	160	391,1	160 positivos

### Recuperação analítica

Avaliou-se a recuperação ao longo do intervalo de ensaio, utilizando o modo semiquantitativo. Supplementou-se urina humana negativa, isenta de fármaco, com etizolam (3750,0 ng/ml) e fizeram-se diluições proporcionais com urina humana isenta de fármaco. As concentrações de etizolam variaram entre os 25,0 a 3000,0 ng/ml. Em cada nível, calculou-se a recuperação percentual com base na concentração média (N = 6) em comparação com a concentração esperada. Os resultados encontram-se resumidos na tabela abaixo.

Concentração teórica (ng/ml)	Concentração média (ng/ml)	Recuperação (%)
25,0	23,8	95,1
50,0	54,8	109,5
100,0	99,6	99,6
250,0	242,2	96,9
500,0	481,4	96,3
1000,0	951,9	95,2
1500,0	1422,4	94,8
2000,0	1929,9	96,5
2500,0	2333,7	93,3
3000,0	3107,7	103,6

### Especificidade analítica

Todos os compostos testados foram adicionados a urina humana negativa, isenta de fármaco, e testados com o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK nos modos qualitativo e semiquantitativo.

A reactividade cruzada dos seguintes compostos estruturalmente relacionados foi avaliada adicionando propositadamente estes compostos a urina humana negativa, isenta de fármaco, para determinar a concentração mínima que daria um resultado positivo aproximadamente equivalente aos limiares do etizolam de

100 ng/ml ou 200 ng/ml. Estas concentrações foram utilizadas para determinar a percentagem de reactividade cruzada, segundo a fórmula:

% de reactividade cruzada = (concentração limiar / concentração mais baixa de reagente cruzado que origina um resultado positivo) X 100

Para os compostos que não originaram um resultado positivo utilizou-se a concentração testada mais elevada para calcular a percentagem de reactividade cruzada.

#### Compostos estruturalmente relacionados

<b>Compostos</b>	<b>Concentração aproximadamente equivalente ao limiar 100 (ng/ml)</b>	<b>Reactividade cruzada a um limiar de 100 (%)</b>	<b>Concentração aproximadamente equivalente ao limiar 200 (ng/ml)</b>	<b>Reactividade cruzada a um limiar de 200 (%)</b>
α-OH-alprazolam	55	181,8	100	200,0
α-OH-midazolam	11	909,1	16	1250,0
α-OH-triazolam	20	500,0	35	571,4
2-OH-etiflurazepam	70	142,9	125	160,0
3-OH-flubromazepam	19	526,3	27	740,7
3-OH-fenazepam	15	666,7	22	909,1
4-OH-alprazolam	110	90,9	190	105,3
7-aminoclonazepam	40	250,0	75	266,7
7-aminoflunitrazepam	150	66,7	270	74,1
7-aminonimetazepam	600	16,7	1200	16,7
7-aminonitrazepam	400	25,0	800	25,0
alprazolam	80	125,0	130	153,8
Bromazepam	140	71,4	270	74,1
Clordiazepóxido	55	181,8	100	200,0
Clobazam	180	55,6	400	50,0
Clonazepam	100	100,0	180	111,1
Delorazepam	10	1000,0	15	1333,3
Demoxepam	100	100,0	180	111,1
Desalquilflurazepam	15	666,7	25	800,0
Clonazolam	350	28,6	800	25,0
Clorazepato	45	222,2	70	285,7
Descloroetizolam	450	22,2	900	22,2
Diazepam	65	153,8	100	200,0
Diclazepam	15	666,7	25	800,0
Estazolam	60	166,7	85	235,3
Flualprazolam	28	357,1	45	444,4
Flubromazepam	25	400,0	38	526,3
Flubromazolam	40	250,0	68	294,1
Flunitrazepam	450	22,2	850	23,5

Compostos	Concentração aproximadamente equivalente ao limiar 100 (ng/ml)	Reactividade cruzada a um limiar de 100 (%)	Concentração aproximadamente equivalente ao limiar 200 (ng/ml)	Reactividade cruzada a um limiar de 200 (%)
Flurazepam	350	28,6	650	30,8
Halazepam	2.500	4,0	5.000	4,0
Cetazolam	2.200	4,5	4.000	5,0
Loprazolam	130	76,9	260	76,9
Lorazepam	12	833,3	16,5	1212,1
Glucoronido de lorazepam	13	769,2	20	1000,0
Lormetazepam	17	588,2	23	869,6
Meclonazepam	36	277,8	57	350,9
Medazepam	250	40,0	500	40,0
Midazolam	16	625,0	25	800,0
N-Desmetilclobazam	160	62,5	320	62,5
N-desmetilflunitrazepam	150	66,7	300	66,7
Nimetazepam	1.350	7,4	3.000	6,7
Nitrazepam	500	20,0	950	21,1
Norclorodiazepóxido	75	133,3	120	166,7
Nordiazepam	43	232,6	57	350,9
Oxazepam	38	263,2	55	363,6
Glucoronido de oxazepam	20	500,0	30	666,7
Fenazepam	15	666,7	20	1000,0
Prazepam	1.700	5,9	3.400	5,9
Pirazolam	350	28,6	700	28,6
Temazepam	85	117,6	130	153,8
Glucoronido de temazepam	35	285,7	70	285,7
Tetrazepam	600	16,7	1.200	16,7
Triazolam	27	370,4	45	444,4

## Interferência

### Compostos estruturalmente não relacionados

Adicionaram-se propositadamente concentrações elevadas dos seguintes compostos estruturalmente não relacionados a urina sem fármacos, testando num modo de análise semiquantitativo. Identificaram-se as concentrações que correspondiam a 100 ng/ml e 200 ng/ml de etizolam, que são apresentadas na tabela seguinte. Os compostos que não produziram uma resposta positiva são apresentados como tendo uma concentração mais elevada (>) do que a concentração mais elevada testada. Quando adicionados propositadamente a urina contendo a concentração alta de controlo (125 ng/ml para o limiar de

100 ng/ml, ou 250 ng/ml para o limiar de 200 ng/ml), nenhum destes compostos produziu um resultado negativo.

<b>Composto</b>	<b>Concentração do composto aproximadamente equivalente ao limiar de 100 ng/ml</b>	<b>Concentração do composto aproximadamente equivalente ao limiar de 200 ng/ml</b>
4-Hidroxiclofenac	> 100 000	> 100 000
6-Acetilcodeína	> 100 000	> 100 000
6-Acetil morfina	> 100 000	> 100 000
Acetaminofeno	> 100 000	> 100 000
Ácido acetilsalicílico	> 500 000	> 500 000
Amitriptilina	> 100 000	> 100 000
Amlodipina	> 100 000	> 100 000
Amobarbital	> 100 000	> 100 000
S-(+) Anfetamina	> 100 000	> 100 000
Aripiprazol	> 100 000	> 100 000
Benzoilecgonina	> 100 000	> 100 000
Bisoprolol	> 100 000	> 100 000
4-bromo-2,5-dimetoxifenetilamina	> 100 000	> 100 000
Buprenorfina	> 100 000	> 100 000
Bupropiona	> 100 000	> 100 000
Buspirona	> 100 000	> 100 000
Butabarbital	> 100 000	> 100 000
Cafeína	> 500 000	> 500 000
Canabidiol	> 100 000	> 100 000
Canabinol	> 100 000	> 100 000
Carbamazepina	> 100 000	> 100 000
Carisoprodol	> 100 000	> 100 000
Clorpromazina	> 100 000	> 100 000
Clorprotixeno	> 100 000	> 100 000
Cis-Tramadol	> 100 000	> 100 000
Clomipramina	> 100 000	> 100 000
Citalopram	> 100 000	> 100 000
Cocaína	> 100 000	> 100 000
Codeína	> 100 000	> 100 000
Cotinina	> 100 000	> 100 000
Ciclobenzaprina	> 100 000	> 100 000
Delta-9-THC	> 100 000	> 100 000
Desipramina	> 100 000	> 100 000
Dextrometorfano	> 100 000	> 100 000

<b>Composto</b>	<b>Concentração do composto aproximadamente equivalente ao limiar de 100 ng/ml</b>	<b>Concentração do composto aproximadamente equivalente ao limiar de 200 ng/ml</b>
Diclofenac	10 000	20.000
Di-hidrocodeína	> 100 000	> 100 000
Difenidramina	> 100 000	> 100 000
Doxepina	> 100 000	> 100 000
Ecgonina	> 100 000	> 100 000
Éster metílico de ecgonina	> 100 000	> 100 000
EDDP	> 100 000	> 100 000
1R, 2S(-)-Efedrina	> 100 000	> 100 000
1S, 2R(+)-Efedrina	> 100 000	> 100 000
Escitalopram	> 100 000	> 100 000
Etil-β-D-glucoronido	> 100 000	> 100 000
Etilmorfina	> 100 000	> 100 000
Fenfluramina	> 100 000	> 100 000
Fentanilo	> 100 000	> 100 000
Fluoxetina	> 100 000	> 100 000
Fluvoxamina	> 100 000	> 100 000
Gabapentina	> 100 000	> 100 000
Heroína	> 100 000	> 100 000
Hexobarbital	> 100 000	> 100 000
Hidrocodona	> 100 000	> 100 000
Hidromorfona	> 100 000	> 100 000
11-hidroxi-delta-9-THC	> 100 000	> 100 000
Ibuprofeno	> 100 000	> 100 000
Imipramina	> 100 000	> 100 000
Indometacina	> 100 000	> 100 000
Cetamina	> 100 000	> 100 000
Lamotrigina	> 100 000	> 100 000
Tartarato de levorfanol	> 100 000	> 100 000
Lidocaína	> 100 000	> 100 000
Loperamida	> 100 000	> 100 000
LSD	> 100 000	> 100 000
Maprotilina	> 100 000	> 100 000
MDA	> 100 000	> 100 000
MDEA	> 100 000	> 100 000
MDMA	> 100 000	> 100 000
Meperidina	> 100 000	> 100 000
Meprobamato	> 100 000	> 100 000
Metamizol	> 100 000	> 100 000

<b>Composto</b>	<b>Concentração do composto aproximadamente equivalente ao limiar de 100 ng/ml</b>	<b>Concentração do composto aproximadamente equivalente ao limiar de 200 ng/ml</b>
Metformina	> 100 000	> 100 000
Metadona	> 100 000	> 100 000
S(+)-metanfetamina	> 100 000	> 100 000
Metaqualona	> 100 000	> 100 000
Metilfenidato	> 100 000	> 100 000
Metoclopramida	> 100 000	> 100 000
Metoprolol	> 100 000	> 100 000
Mirtazapina	> 100 000	> 100 000
Morfina	> 100 000	> 100 000
Morfina-3-beta-glucoronido	> 100 000	> 100 000
Morfina-6-beta-glucoronido	> 100 000	> 100 000
Nalorfina	> 100 000	> 100 000
Naloxona	> 100 000	> 100 000
Naltrexona	> 100 000	> 100 000
Naproxeno	> 100 000	> 100 000
Nefopam	> 100 000	> 100 000
Tapentadol N-desmetilado	> 100 000	> 100 000
Norbuprenorfina	> 100 000	> 100 000
Norcodeína	> 100 000	> 100 000
Normorfina	> 100 000	> 100 000
Norpropoxifeno	> 100 000	> 100 000
Norpseudoefedrina	> 100 000	> 100 000
Nortriptilina	> 100 000	> 100 000
Olanzapina	> 100 000	> 100 000
Omeprazol	> 100 000	> 100 000
Opipramol	> 100 000	> 100 000
Oxaprozina	13.000	25.000
Oxicodona	> 100 000	> 100 000
Oximorfona	> 100 000	> 100 000
Paraxantina	> 100 000	> 100 000
Paroxetina	> 100 000	> 100 000
PCP	> 100 000	> 100 000
Pentazocina	> 100 000	> 100 000
Pentobarbital	> 100 000	> 100 000
Fenobarbital	> 100 000	> 100 000
Fentermina	> 100 000	> 100 000
Fenilefrina	> 100 000	> 100 000
Fenilpropanolamina	> 100 000	> 100 000

<b>Composto</b>	<b>Concentração do composto aproximadamente equivalente ao limiar de 100 ng/ml</b>	<b>Concentração do composto aproximadamente equivalente ao limiar de 200 ng/ml</b>
Fenitoína	> 100 000	> 100 000
PMA	> 100 000	> 100 000
Prometazina	> 100 000	> 100 000
Propoxifeno	> 100 000	> 100 000
Propranolol	> 100 000	> 100 000
Protipendil	> 100 000	> 100 000
Protriptilina	> 100 000	> 100 000
R,R(-)-Pseudoefedrina	> 100 000	> 100 000
S,S(+)-Pseudoefedrina	> 100 000	> 100 000
Quetiapina	> 100 000	> 100 000
Ramipril	> 100 000	> 100 000
Ranitidina	> 100 000	> 100 000
Ácido ritalínico	> 100 000	> 100 000
Ácido salicílico	> 100 000	> 100 000
Secobarbital	> 100 000	> 100 000
Sertralina	> 100 000	> 100 000
Citrato de sufentanilo	> 100 000	> 100 000
11-nor-9-carboxi THC	> 100 000	> 100 000
Teofilina	> 100 000	> 100 000
Tioridazina	> 100 000	> 100 000
Tianeptina	> 100 000	> 100 000
Trifluorometilfenilpiperazina	> 100 000	> 100 000
Trazodona	> 100 000	> 100 000
Trimipramina	> 100 000	> 100 000
Ácido valpróico	> 100 000	> 100 000
Venlafaxina	> 100 000	> 100 000
Vortioxetina	> 100 000	> 100 000
Zaleplon	> 100 000	> 100 000
Tartarato de zolpidem	> 100 000	> 100 000
Zopiclona	> 100 000	> 100 000

#### Substâncias endógenas

Adicionaram-se concentrações elevadas das seguintes substâncias endógenas a urina proposadamente adicionada com etizolam a  $\pm 25\%$  das concentrações limiares (75 ng/ml e 125 ng/ml para o limiar de 100 ng/ml, 150 ng/ml e 250 ng/ml para o limiar de 200 ng/ml). Observou-se apenas interferência com o ácido bórico ao testar com o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK nos modos qualitativo e semiquantitativo.

Substância	Concentração testada	Nível de etizolam adicionado propositadamente	
		-25% do limiar	+25% do limiar
Acetona	1000 mg/dl	Negativo	Positivo
Ácido ascórbico	1500 mg/dl	Negativo	Positivo
Bilirrubina	2 mg/dl	Negativo	Positivo
Ácido bórico	1% p/v	Negativo	Negativo
Creatinina	500 mg/dl	Negativo	Positivo
Etanol	1000 mg/dL	Negativo	Positivo
Galactose	10 mg/dl	Negativo	Positivo
Gamaglobulina	500 mg/dl	Negativo	Positivo
Glicose	2000 mg/dl	Negativo	Positivo
Hemoglobina	115 mg/dL	Negativo	Positivo
Albumina humana	500 mg/dL	Negativo	Positivo
Ácido oxálico	100 mg/dL	Negativo	Positivo
Riboflavina	7,5 mg/dL	Negativo	Positivo
Azida sódica	1% p/v	Negativo	Positivo
Cloreto de sódio	6000 mg/dL	Negativo	Positivo
Fluoreto de sódio	1% p/v	Negativo	Positivo
Ureia	6000 mg/dL	Negativo	Positivo

### Gravidade específica e pH

Testaram-se amostras de urina com valores de gravidade específica entre 1,002 a 1,030 e com valores de pH entre 3,0 a 11,0 na presença de dois níveis de etizolam a  $\pm 25\%$  das concentrações limiarias (75 ng/ml e 125 ng/ml para o limiar de 100 ng/ml, 150 ng/ml e 250 ng/ml para o limiar de 200 ng/ml). Não se observou interferência ao testar com o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK nos modos qualitativo e semiquantitativo.

### **Comparação dos métodos**

Analisou-se com o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK um total de cento e sessenta e três (163) amostras clínicas de urina humana inalteradas, não pré-tratadas com glucunoridase, não identificáveis individualmente, quanto a benzodiazepinas nos dois níveis de limiar em modos semiquantitativos, sendo os resultados comparados com os de LC-MS/MS. O método de confirmação LC-MS/MS foi realizado por um laboratório de referência autorizado. Em resumo, o método envolve o tratamento das amostras com gluconoridase, adicionando padrões internos e injectando numa coluna para LC-MS/MS. Os picos de detecção e respectivos limites de quantificação (LoQ), em ng/ml, são: 7-aminoclonazepam (5); alprazolam (1); hidroxialprazolam (1); lorazepam (10); diazepam (5); nordiazepam (5); oxazepam (5); temazepam (1); midazolam (1); hidroximidazolam (1). Os resultados encontram-se resumidos nas tabelas abaixo, em que o resultado de LC-MS/MS representa a soma de todos os picos de benzodiazepina encontrados.

Todas as amostras positivas ARK neste estudo foram confirmadas através de LC-MS/MS como tendo concentrações de benzodiazepina de pelo menos 20 ng/mL.

Comparação dos métodos – limiar de 100 ng/mL

Resultado do ensaio ARK	Resultado LC-MS/MS (ng/ml)			
	Inferior a 50% do limiar (< 50 ng/ml)	Entre 50% abaixo do limiar e o limiar (50 – 99,9 ng/ml)	Entre o limiar e 50% acima do limiar (100 – 149,9 ng/ml)	Maior ou igual a 50% acima do limiar (≥ 150 ng/ml)
<b>Negativo</b> (< 100 ng/ml)	71	3	2	1*
<b>Positivo</b> (≥ 100 ng/ml)	8**	9	9	60

Número de ID da amostra	Ensaio ARK (ng/ml)	LC-MS/MS (ng/ml)	Benzodiazepinas presentes determinadas por LC-MS/MS
62*	96,3	216,9	Alprazolam; hidroxialprazolam
8**	118,2	39,1	7-aminoclonazepam
30**	661,8	26,4	Lorazepam
41**	183,8	23,9	Nordiazepam, oxazepam, temazepam
42**	466,3	27,1	Nordiazepam, oxazepam, temazepam
43**	520,1	23,5	Nordiazepam, oxazepam, temazepam
90**	> 3000	46,0	Lorazepam
91**	192,3	28,4	Lorazepam
93**	340,6	29,6	Lorazepam

\*\*A reactividade forte a 7-aminoclonazepam, diazepam, glucoronido de lorazepam, glucoronido de oxazepam e glucoronido de temazepam contribuiu para os resultados positivos obtidos com o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK.

Comparação dos métodos – limiar de 200 ng/mL

Resultado do ensaio ARK	Resultado LC-MS/MS (ng/ml)			
	Abaixo de 50% do limiar (< 100 ng/ml)	Entre 50% abaixo do limiar e o limiar (100 – 199,9 ng/ml)	Entre o limiar e 50% acima do limiar (200 – 299,9 ng/ml)	Maior ou igual a 50% acima do limiar (≥ 300 ng/ml)
<b>Negativo (&lt; 200 ng/ml)</b>	78	6	2	2 <sup>†</sup>
<b>Positivo (≥ 200 ng/ml)</b>	13 <sup>††</sup>	11	11	40

Número de ID da amostra	Ensaio ARK (ng/ml)	LC-MS/MS (ng/ml)	Benzodiazepinas presentes determinadas por LC-MS/MS
55 <sup>†</sup>	180,9	386,1	Alprazolam; hidroxialprazolam
61 <sup>†</sup>	176,6	543,4	Alprazolam; hidroxialprazolam
30 <sup>††</sup>	661,8	26,5	Lorazepam
35 <sup>††</sup>	1.620,1	90,3	Lorazepam
42 <sup>††</sup>	466,3	27,1	Diazepam, nordiazepam, oxazepam, temazepam
43 <sup>††</sup>	520,1	23,5	Nordiazepam, oxazepam, temazepam
47 <sup>††</sup>	1.291,9	66,3	Nordiazepam, oxazepam, temazepam
48 <sup>††</sup>	838,8	66,5	Nordiazepam, oxazepam, temazepam
72 <sup>††</sup>	1.117,9	75,4	Nordiazepam, oxazepam, temazepam
82 <sup>††</sup>	811,7	73,0	Nordiazepam, oxazepam, temazepam
90 <sup>††</sup>	> 3000	46,0	Lorazepam
93 <sup>††</sup>	340,6	29,6	Lorazepam
94 <sup>††</sup>	1.124,9	60,6	Lorazepam
96 <sup>††</sup>	697,6	57,5	Lorazepam
97 <sup>††</sup>	815,2	68,0	Lorazepam

††A reactividade forte com diazepam, glucoronido de lorazepam, glucoronido de oxazepam e glucoronido de temazepam contribuiu para os resultados positivos obtidos com o Ensaio HS de benzodiazepina II ARK.

## 12 Bibliografia

1. Katzung BG, ed. *Basic and clinical pharmacology* [Farmacologia básica e clínica]. 5th ed. Norwalk, Conn: Appleton & Lange, 1992.
2. Julien RM. *A primer of drug action* [Uma introdução à ação dos fármacos]. 6th ed. New York, NY: W.H. Freeman & Co; 1992.
3. *Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics* [Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica]. 8th ed. New York, NY: Pergamon Press, 1990.
4. Adams EH. *Prevalence of prescription drug abuse: Data from the National Institute on Drug Abuse* [Prevalência do abuso de medicamentos prescritos: Dados do instituto nacional sobre o abuso de medicamentos]. NY State J Med 199; 91 (suppl 11): 32s-36s.
5. *Department of Health and Human Services (DHHS), Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA)* [Departamento de saúde e serviços humanos (DHHS), administração de serviços de abuso de substâncias e saúde mental (SAMHSA)]. *Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs* [Diretrizes obrigatórias para os programas federais de testes de fármacos no local de trabalho]. *Federal Register* [Diário Oficial Federal] / Vol. 69, No. 71 / Terça-feira, 13 de abril de 2004 (data de vigência: 1º de novembro de 2004) / Avisos.
6. Gonzales, E. et al. 2013. *Stability of pain-related medications, metabolites, and illicit substances in urine* [Estabilidade de medicamentos relacionados à dor, metabólitos e substâncias ilícitas na urina]. *Clinica Chimica Acta* **416**:80-85.

## 13 Marcas comerciais

**ARK™** é uma marca comercial da ARK Diagnostics, Inc.

Outros nomes de marcas ou produtos são marcas comerciais dos respectivos titulares.



ARK Diagnostics, Inc.  
Fremont, CA 94538 USA

Revisto em Maio de 2025  
1600-1026-00PT Rev 06