

Metodbeskrivning

DROG 2:**U-Bensodiazepiner (verifiering), LCMSMS**Gäller för
Klinisk kemi

LU

DROG 2:**U-Bensodiazepiner (verif) på LCMSMS (NPU18178)****U-Demetyldiazepam (Nordazepam) (NPU28061)****U-Oxazepam (NPU28062)****U-Temazepam (3-OH-diazepam) (NPU28063)****U-Lorazepam (NPU28060)****U-7-aminoklonazepam (NPU28056)****U-7-aminonitrazepam (NPU28057)****U-7-aminoflunitrazepam (NPU28055)****U- α -OH-midazolam (NPU28059)****U- α -OH-alprazolam (NPU28054)****Bakgrund, indikation och tolkning**

Bensodiazepiner av olika slag har inom sjukvården stor användning som anxiolytika och hypnotika. Bensodiazepinerna tas snabbt upp i blodet och metaboliseras i stor utsträckning [1]. Dessa metaboliter och till en viss del ometaboliserade bensodiazepiner, utsöndras i urinen i oförändrad form och som glukuronider [1,2]. Det förekommer även ett omfattande missbruk av bensodiazepiner. För att påvisa förekomsten av bensodiazepiner i urin, används en screeningmetod baserad på KIMS reagens från Roche [3, 4]. Positiva fynd från screeningen konfirmeras med denna LCMSMS-metod, som bestämmer de i Sverige vanligaste förekommande bensodiazepinerna och/eller deras huvudmetaboliter.

I analysen ingår alltid kvantitativ bestämning av:

Diazepammetaboliterna demetyldiazepam, temazepam (OH-diazepam) och oxazepam. Oxazepam finns även som eget läkemedel. Analysen innehåller även metaboliter till lorazepam, klonazepam, nitrazepam, flunitrazepam, midazolam och alprazolam.

Se tabell nedan över analyserade metaboliter (nedbrytningsprodukter) till resp läkemedel:

Läkemedel	Läkemedelssubstans	Analyserad Metabolit
<i>Stesolid, Diazepam</i>	Diazepam	Demetyldiazepam, Temazepam (OH-diazepam), Oxazepam
<i>Sobril, Oxascand</i>	Oxazepam	Oxazepam
<i>Temesta, Lorazepam</i>	Lorazepam	Lorazepam
<i>Iktorivil</i>	Klonazepam	7-aminoklonazepam
<i>Apodorm, Mogadon, Nitrazepam</i>	Nitrazepam	7-aminonitrazepam
<i>Flunitrazepam</i>	Flunitrazepam	7-aminoflunitrazepam
<i>Midazolam</i>	Midazolam	alfa-OH-midazolam
<i>Xanor, Alprazolam</i>	Alprazolam	alfa-OH-alprazolam

Metodbeskrivning

DROG 2:**U-Benzodiazepiner (verifiering), LCMSMS**Gäller för
Klinisk kemi

LU

Analysprincip

Urinprovet hydrolyseras med enzymet β -glukuronidas för att bryta glukuroniden [1, 2]. Sedan fälls proteiner i urinen med acetonitril. Efter centrifugering späds provet innan injektion på LCMSMS. Bestämning av de olika benzodiazepin komponenterna sker med LCMSMS. Beräkning sker mot kalibreringskurva i 6 nivåer.

ReferensintervallNegativt (< gränsvärde 50 $\mu\text{g/L}$) [5-7]**Metodkaraktistika****Interferenser och felkällor**

Humanurin innehåller inga endogena föreningar, som interfererar med metoden.

Detektionsgräns och MätområdeMätområde: 30 – 5 000 $\mu\text{g/L}$ [8]**Spårbarhet**

Demetyldiazepam (Nordazepam)	Analyscertifikat Cerilliant
Demetyldiazepam-D5 (IS)	Analyscertifikat Cerilliant
Oxazepam	Analyscertifikat Cerilliant
Oxazepam-D5 (IS)	Analyscertifikat Cerilliant
Temazepam	Analyscertifikat Cerilliant
Temazepam-D5 (IS)	Analyscertifikat Cerilliant
Lorazepam	Analyscertifikat Cerilliant
Lorazepam-D4 (IS)	Analyscertifikat Cerilliant
7-aminoklonazepam	Analyscertifikat Cerilliant
7-aminoklonazepam-D4 (IS)	Analyscertifikat Cerilliant
7-aminonitrazepam	Analyscertifikat Cerilliant
7-aminonitrazepam-D5 (IS)	Analyscertifikat Cerilliant
7-aminoflunitrazepam	Analyscertifikat Cerilliant
7-aminoflunitrazepam-D7 (IS)	Analyscertifikat Cerilliant
α -OH-midazolam	Analyscertifikat Cerilliant
α -OH-midazolam-D4 (IS)	Analyscertifikat Cerilliant
α -OH-alprazolam	Analyscertifikat Cerilliant
α -OH-alprazolam-D5 (IS)	Analyscertifikat Cerilliant

Metodbeskrivning

**DROG 2:
U-Bensodiazepiner (verifiering), LCMSMS**

Gäller för
Klinisk kemi

LU

Mätosäkerhet

Fastställd mätosäkerhet efter årsuppföljning 2020 (200101-201231).

	Nivå (µg/L)	Total CV%
Demetyldiazepam (Nordazepam)	50	9
	500	5
	3000	5
Oxazepam	50	7
	500	5
	3000	5
Temazepam	50	7
	500	5
	3000	5
Lorazepam	50	7
	500	5
	3000	5
7-aminoklonazepam	50	5
	500	5
	3000	5
7-aminonitrazepam	50	7
	500	5
	3000	5
7-aminoflunitrazepam	50	5
	500	5
	3000	5
alfa-OH-midazolam	50	10
	500	10
	3000	7
alfa-OH-alprazolam	50	9
	500	7
	3000	7

Övrig information

Validering har utförts av Klinisk kemi i Lund [8, 9]. Riktigheten kontrolleras genom deltagande i externt kontrollprogram (EQUALIS och LGC).

Ackreditering

U-Bensodiazepiner verifiering är ackrediterad.

Metodbeskrivning

**DROG 2:
U-Bensodiazepiner (verifiering), LCMSMS**Gäller för
Klinisk kemi

LU

Referenser

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia 1999, Saunders, 3:e upplagan sid 950 – 955.
2. Nilsson-Ehle P, red. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Lund: Studentlitteratur 2012, ISBN 978-91-44-04787-4, 9:e upplagan sid 712.
3. Klette, K.L., Wiegand, R. F., Horn, C. K., Stout, P. R., Magluilo Jr., J. (2005) Urine Benzodiazepine Screening using Roche Online KIMS Immunoassay with β -glucuronidase hydrolysis and confirmation by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Anal. Toxicol*, vol. 29, 193-200.
4. Produktblad Benzodiazepines II (BNZ2) ONLINE KIMS, Cobas c-system, Roche Diagnostcs Mannheim.
5. Hansson T, Helander A, Beck O, Elmgren A, Kugelberg F, Kronstrand R. Enhetliga analyser av narkotika i urin krävs för rättssäkerheten, *Läkartidningen* 2015; 112 (39), 1671-1677.
6. Equalis rekommendation S013 version 1.0, Narkotikaanalyser i urinprov, Expertgruppen för Läkemedel och toxicologi, 2015-10-01, https://www.equalis.se/media/dyaonv31/s013_gränsvärden-för-narkotika-i-urin_1-0.pdf
7. Equalis rekommendation S027 version 1.0, Rutiner vid beställning och svarsrapportering av narkotikaanalyser i urinprov, Expertgruppen för Läkemedel och toxicologi, 2019-02-28, https://www.equalis.se/media/bfpezhyg/s027_rutiner-vid-beställning-och-svarsrapportering-av-narkotikaanalyser-i-urinprov_1-0.pdf
8. Valideringsprotokoll för U-Bensodiazepiner verifiering ([dok ID 17-464](#)), Klinisk kemi Lund, finns på arbetsplatsen.
9. Validering - Överföring av LC-MS/MS metod för DROG2: U-Bensodiazepiner (verif) till vätskehanteringsrobot Hamilton STARlet ([dok ID 19-24](#))
10. Dugan, S. et. al.: Stability of drugs of abuse in urine samples stored at -20°C. *J. Anal. Toxicol.*, 18: 391-396, 1994.
11. Instrumenthandhavande Hamilton Microlab STARlet Robot (Jupiter) ([dok ID C-8898](#)), aktuell version.
12. Instrumenthandhavande Hamilton Microlab STARlet Robot (Saturnus) [dok ID C-10203](#), aktuell version.
13. Instrumenthandhavande LCMSMS 6500 plus-3 ([dok ID 16-610](#)), aktuell version, finns på arbetsplatsen.
14. Produktblad β -Glucuronidase isolated from *Escherichia coli* K 12, Roche Diagnostic GmbH. Tyskland.
15. Sciex manual för Analyst. Finns på arbetsplatsen.