

LCMSMS-6

S-Alprazolam (NPU04627)

S-Lorazepam (NPU04855)

S-Klonazepam (NPU01618)

S-Nitrazepam (NPU02915)

S-Diazepam (NPU01879)

S-Nordazepam (NPU18609)

S-Oxazepam (NPU04862)

S-Zolpidem (NPU09066)

S-Zopiklon (NPU08837)

Bakgrund, indikation och tolkning

Serumkoncentrationsbestämning av dessa bensodiazepiner och Z-hypnotika kan vara till hjälp bl.a. vid behandling av missbruk, nedtrappningsschema och compliance-kontroll.

Diazepam metaboliseras till nordazepam (desmetyldiazepam) och oxazepam, vilka båda är farmakologiskt aktiva.

När klonazepam används vid behandling av epilepsi är serumnivåer av klonazepam till hjälp för dosoptimering. Referensområdet för epilepsi är 40-120 nmol/L (1). Det finns emellertid stor interindividuell variabilitet i optimalt terapeutiskt intervall. Ett individuellt optimalt terapeutiskt intervall kan fastställas genom att bestämma två eller fler plasmakoncentrationer, vid uppnådd jämviktskoncentration (steady state) samt stabil anfallskontroll utan besvärande biverkningar.

För drogsscreening är urinprov förstahandsvalet.

Analysprincip

Kromatografisk. Metoden mäter lorazepam och nitrazepam med oxazepam-d5 som IS, nordazepam med klonazepam-d4, samt alprazolam med triazolam-d4. Övriga mäts med sina respektive deutererade homologer.

Serum blandas med acetonitril/etanol som innehåller IS, centrifugeras, varefter supernatanten efter spädning analyseras med masspektrometri (LC-MS/MS), en teknologi som kännetecknas av god känslighet och mycket hög specificitet.

LC-MS/MS instrumentet är av typen trippel kvadrupol masspektrometer kopplad till en HPLC. Separation av olika provmolekyler sker i en HPLC-kolonn. Provmolekyler som bildar positiva joner i sur miljö joniseras i jonkällan. Joniseringen sker enligt principen API ES (atmospheric pressure electrospray ionisation). I första kvadrupolen selekteras molekyljonen för aktuell komponent. I andra kvadrupolen fragmenteras molekyljonen med en för denna jon

specifik energi. I tredje kvadrupolen selekteras ett av molekyljonens fragment, vanligtvis det med störst intensitet. Den resulterande jonintensiteten mäts med en elektronmultiplikator.

Referensintervall

Användning av bensodiazepiner under en längre period leder till utveckling av tolerans, vilket gör ett generellt referensintervall föga meningsfullt.

S-Klonazepam: 40 - 120 nmol/L (1).

För övriga substanser i metoden saknas väldefinierade referensintervall.

Metodkaraktistika

Interferenser och felkällor

Påverkan av hemolys, hyperlipidemi, hyperbilirubinemi och uremi är inte testad men vi antar att någon sådan inte finns på grund av den höga specificiteten i LC-MS/MS teknologin.

Mätområde

Komponent	Enhet	Kvantifieringsgräns	Mätintervall
Diazepam	µmol/L	0,020	0,020-5,12
Nordazepam	µmol/L	0,020	0,020-5,12
Oxazepam	µmol/L	0,020	0,020-5,12
Alprazolam	nmol/L	10,0	10,0-2560
Lorazepam	nmol/L	10,0	10,0-2560
Nitrazepam	nmol/L	10,0	10,0-2560
Zolpidem	nmol/L	10,0	10,0-2560
Zopiklon	nmol/L	10,0	10,0-2560
Klonazepam	nmol/L	5,0	5,0-1280

Mätosäkerhet (enligt årsgenomgång för 2021)

Komponent	Enhet	Låg kontroll		Hög kontroll	
		Nivå	CV%	Nivå	CV%
Diazepam	µmol/L	0,04	5	4	5
Nordazepam	µmol/L	0,04	7	4	6
Oxazepam	µmol/L	0,04	6	4	5
Alprazolam	nmol/L	20	6	2000	6
Lorazepam	nmol/L	20	7	2000	5
Nitrazepam	nmol/L	20	9	2000	8
Zolpidem	nmol/L	20	5	2000	4
Zopiklon	nmol/L	21	5	2000	4
Klonazepam	nmol/L	10	8	1000	7

Riktighet

Riktigheten kontrolleras kontinuerligt för klonazepam genom deltagande i externt kontrollprogram (LCG Standards). För de övriga analyterna finns externa kontroller inte tillgängliga.

Spårbarhet

Kalibreringen är spårbar via analyscertifikat från respektive leverantör av referenssubstanser, se Bilaga 1.

Validering

Valideringen har utförts vid Klinisk Kemi Lund, Labmedicin Skåne. Riktigheten har verifierats genom jämförelse med HPLC-metoder som tidigare var i bruk vid laboratoriet samt för klonazepam genom externt kontrollprogram.

Övrig information

Metoden är inte ackrediterad.

Normal analysfrekvens är en gång i veckan.

Referenser

1. Reimers A, Berg JA, Burns ML, Brodtkorb E, Johannessen SI, Johannessen Landmark C. Reference ranges for antiepileptic drugs revisited: a practical approach to establish national guidelines. Drug Des Devel Ther. 2018;12:271-80.
2. [C-7506, Instrumenthandledning LCMSMS AB Sciex QTrap 5500-1, Lund](#)
3. [C-7656, Instrumenthandledning LCMSMS Beräkningar](#)
4. Valideringsprotokoll LCMSMS-6, Klinisk kemi och Farmakologi
5. [16-1092, Instruktion för utvärdering på LC-MS](#)
6. [17-199, Analysprotokoll LCMS-6](#)
7. [C-7665, Serum av plasma, Lund](#)