

Laboratoriemedicin

Godkänt datum 2025-01-22

U-Bensodiazepiner (verif)

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

Bensodiazepiner av olika slag har inom sjukvården stor användning som anxiolytika och hypnotika. Bensodiazepinerna tas snabbt upp i blodet och metaboliseras i stor utsträckning [A]. Dessa metaboliter och till en viss del ometaboliserade bensodiazepiner, utsöndras i urinen i oförändrad form och som glukuronider [A, B]. 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 [C, D]. 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:

Diazepam metaboliterna *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
Stesolid, Diazepam	Diazepam	Demetyldiazepam, Temazepam (OH-diazepam), Oxazepam
Sobril, Oxascand	Oxazepam	Oxazepam
Temesta, Lorazepam	Lorazepam	Lorazepam
Iktorivil	Klonazepam	7-aminoklonazepam
Apodorm, Mogadon, Nitrazepam	Nitrazepam	7-aminonitrazepam
Flunitrazepam	Flunitrazepam	7-aminoflunitrazepam
Midazolam	Midazolam	alfa-OH-midazolam
Xanor, Alprazolam	Alprazolam	alfa-OH-alprazolam

Metodik/mätprincip

Urinprovet hydrolyseras med enzymet β -glukuronidas för att bryta glukuroniden [A, B]. Sedan fälls proteiner i urinen med acetonitril. Efter centrifugering späds provet innan injektion på LCMSMS. Bestämning av de olika benzodiazepin komponenterna sker med LCMSMS, en teknik med god känslighet och mycket hög specificitet. LC-MS/MS instrumentet är av typen trippel kvadrupol masspektrometer kopplat till en HPLC. Beräkning sker mot kalibreringskurva i 6 nivåer.

Metodkaraktistika

Interferenser och felkällor

Humanurin innehåller inga endogena föreningar som interfererar med metoden.

Mätområde

Mätområde: 30 – 5 000 $\mu\text{g/L}$ [9]

Spårbarhet

Kalibratorerna är spårbara via analyscertifikat från respektive leverantör av referenssubstans.

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

Mätosäkerhet

Data från årsuppföljning 2023 (230101-231231).

	Nivå (µg/L)	Total variation (CV%)	n	Fastställd mätvariation (CV%)
Demetyldiazepam (Nordazepam)	51	5,7	75	9
	473	5,9	75	5
	2934	6,0	75	7
Oxazepam	50	8,5	75	7
	491	4,9	75	5
	3033	3,6	75	7
Temazepam	49	5,3	75	7
	484	3,7	75	5
	2982	3,5	75	7
Lorazepam	50	8,4	69	7
	482	5,0	69	5
	2942	4,4	69	7
7-aminoklonazepam	47	5,5	67	5
	488	4,6	73	5
	2995	3,7	70	7
7-aminonitrazepam	48	6,4	73	7
	489	3,9	73	5
	3031	3,3	73	7
7-aminoflunitrazepam	47	5,0	70	5
	482	3,6	70	5
	2971	3,4	70	7
alfa-OH-midazolam	54	6,4	75	10
	514	4,6	75	10
	3335	4,0	75	7
alfa-OH-alprazolam	50	10,7	74	9
	479	7,5	87	7
	2985	6,8	76	7

Referenslitteratur

- A. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia 1999, Saunders, 3:e upplagan sid 950 – 955.
- B. Nilsson-Ehle P, red. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Lund: Studentlitteratur 2012, ISBN 978-91-44-04787-4, 9:e upplagan sid 712.
- C. 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.
- D. Produktblad Benzodiazepines II (BNZ2) ONLINE KIMS, Roche Diagnostcs Mannheim.