

ARK™ HS Benzodiazepine II Assay

Bitte lesen Sie die Packungsbeilage für den ARK HS Benzodiazepine II Assay von ARK Diagnostics, Inc. vor der Verwendung sorgfältig durch und befolgen Sie die Anweisungen. Dieser Assay stellt ein einfaches und schnelles Screening-Verfahren zum Nachweis von Benzodiazepinen in Urin dar. Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse kann nur dann gewährleistet werden, wenn die Anleitungen in dieser Packungsbeilage befolgt werden.

Kundenservice


ARK Diagnostics, Inc.

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













EC REP

Emergo Europe
 Westervoortsedijk 60
 6827 AT Arnhem
 Niederlande



MedEnvoy Switzerland
 Gotthardstrasse 28
 6302 Zug
 Schweiz

Verwendete Symbole

	Chargenbezeichnung	 JJJJ-MM- TT	Verwendbar bis / Verfallsdatum
	Bestellnummer		Hersteller
	Autorisierte Vertretung		CE-Kennzeichnung
	Siehe Gebrauchsanweisung	 	Reagenz 1 / Reagenz 2
	Temperaturbeschränkung		<i>In-vitro</i> -diagnostisches Medizinprodukt
Rx Only	Verwendung nur gemäß Vorschrift		

© 2024, ARK Diagnostics, Inc.

 Reagenz-Kit  5073-0001-00

 Reagenz-Kit  5073-0001-01

 Reagenz-Kit  5073-0001-02

1 Name

ARK™ HS Benzodiazepine II Assay

2 Verwendungszweck

Der ARK HS Benzodiazepine II Assay ist ein Immunoassay zur qualitativen bzw. semi-quantitativen Bestimmung von Benzodiazepinen in Humanurin, bei Cut-off-Konzentrationen von 100 ng/mL bzw. 200 ng/mL. Der Assay ist für den Einsatz im Labor auf klinisch-chemischen Analysensystemen bestimmt. Dieses *in-vitro*-diagnostische Testsystem darf nur gemäß Vorschrift verwendet werden.

Der semi-quantitative Modus unterstützt das Labor dabei, (1) eine geeignete Probenverdünnung für die Bestätigungsanalyse mit Gas-Chromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) bzw. Flüssig-Chromatographie/Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) zu bestimmen und (2) entsprechende Qualitätskontrollen festzulegen.

Der ARK HS Benzodiazepine II Assay liefert lediglich ein vorläufiges analytisches Testergebnis. Um ein abgesichertes analytisches Ergebnis zu erhalten, muss ein alternatives chemisches Verfahren eingesetzt werden. Die Bestätigungsverfahren der Wahl sind Gas-Chromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) bzw. Flüssig-Chromatographie/Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Jeder Drogen- bzw. Medikamenten-Test sollte klinisch betrachtet und professionell beurteilt werden, insbesondere dann, wenn das vorläufige Testergebnis positiv ausfällt.

3 Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Benzodiazepine gehören zu einer breiten Klasse von ZNS-dämpfenden Medikamenten, die als Sedativa-Hypnotika bekannt sind.¹ Sie werden als Anxiolytika, Schlafmittel, Antikonvulsiva und Muskelrelaxantien verschrieben und häufig auch als Präanästhetikum und zur Ergänzung, Einleitung und Aufrechterhaltung von Narkosen eingesetzt.^{1,2,3}

Benzodiazepine werden oft verschrieben, allerdings auch häufig missbraucht.²⁻⁴ Chronischer Benzodiazepin-Konsum kann zu körperlicher Abhängigkeit führen, mit Entzugssymptomen wie Schlaflosigkeit, Unruhe, Reizbarkeit, Muskelverspannungen und, in schweren Fällen, zu Halluzinationen, Psychosen und Krampfanfällen.^{1,2}

Der ARK HS Benzodiazepine II Assay wurde entwickelt, um ohne Glucuronidase-Vorbehandlung ein breites Spektrum von Benzodiazepin-Verbindungen und Metaboliten zu detektieren.

4 Grundlagen des Verfahrens

Der ARK HS Benzodiazepine II Assay ist ein homogener Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Benzodiazepinen in Humanurin. Der Assay basiert auf der

Konkurrenz zwischen dem Analyten in der Probe und dem analyt-gekoppelten rekombinanten Enzym Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (rG6PDH) um Antikörper-Bindungsstellen. Die Aktivität des Enzyms nimmt ab, sobald es an den Antikörper gebunden ist. Ist Analyt in der Probe vorhanden, steigt die Enzymaktivität. Das aktive Enzym wandelt Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD) in Gegenwart von Glukose-6-Phosphat (G6P) zu NADH um. Die daraus resultierende Extinktionsänderung ist spektralphotometrisch messbar. Das endogene G6PDH hat keinen störenden Einfluss auf die Ergebnisse, da das Koenzym NAD lediglich mit dem bakteriellen Enzym des Assays interagiert.

5 Reagenzien

REF	Produktbeschreibung	Menge / Volumen
5073-0001-00	ARK HS Benzodiazepine II Assay Reagenz R1 – Antikörper/Substrat Monoklonale Kaninchen-Antikörper gegen Benzodiazepine, Glukose-6-Phosphat, Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid, bovines Serumalbumin, Natriumazid und Stabilisatoren.	1 X 28 mL
	Reagenz R2 – Enzym Mit rekombinanter Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (rG6PDH) gekoppeltes Benzodiazepin-Derivat, bovines Serumalbumin, Puffer, Natriumazid und Stabilisatoren	1 X 14 mL

REF	Produktbeschreibung	Menge / Volumen
5073-0001-01	ARK HS Benzodiazepine II Assay Reagenz R1 – Antikörper/Substrat Monoklonale Kaninchen-Antikörper gegen Benzodiazepine, Glukose-6-Phosphat, Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid, bovines Serumalbumin, Natriumazid und Stabilisatoren.	1 X 115 mL
	Reagenz R2 – Enzym Mit rekombinanter Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (rG6PDH) gekoppeltes Benzodiazepin-Derivat, bovines Serumalbumin, Puffer, Natriumazid und Stabilisatoren	1 X 58 mL

REF	Produktbeschreibung	Menge / Volumen
5073-0001-02	ARK HS Benzodiazepine II Assay Reagenz R1 – Antikörper/Substrat Monoklonale Kaninchen-Antikörper gegen Benzodiazepine, Glukose-6-Phosphat, Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid, bovines Serumalbumin, Natriumazid und Stabilisatoren.	1 X 500 mL
	Reagenz R2 – Enzym Mit rekombinanter Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (rG6PDH) gekoppeltes Benzodiazepin-Derivat, bovines Serumalbumin, Puffer, Natriumazid und Stabilisatoren	1 X 250 mL

Handhabung und Lagerung der Reagenzien

Die ARK HS Benzodiazepine II Assay Reagenzien werden flüssig und gebrauchsfertig geliefert und können direkt aus dem Kühlschrank verwendet werden. Wenn sie nicht in Gebrauch sind, lagern Sie sie bei 2-8°C aufrecht und mit fest geschlossener Schraubkappe. Die Reagenzien bleiben bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett stabil, wenn sie gemäß Anleitung gelagert werden.

Frieren Sie die Reagenzien nicht ein. Vermeiden Sie eine längere Einwirkung von Temperaturen über 32°C. **Unsachgemäße Lagerung der Reagenzien kann die Leistung des Assays beeinflussen.**

Die ARK HS Benzodiazepine II Produkte enthalten $\leq 0.09\%$ Natriumazid. Zur Vorsicht sollten alle betroffenen Leitungen, auch die der verwendeten Geräte, mit ausreichend Wasser gespült werden, um eine mögliche Ansammlung von explosiven Metallaziden zu verhindern.

6 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- *In-vitro*-Diagnostikum. Verwendung nur gemäß Vorschrift. *Achtung: Laut Bundesgesetz darf dieser Test nur durch zugelassene Ärzte oder auf deren Anordnung verkauft werden.*
- Die Reagenzien **R1** und **R2** werden als zusammengehörendes Set geliefert und sollten nicht mit Reagenzien aus anderen Chargen ausgetauscht werden.
- Nach Ablauf des Verfallsdatums sollten die Reagenzien nicht mehr verwendet werden.
- Die Reagenzien enthalten $\leq 0.09\%$ Natriumazid.

7 Probenabnahme und Vorbereitung für die Analyse

- Als Probenmaterial wird Humanurin benötigt. Behandeln Sie die Proben als potentiell infektiös.
- Sammeln Sie den Urin in geeigneten Probengefäßen und befolgen Sie die dabei üblichen Vorgehensweisen. Stellen Sie sicher, dass die chemische und physische Integrität der Urinprobe vom Zeitpunkt der Abnahme bis zum Zeitpunkt der Analyse sowie während des Transports gewährleistet bleibt. Es wird empfohlen, stets frische Urinproben zu verwenden.
- Verschließen Sie den Behälter mit der Urinprobe direkt nach der Abnahme, lagern Sie ihn gekühlt bei 2-8°C und analysieren Sie die Probe innerhalb von 7 Tagen nach der Abnahme. Sollten Sie die Analyse innerhalb dieser 7 Tage nicht durchführen können, frieren Sie die Probe bei -20°C ein.^{5,6}
- Vermeiden Sie Schaumbildung sowie wiederholtes Einfrieren und Auftauen, um die Probenintegrität sicherzustellen.
- Eingefrorene Proben müssen vor der Analyse aufgetaut und gründlich gemischt werden.
- Zentrifugieren Sie stark getrübbte Proben bzw. Proben, die sichtbare Partikel enthalten, bevor Sie den Test durchführen.
- Blasen oder Schaum in der Probe können zu einer ungenügenden Probenaufnahme und zu falsch-niedrigen Ergebnissen führen.
- Wenn Sie den Verdacht haben, die Probe sei verfälscht worden, nehmen Sie eine weitere Probe ab. Die Verfälschung von Urinproben kann das Testergebnis beeinflussen.

8 Vorgehensweise

Mitgeliefertes Material

ARK HS Benzodiazepine II Assay – **REF** 5073-0001-00, 5073-0001-01 or 5073-0001-02

Benötigtes Material – separat erhältlich

ARK HS Benzodiazepine II Calibrator (Set) – **REF** 5073-0002-00

ARK HS Benzodiazepine II Calibrator A (Negative) – **REF** 5073-0002-01

ARK HS Benzodiazepine II Calibrator B (100 ng/mL Cutoff) – **REF** 5073-0002-02

ARK HS Benzodiazepine II Calibrator C (200 ng/mL Cutoff) – **REF** 5073-0002-03

ARK HS Benzodiazepine II Control (75 / 125 ng/mL) – **REF** 5073-0003-00

ARK HS Benzodiazepine II Control (150 / 250 ng/mL) – **REF** 5073-0003-01

Analysensysteme

Die Reagenzien **R1** und **R2** müssen vor der Verwendung eventuell in gerätespezifische Reagenzgefäße umgefüllt werden. Vermeiden Sie eine Kreuzkontamination von **R1** und **R2**. Informationen zur täglichen Wartung finden Sie im gerätespezifischen Benutzerhandbuch. Informationen zur Programmierung des ARK HS Benzodiazepine II Assays gibt das gerätespezifische Applikationsprotokoll bzw. unser Kundenservice.

Testverfahren

Informationen zur Durchführung bzw. zur Kalibration des Assays finden Sie im gerätespezifischen Benutzerhandbuch.

Qualitative Ergebnisse

Verwenden Sie den 100 ng/mL Calibrator B oder den 200 ng/mL Calibrator C als Cut-off Calibrator, um negative von positiven Proben zu unterscheiden. Nutzen Sie die ARK HS Benzodiazepine II Low (75 ng/mL) und High (125 ng/mL) Controls mit Cutoff Calibrator B bzw. die ARK HS Benzodiazepine II Low (150 ng/mL) und High (250 ng/mL) Controls mit Cutoff Calibrator C als Negativ- bzw. Positiv-Kontrolle. Geben Sie Testergebnisse mit geringerer Enzymaktivität im Vergleich zum Cutoff Calibrator als negativ an, Testergebnisse mit gleicher oder höherer Enzymaktivität im Vergleich zum Cutoff Calibrator als positiv.

Semi-quantitative Ergebnisse

Führen Sie eine 5-Punkt-Kalibration durch und bestimmen Sie dabei die Kalibratoren doppelt. Überprüfen Sie die Kalibrationskurve mit den ARK HS Benzodiazepine II Low und High Kontrollen des von Ihnen gewählten Cut-offs, gemäß dem in Ihrem Labor festgelegten Qualitätssicherungsplan. Proben mit Ergebnissen über dem höchsten ARK HS Benzodiazepine II Calibrator Level (3.000 ng/mL) können mit dem ARK HS Benzodiazepine II Calibrator A (negativer Urin) verdünnt und erneut getestet werden.

Gründe für eine Neukalibration

- Wenn eine neue Reagenz-Charge verwendet wird

- Wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrolle es erfordern
- Wenn das Standard-Laborprotokoll es erfordert
- Aufgrund der vorliegenden Daten ist eine Kalibrations-Stabilität von mindestens 15 Tagen zu erwarten

Qualitätskontrolle (QC) und Kalibration

Jedes Labor sollte sein eigenes Qualitätskontrollverfahren für den ARK HS Benzodiazepine II Assay etablieren. Alle Vorgaben für die Qualitätskontrolle und Messungen sollten unter Berücksichtigung der lokalen, Landes- oder Bundesvorschriften bzw. Akkreditierungsanforderungen befolgt werden.

Jedes Labor sollte seine eigenen Bereiche für neue Kontrollchargen festlegen. Die Kontrollergebnisse sollten innerhalb der durch laborspezifische Verfahren und Richtlinien festgelegten Grenzen liegen. Die ARK HS Benzodiazepine II Control ist als Qualitätskontrolle für den ARK HS Benzodiazepine II Assay vorgesehen.

Bezogen auf den 100 ng/mL Cut-off bzw. auf den 200 ng/mL Cut-off sollte im qualitativen Modus die Low Control negativ bzw. die High Control positiv sein.

9 Ergebnisse und erwartete Werte

Für ein bestätigtes positives Ergebnis ist eine spezifischere Bestätigungsmethode wie LC-MS/MS oder GC-MS erforderlich.

Qualitative Analyse – Negative Ergebnisse

Eine Probe, deren Enzymaktivität niedriger ist als die des ARK HS Benzodiazepine II Cut-off Calibrators B bzw. ARK HS Benzodiazepine II Cut-off Calibrators C wird als negativ interpretiert, d.h., die Probe enthält entweder kein Benzodiazepin oder lediglich in einer Konzentration unterhalb der entsprechenden Cutoff-Werte dieses Assays.

Qualitative Analyse – Positive Ergebnisse

Eine Probe, deren Enzymaktivität gleich ist wie die des ARK HS Benzodiazepine II Cut-off Calibrators B bzw. ARK HS Benzodiazepine II Cut-off Calibrators C oder darüber liegt, wird als positiv interpretiert und weist darauf hin, dass Benzodiazepine in der Probe vorhanden sind.

Semi-quantitative Analyse

Die tatsächliche Benzodiazepin-Konzentration kann mit diesem Assay nicht ermittelt werden. Semi-quantitative Ergebnisse für positive Proben ermöglichen es dem Labor, eine geeignete Verdünnung der Probe für die Bestigungsanalyse zu ermitteln. Darüber hinaus ist das Labor damit in der Lage, Qualitätskontrollverfahren zu etablieren und die Reproduzierbarkeit zu beurteilen. Proben mit Ergebnissen über dem höchsten ARK HS Benzodiazepine II Calibrator Level (3000 ng/mL) können mit dem ARK HS Benzodiazepine II Calibrator A (negativer Urin) verdünnt und erneut getestet werden.

Die mit diesem Test erzielten Ergebnisse sollten stets im Zusammenhang mit der Krankengeschichte des Patienten, dem klinischen Erscheinungsbild und anderen Befunden interpretiert werden.

10 Grenzen des Verfahrens

- Dieser Assay ist ausschließlich zur Verwendung mit Humanurin vorgesehen.
- Die ARK HS Benzodiazepine II Assay Reagenzien, Kalibratoren und Kontrollen wurden als Set entwickelt. Werden Produkte ausgetauscht, kann die Performance nicht mehr gewährleistet werden.
- Ein positives Testergebnis mit dem ARK HS Benzodiazepine II Assay weist lediglich darauf hin, dass Benzodiazepine in der Probe vorhanden sind, und korreliert nicht notwendigerweise mit der physiologischen oder psychologischen Wirkung.
- Berücksichtigen Sie bei der Interpretation der Ergebnisse, dass Urinkonzentrationen aufgrund von Flüssigkeitszufuhr und anderen biologischen Variablen extrem variieren können.
- Auch Substanzen, die in der Spezifitätsstudie nicht untersucht wurden, können den Test beeinflussen und zu falschen Ergebnissen führen.

11 Spezifische Leistungsmerkmale

Die folgenden Leistungsmerkmale wurden mit dem ARK HS Benzodiazepine II Assay auf einem klinisch-chemischen Analysensystem vom Typ Beckman Coulter AU680® ermittelt.

Präzision

Analyt-freier, negativer Humanurin wurde mit Etizolam (0.0 bis 200.0 ng/mL für den 100 ng/mL Cut-off und 0.0 bis 400.0 ng/mL für den 200 ng/mL Cut-off) dotiert. Jeder Level wurde in Vierfachbestimmung zweimal täglich über 20 Tage (N=160) gemessen. Die Ergebnisse wurden qualitativ und semi-quantitativ ausgewertet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Qualitative Präzision – 100 ng/mL Cut-off

Humanurin (ng/mL)	Relativer Cut-off in %		# Ergebnisse	Qualitative Präzision Ergebnisse
0.0	-100		160	160 Negativ
25.0	-75		160	160 Negativ
50.0	-50		160	160 Negativ
75.0	-25		160	160 Negativ
100.0	Cut-off		160	104 Negativ; 56 Positiv
125.0	+25		160	160 Positiv
150.0	+50		160	160 Positiv
175.0	+75		160	160 Positiv
200.0	+100		160	160 Positiv

Semi-quantitative Präzision – 100 ng/mL Cut-off

Humanurin (ng/mL)	Relativer Cut-off in %	# Bestimmungen	Mittelwert (ng/mL)	Semi-quantitative Präzision Ergebnisse
0.0	-100	160	1.1	160 Negativ
25.0	-75	160	23.2	160 Negativ
50.0	-50	160	50.5	160 Negativ
75.0	-25	160	74.0	160 Negativ
100.0	Cut-off	160	98.6	93 Negativ; 67 Positiv
125.0	+25	160	123.3	160 Positiv
150.0	+50	160	145.2	160 Positiv
175.0	+75	160	170.5	160 Positiv
200.0	+100	160	187.6	160 Positiv

Qualitative Präzision – 200 ng/mL Cut-off

Humanurin (ng/mL)	Relativer Cut-off in %		# Ergebnisse	Qualitative Präzision Ergebnisse
0.0	-100		160	160 Negativ
50.0	-75		160	160 Negativ
100.0	-50		160	160 Negativ
150.0	-25		160	160 Negativ
200.0	Cut-off		160	142 Negativ; 18 Positiv
250.0	+25		160	160 Positiv
300.0	+50		160	160 Positiv
350.0	+75		160	160 Positiv
400.0	+100		160	160 Positiv

Semi-quantitative Präzision – 200 ng/mL Cut-off

Humanurin (ng/mL)	Relativer Cut-off in %	# Ergebnisse	Mittelwert (ng/mL)	Semi-quantitative Präzision Ergebnisse
0.0	-100	160	1.1	160 Negativ
50.0	-75	160	50.5	160 Negativ
100.0	-50	160	98.6	160 Negativ
150.0	-25	160	145.2	160 Negativ
200.0	Cutoff	160	187.6	147 Negativ; 13 Positiv
250.0	+25	160	240.3	160 Positiv
300.0	+50	160	293.2	160 Positiv
350.0	+75	160	342.8	160 Positiv
400.0	+100	160	391.1	160 Positiv

Analytische Wiederfindung

Die Wiederfindung über den gesamten Messbereich wurde im semi-quantitativen Modus ermittelt. Analyt-freier, negativer Humanurin wurde mit Etizolam (3750.0 ng/mL) dotiert. Anschließend wurden proportionale Verdünnungen mit analyt-freiem Humanurin hergestellt. Die Etizolam-Konzentrationen lagen zwischen 25.0 und 3000.0 ng/mL. Für jeden Level wurde die prozentuale Wiederfindung berechnet, basierend auf der mittleren Konzentration (N=6) im Vergleich zur erwarteten Konzentration. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Theoretische Konzentration (ng/mL)	Mittlere Konzentration (ng/mL)	Wiederfindung (%)
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

Analytische Spezifität

Analyt-freier, negativer Humanurin wurde mit den getesteten Substanzen dotiert und mit dem ARK HS Benzodiazepine II Assay sowohl qualitativ als auch semi-quantitativ analysiert.

Die Kreuzreaktivität der folgenden strukturell verwandten Analyten wurde ermittelt durch Dotierung von analyt-freiem Humanurin mit diesen Substanzen. Damit wurde die niedrigste Konzentration ermittelt, die ein positives Ergebnis ergibt, das ungefähr dem Etizolam Cut-off-Wert von 100 ng/mL bzw. 200 ng/mL entspricht. Diese Konzentration wurde zur Bestimmung der prozentualen Kreuzreaktivität nach der folgenden Formel verwendet:

Kreuzreaktivität in % = (Cut-off-Konzentration / Niedrigste Konzentration des kreuzreagierenden Analyten, die ein positives Ergebnis ergibt) X 100

Für Substanzen, die kein positives Ergebnis erbrachten, wurde die höchste getestete Konzentration zur Berechnung der prozentualen Kreuzreaktivität verwendet.

Strukturell verwandte Substanzen

Substanz	Konzentration, die ungefähr dem 100 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)	Kreuz-reaktivität bei Cut-off 100 ng/mL (%)	Konzentration, die ungefähr dem 200 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)	Kreuz-reaktivität bei Cut-off 200 ng/mL (%)
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-ethylflurazepam	70	142.9	125	160.0
3-OH-flubromazepam	19	526.3	27	740.7
3-OH-phenazepam	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
Chlordiazepoxid	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
Desalkylflurazepam	15	666.7	25	800.0
Clonazolam	350	28.6	800	25.0
Clorazepat	45	222.2	70	285.7
Deschloroetizolam	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
Flurazepam	350	28.6	650	30.8
Halazepam	2,500	4.0	5,000	4.0
Ketazolam	2,200	4.5	4,000	5.0
Loprazolam	130	76.9	260	76.9
Lorazepam	12	833.3	16.5	1212.1
Lorazepam Glucuronid	13	769.2	20	1000.0

Substanz	Konzentration, die ungefähr dem 100 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)	Kreuzreaktivität bei Cut-off 100 ng/mL (%)	Konzentration, die ungefähr dem 200 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)	Kreuzreaktivität bei Cut-off 200 ng/mL (%)
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-Desmethyloclobazam	160	62.5	320	62.5
N-desmethyflunitrazepam	150	66.7	300	66.7
Nimetazepam	1,350	7.4	3,000	6.7
Nitrazepam	500	20.0	950	21.1
Norchlorodiazepoxid	75	133.3	120	166.7
Nordiazepam	43	232.6	57	350.9
Oxazepam	38	263.2	55	363.6
Oxazepam Glucuronid	20	500.0	30	666.7
Phenazepam	15	666.7	20	1000.0
Prazepam	1,700	5.9	3,400	5.9
Pyrazolam	350	28.6	700	28.6
Temazepam	85	117.6	130	153.8
Temazepam Glucuronid	35	285.7	70	285.7
Tetrazepam	600	16.7	1,200	16.7
Triazolam	27	370.4	45	444.4

Interferenzen

Strukturell nicht verwandte Substanzen

Hohe Konzentrationen der folgenden strukturell nicht verwandten Substanzen wurden zu analyt-freiem Urin hinzugefügt und semi-quantitativ ausgewertet. Dabei wurden die Konzentrationen ermittelt, die 100 ng/mL bzw. 200 ng/mL Etizolam entsprachen. Diese sind in der folgenden Tabelle aufgelistet. Substanzen, die keine positive Reaktion zeigten, werden mit größer (>) als die höchste getestete Konzentration angegeben. Keine dieser Substanzen führte zu einem negativen Ergebnis, wenn der Urin mit Etizolam in der High Control Konzentration (125 ng/mL für den 100 ng/mL Cut-off bzw. 250 ng/mL für den 200 ng/mL Cut-off) dotiert wurde.

Substanz	Konzentration, die ungefähr dem 100 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)	Konzentration, die ungefähr dem 200 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)
4-Hydroxydiclofenac	>100,000	>100,000

Substanz	Konzentration, die ungefähr dem 100 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)	Konzentration, die ungefähr dem 200 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)
6-Acetylcodein	>100,000	>100,000
6-Acetylmorphin	>100,000	>100,000
Acetaminophen	>100,000	>100,000
Acetylsalicylsäure	>500,000	>500,000
Amitriptylin	>100,000	>100,000
Amlodipin	>100,000	>100,000
Amobarbital	>100,000	>100,000
S-(+) Amphetamin	>100,000	>100,000
Aripiprazol	>100,000	>100,000
Benzoylecgonin	>100,000	>100,000
Bisoprolol	>100,000	>100,000
4-Brom-2,5-Dimethoxyphenethylamin	>100,000	>100,000
Buprenorphin	>100,000	>100,000
Bupropion	>100,000	>100,000
Buspiron	>100,000	>100,000
Butabarbital	>100,000	>100,000
Cannabidiol	>100,000	>100,000
Cannabinol	>100,000	>100,000
Carbamazepin	>100,000	>100,000
Carisoprodol	>100,000	>100,000
Chlorpromazin	>100,000	>100,000
Chlorprothixen	>100,000	>100,000
Cis-Tramadol	>100,000	>100,000
Clomipramin	>100,000	>100,000
Citalopram	>100,000	>100,000
Cocain	>100,000	>100,000
Codein	>100,000	>100,000
Cotinin	>100,000	>100,000
Cyclobenzaprin	>100,000	>100,000
Delta-9-THC	>100,000	>100,000
Desipramin	>100,000	>100,000
Dextromethorphan	>100,000	>100,000
Diclofenac	10,000	20,000
Dihydrocodein	>100,000	>100,000
Diphenhydramin	>100,000	>100,000
Doxepin	>100,000	>100,000
Ecgonin	>100,000	>100,000
Ecgonin methyl ester	>100,000	>100,000

Substanz	Konzentration, die ungefähr dem 100 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)	Konzentration, die ungefähr dem 200 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)
EDDP	>100,000	>100,000
1R, 2S(-)-Ephedrin	>100,000	>100,000
1S, 2R(+)-Ephedrin	>100,000	>100,000
Escitalopram	>100,000	>100,000
Ethyl β -D-glucuronid	>100,000	>100,000
Ethylmorphin	>100,000	>100,000
Fenfluramin	>100,000	>100,000
Fentanyl	>100,000	>100,000
Fluoxetin	>100,000	>100,000
Fluvoxamin	>100,000	>100,000
Gabapentin	>100,000	>100,000
Heroin	>100,000	>100,000
Hexobarbital	>100,000	>100,000
Hydrocodon	>100,000	>100,000
Hydromorphon	>100,000	>100,000
11-hydroxy-delta-9-THC	>100,000	>100,000
Ibuprofen	>100,000	>100,000
Imipramin	>100,000	>100,000
Indometacin	>100,000	>100,000
Ketamin	>100,000	>100,000
Koffein	>500,000	>500,000
Lamotrigin	>100,000	>100,000
Levorphanol Tartrat	>100,000	>100,000
Lidocain	>100,000	>100,000
Loperamid	>100,000	>100,000
LSD	>100,000	>100,000
Maprotilin	>100,000	>100,000
MDA	>100,000	>100,000
MDEA	>100,000	>100,000
MDMA	>100,000	>100,000
Meperidin	>100,000	>100,000
Meprobamat	>100,000	>100,000
Metamizol	>100,000	>100,000
Metformin	>100,000	>100,000
Methadon	>100,000	>100,000
S(+)-methamphetamin	>100,000	>100,000
Methaqualon	>100,000	>100,000
Methylphenidat	>100,000	>100,000
Metoclopramid	>100,000	>100,000

Substanz	Konzentration, die ungefähr dem 100 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)	Konzentration, die ungefähr dem 200 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)
Metoprolol	>100,000	>100,000
Mirtazapin	>100,000	>100,000
Morphin	>100,000	>100,000
Morphin-3-beta-glucuronid	>100,000	>100,000
Morphin-6-beta-glucuronid	>100,000	>100,000
Nalorphen	>100,000	>100,000
Naloxon	>100,000	>100,000
Naltrexon	>100,000	>100,000
Naproxen	>100,000	>100,000
Nefopam	>100,000	>100,000
N-desmethyltapentadol	>100,000	>100,000
Norbuprenorphin	>100,000	>100,000
Norcodein	>100,000	>100,000
Normorphin	>100,000	>100,000
Norpropoxyphen	>100,000	>100,000
Norpseudoephedrin	>100,000	>100,000
Nortriptylin	>100,000	>100,000
Olanzapin	>100,000	>100,000
Omeprazol	>100,000	>100,000
Opi Pramol	>100,000	>100,000
Oxaprozin	13,000	25,000
Oxycodon	>100,000	>100,000
Oxymorphon	>100,000	>100,000
Paraxanthin	>100,000	>100,000
Paroxetin	>100,000	>100,000
PCP	>100,000	>100,000
Pentazocin	>100,000	>100,000
Pentobarbital	>100,000	>100,000
Phenobarbital	>100,000	>100,000
Phentermin	>100,000	>100,000
Phenylephrin	>100,000	>100,000
Phenylpropanolamin	>100,000	>100,000
Phenytoin	>100,000	>100,000
PMA	>100,000	>100,000
Promethazin	>100,000	>100,000
Propoxyphen	>100,000	>100,000
Propranolol	>100,000	>100,000
Prothipendyl	>100,000	>100,000
Protriptylin	>100,000	>100,000

Substanz	Konzentration, die ungefähr dem 100 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)	Konzentration, die ungefähr dem 200 ng/mL Cut-off entspricht (ng/mL)
R,R(-)-Pseudoephedrin	>100,000	>100,000
S,S(+)-Pseudoephedrin	>100,000	>100,000
Quetiapin	>100,000	>100,000
Ramipril	>100,000	>100,000
Ranitidin	>100,000	>100,000
Ritalinsäure	>100,000	>100,000
Salicylsäure	>100,000	>100,000
Secobarbital	>100,000	>100,000
Sertralin	>100,000	>100,000
Sufentanil Citrat	>100,000	>100,000
11-nor-9-carboxy THC	>100,000	>100,000
Theophyllin	>100,000	>100,000
Thioridazin	>100,000	>100,000
Tianeptin	>100,000	>100,000
Trifluormethylphenylpiperazin	>100,000	>100,000
Trazodon	>100,000	>100,000
Trimipramin	>100,000	>100,000
Valproinsäure	>100,000	>100,000
Venlafaxin	>100,000	>100,000
Vortioxetin	>100,000	>100,000
Zaleplon	>100,000	>100,000
Zolpidem Tartrat	>100,000	>100,000
Zopiclon	>100,000	>100,000

Endogene Substanzen

Hohe Konzentrationen der folgenden endogenen Substanzen wurden zu Urin hinzugefügt, der mit Etizolam in $\pm 25\%$ der Cut-off-Konzentrationen (75 ng/mL und 125 ng/mL für den 100 ng/mL Cut-off, 150 ng/mL und 250 ng/mL für den 200 ng/mL Cut-off) dotiert wurde. Bei der qualitativen und semi-quantitativen Messung mit dem ARK HS Benzodiazepine II Assay wurde lediglich eine Interferenz mit Borsäure festgestellt.

Substanz	Getestete Konzentration	Dotierte Etizolam Level	
		-25% Cut-off	+25% Cut-off
Aceton	1000 mg/dL	Negativ	Positiv
Ascorbinsäure	1500 mg/dL	Negativ	Positiv
Bilirubin	2 mg/dL	Negativ	Positiv
Borsäure	1% w/v	Negativ	Negativ
Creatinin	500 mg/dL	Negativ	Positiv
Ethanol	1000 mg/dL	Negativ	Positiv

Substanz	Getestete Konzentration	Dotierte Etizolam Level	
		-25% Cut-off	+25% Cut-off
Galactose	10 mg/dL	Negativ	Positiv
Gamma Globulin	500 mg/dL	Negativ	Positiv
Glucose	2000 mg/dL	Negativ	Positiv
Hämoglobin	115 mg/dL	Negativ	Positiv
Humanalbumin	500 mg/dL	Negativ	Positiv
Oxalsäure	100 mg/dL	Negativ	Positiv
Riboflavin	7.5 mg/dL	Negativ	Positiv
Natriumazid	1% w/v	Negativ	Positiv
Natriumchlorid	6000 mg/dL	Negativ	Positiv
Natriumfluorid	1% w/v	Negativ	Positiv
Urea	6000 mg/dL	Negativ	Positiv

Spezifisches Gewicht und pH-Wert

Urinproben mit einem spezifischen Gewicht zwischen 1.002 und 1.030 sowie pH-Werten zwischen 3,0 und 11,0 wurden in Gegenwart der beiden Etizolam-Konzentrationen bei $\pm 25\%$ der Cutoff Konzentrationen (75 ng/mL und 125 ng/mL für den 100 ng/mL Cutoff bzw. 150 ng/mL und 250 ng/mL für den 200 ng/mL Cutoff) getestet. Bei qualitativen bzw. semi-quantitativen Tests mit dem ARK HS Benzodiazepine II Assay wurden keine Interferenzen beobachtet.

Methodenvergleich

Insgesamt einhundertdreiundsechzig (163) unveränderte, nicht mit Glucuronidase vorbehandelte klinische Humanurin-Proben, die individuell nicht identifizierbar waren, wurden mit dem ARK HS Benzodiazepine II Assay sowohl qualitativ als auch semi-quantitativ mit beiden Cut-off-Konzentrationen getestet. Die Ergebnisse wurden mit der LC-MS/MS Bestätigungsanalyse verglichen. Die LC-MS/MS Bestätigungsanalyse wurde von einem zertifizierten Referenzlabor durchgeführt. Kurz zusammengefasst basiert die Methode auf der Vorbehandlung der Proben mit Glucuronidase, der Zugabe interner Standards und der Injektion in eine LC-MS/MS-Säule. Die Peaks und ihre Bestimmungsgrenzen (LoQ) in ng/mL sind: 7-Aminoclonazepam (5); Alprazolam (1); Hydroxylalprazolam (1); Lorazepam (10); Diazepam (5); Nordiazepam (5); Oxazepam (5); Temazepam (1); Midazolam (1); Hydroxymidazolam (1). Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst. Das LC-MS/MS Ergebnis stellt dabei die Summe aller identifizierten Benzodiazepin-Peaks dar.

Alle ARK-positiven Proben in dieser Studie wurden durch LC-MS/MS bestätigt und wiesen Benzodiazepin-Konzentrationen von mindestens 20 ng/mL auf.

Methodenvergleich – 100 ng/mL Cut-off

	LC-MS/MS Ergebnis (ng/mL)
--	---------------------------

ARK Assay Ergebnis	Weniger als 50% des Cut-offs (< 50 ng/mL)	Zwischen 50% unter dem Cut-off und dem Cut-off (50 – 99.9 ng/mL)	Zwischen dem Cut-off und 50% über dem Cut-off (100 – 149.9 ng/mL)	Gleich oder mehr als 50% über dem Cut-off (≥ 150 ng/mL)
Negativ (< 100 ng/mL)	71	3	2	1*
Positiv (≥ 100 ng/mL)	8**	9	9	60

Sample ID	ARK Assay (ng/mL)	LC-MS/MS (ng/mL)	Gemäß LC-MS/MS vorhandene Benzodiazepine
62*	96.3	216.9	Alprazolam; Hydroxyalprazolam
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**	> 3,000	46.0	Lorazepam
91**	192.3	28.4	Lorazepam
93**	340.6	29.6	Lorazepam

**Die starke Reaktivität auf 7-Aminoclonazepam, Diazepam, Lorazepam Glucuronid, Oxazepam Glucuronid sowie Temazepam Glucuronid trug zu den positiven Ergebnissen des ARK HS Benzodiazepine II Assays bei.

Methodenvergleich – 200 ng/mL Cut-off

ARK Assay Ergebnis	LC-MS/MS Result (ng/mL)			
	Weniger als 50% des Cut-offs (<100 ng/mL)	Zwischen 50% unter dem Cut-off und dem Cut-off (100 – 199.9 ng/mL)	Zwischen dem Cut-off und 50% über dem Cut-off (200 – 299.9 ng/mL)	Gleich oder mehr als 50% über dem Cut-off (≥ 300 ng/mL)
Negativ (< 200 ng/mL)	78	6	2	2†
Positiv (≥ 200 ng/mL)	13**	11	11	40

Sample ID	ARK Assay (ng/mL)	LC-MS/MS (ng/mL)	Benzodiazepines present by LC-MS/MS
55†	180.9	386.1	Alprazolam; Hydroxyalprazolam

Sample ID	ARK Assay (ng/mL)	LC-MS/MS (ng/mL)	Benzodiazepines present by LC-MS/MS
61 [†]	176.6	543.4	Alprazolam; Hydroxyalprazolam
30 ^{††}	661.8	26.5	Lorazepam
35 ^{††}	1,620.1	90.3	Lorazepam
42 ^{††}	466.3	27.1	Diazepam, Nordiazepam, Oxazepam, Temazepam
43 ^{††}	520.1	23.5	Nordiazepam, Oxazepam, Temazepam
47 ^{††}	1,291.9	66.3	Nordiazepam, Oxazepam, Temazepam
48 ^{††}	838.8	66.5	Nordiazepam, Oxazepam, Temazepam
72 ^{††}	1,117.9	75.4	Nordiazepam, Oxazepam, Temazepam
82 ^{††}	811.7	73.0	Nordiazepam, Oxazepam, Temazepam
90 ^{††}	> 3,000	46.0	Lorazepam
93 ^{††}	340.6	29.6	Lorazepam
94 ^{††}	1,124.9	60.6	Lorazepam
96 ^{††}	697.6	57.5	Lorazepam
97 ^{††}	815.2	68.0	Lorazepam

^{††}Die starke Reaktivität auf Diazepam, Lorazepam Glucuronid, Oxazepam Glucuronid und Temazepam Glucuronid trug zu den positiven Ergebnissen des ARK HS Benzodiazepine II Assay bei.

12 Literaturnachweise

1. Katzung BG, ed. Basic and clinical pharmacology. 5th ed. Norwalk, Conn: Appleton & Lange, 1992.
2. Julien RM. A primer of drug action. 6th ed. New York, NY: W.H. Freeman & Co; 1992.
3. Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics. 8th ed. New York, NY: Pergamon Press, 1990.
4. Adams EH. Prevalence of prescription drug abuse: Data from the National Institute on Drug Abuse. 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). Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs. Federal Register / Vol. 69, No. 71 / Tuesday, April 13, 2004 (Effective Date: November 1, 2004) / Notices.
6. Gonzales, E. et al. 2013. Stability of pain-related medications, metabolites, and illicit substances in urine. *Clinica Chimica Acta* **416**:80-85.

13 Markenzeichen

ARKTM ist ein Markenzeichen von ARK Diagnostics, Inc.

Alle anderen Marken- oder Produktnamen sind Markenzeichen der entsprechenden Markeninhaber.



ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 USA

Überarbeitet Januar 2024
1600-1026-00DE Rev 05