

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-Bensodiazepiner (verifiering)_ LCMSMSGäller 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

Data från årsuppföljning 2021 (210101-211231).

	Nivå (µg/L)	Total variation (CV%)	n	Fastställd mätvariation (CV%)
Demetyldiazepam (Nordazepam)	54	4,8	73	9
	485	4,5	86	5
	2947	4,2	76	7
Oxazepam	51	6,2	73	7
	490	3,0	86	5
	2913	3,0	76	7
Temazepam	51	3,7	73	7
	488	2,5	86	5
	2923	2,0	76	7
Lorazepam	53	6,4	73	7
	496	3,5	86	5
	2914	4,1	76	7
7-aminoklonazepam	51	2,8	73	5
	507	2,3	86	5
	2987	2,0	76	7
7-aminonitrazepam	51	2,8	73	7
	510	2,0	87	5
	3010	2,2	76	7
7-aminoflunitrazepam	51	2,7	74	5
	502	2,0	87	5
	2969	2,0	76	7
alfa-OH-midazolam	55	4,5	72	10
	494	3,8	85	10
	2987	3,9	74	7
alfa-OH-alprazolam	53	11,3	74	9
	474	6,1	87	7
	2942	4,8	76	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)_ LCMSMSGäller 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 Chromatografy-Mass Spectrometry. *J. Anal. Toxicol*, vol. 29, 193-200.
4. Produktblad Benzodiazepines II (BNZ2) ONLINE KIMS, 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 toxikologi, 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 toxikologi, 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](#), [dok ID 21-181](#), [dok ID 21-494](#)), Klinisk kemi Lund, finns på arbetsplatsen.
9. Validering - Överföring av LC-MS/MS metod för DROG2: U-Bensodiazepiner (verif) till vätskehanteringsrobot Hamilton Microlab ([dok ID 19-24](#), [dok ID 20-728](#), [dok ID 22-146](#))
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 (dok ID 22-224) och Instruktion ([dok ID 22-225](#)) Hamilton Microlab Vantage Robot (Vantage), aktuell version.
13. Instrumenthandhavande Hamilton Microlab STARlet Robot (Saturnus) [dok ID C-10203](#), aktuell version.
14. Instrumenthandhavande LCMSMS Missbruk ([dok ID 16-610](#)), aktuell version, finns på arbetsplatsen.
15. Produktblad β -Glucuronidase isolated from *Escherichia coli* K 12, Roche Diagnostic GmbH. Tyskland.
16. Sciex manual för Analyst. Finns på arbetsplatsen.