Laboratoriemedicin

Godkänt datum 2024-03-13

Metodbeskrivning: 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/Svar/Tolkning/Bedömning

Vid frågor om tolkning av läkemedelskoncentrationer finns klinisk farmakologisk konsultläkare tillgänglig på tel. 046-17 46 20 (helgfri vardag kl. 10.00–16.00).

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.

Metodik/mätprincip

Metoden mäter klomipramin, mianserin, paroxetin, citalopram, venlafaxin, fluoxetin och norfluoxetin med respektive deutererade intern standards (IS). Desmetylklomipramin mäts med klomipramin-d3, desmetylcitalopram med citalopram-d6, desmetylvenlafaxin med venlafaxin-d6 och desmetylmianserin med mianserin-d3 som IS.

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.

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

Analys	Enhet	Kvantifierings-gräns	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 2023)

Analys	Enhet	Låg kontroll		Hög kontroll	
		Nivå	CV%	Nivå	CV%
Diazepam	µmol/L	0,04	3	4	3
Nordazepam	µmol/L	0,04	6	4	5
Oxazepam	µmol/L	0,04	5	4	5
Alprazolam	nmol/L	20	4	2000	6
Lorazepam	nmol/L	20	7	2000	4
Nitrazepam	nmol/L	20	6	2000	6
Zolpidem	nmol/L	20	4	2000	3
Zopiklon	nmol/L	21	4	2000	4
Klonazepam	nmol/L	10	7	1000	4

Riktighet

Riktigheten följs kontinuerligt för klonazepam genom deltagande i externt kontrollprogram (LGC Standards Proficiency).
Extern kontroll för övriga analyser finns inte tillgänglig.

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 de HPLC och LC-MS/MS metoder som tidigare var i bruk vid laboratoriet samt i vissa fall genom jämförelse med annat laboratorium. I samband med införande av upparbetning med robot gjordes en kompletterande valideringar av metoden där resultat från analys av patientprover samt interna kontroller jämfördes mellan manuell och automatiserad upparbetning (internt dokument från 2013).

Referenser

1. Hiemke C et al. Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology: Update 2017. Pharmacopsychiatry 2018;51(1-02):9-62. doi: 10.1055/s-0043-116492. Erratum in: Pharmacopsychiatry. 2018 Jan;51(1-02):e1. PMID: 28910830.
2. Helland A et al. Serumkonsentrasjonsmålinger av vanedannende legemidler. Tidsskr Nor Legeforen 2016;136:400-2. doi: 10.4045/tidsskr.16.0030
3. 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.