

# Farmakokinetiska studier av klonazepam i saliv, blod och urin



# **Farmakokinetiska studier av klonazepam i saliv, blod och urin**

**Projektnummer: 2009\_101**

---

Fredrik Kugelberg, Robert Kronstrand

Layout: Jenny Botvidsson Kriminalvårdens Utvecklingsenhet, 2012  
Tryckning: Kriminalvården

Ytterligare exemplar kan beställas från:  
Kriminalvården, 601 80 Norrköping  
Beställningsnr: 6058  
ISBN: 978-91-86903-05-3  
Hemsida: [www.kriminalvarden.se/publikationer](http://www.kriminalvarden.se/publikationer)

## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

---

BAKGRUND .....	6
SYFTE .....	8
FRÅGESTÄLLNINGAR.....	8
BETYDELSE.....	8
METOD .....	9
RESULTAT OCH DISKUSSION.....	10
HUR LÅNGE KAN MAN SPÅRA KLONAZEPAM I URIN, BLOD OCH SALIV EFTER ENGÅNGSDOS? .....	10
GÅR DET ATT BESKRIVA ETT SAMBAND MELLAN KONCENTRATIONER I SALIV OCH BLOD? .....	14
KAN MAN ANVÄNDA KVOTER MELLAN MODERSUBSTANS/METABOLIT ELLER FLERA METABOLITER (I URIN) FÖR ATT UPPSKATTA TIDPUNKTEN FÖR INTAG? .....	15
ÄR KLONAZEPAM STABILT I BLOD, URIN OCH SALIV UNDER TRANSPORT TILL LABORATORIET (KORTTIDSSTABILITET) ELLER VID LÅNGTIDSFÖRVARING (FÖR EVENTUELL OMANALYS I EFTERHAND)? .....	16
SAMMANFATTNING OCH REKOMMENDATIONER TILL KV .....	17
HUR LÅNGE KAN MAN SPÅRA KLONAZEPAM I URIN, BLOD OCH SALIV EFTER ENGÅNGSDOS? .....	17
GÅR DET ATT BESKRIVA ETT SAMBAND MELLAN KONCENTRATIONER I SALIV OCH BLOD? .....	17
KAN MAN ANVÄNDA KVOTER MELLAN MODERSUBSTANS/METABOLIT ELLER FLERA METABOLITER (I URIN) FÖR ATT UPPSKATTA TIDPUNKTEN FÖR INTAG? .....	17
ÄR KLONAZEPAM STABILT I BLOD, URIN OCH SALIV UNDER TRANSPORT TILL LABORATORIET ELLER VID LÅNGTIDSFÖRVARING? .....	17
REFERENSER.....	18

## BAKGRUND

Missbruk av narkotiska preparat i anstalt kontrolleras vanligtvis genom urinprover. Under 2010 var det vanligaste fyndet i urinprover inskickade till Rättsmedicinalverket (RMV) cannabis och därefter kommer bensodiazepiner (tabell 1).

Tabell 1. Antalet utförda urinalyser för de vanligast förekommande drogerna under 2010.

<b>NARKOTIKA</b>	<b>Antal screening-analyser</b>	<b>Antal verifikations-analyser</b>	<b>Antal positiva efter verifikationsanalys</b>	<b>Procent positiva av totala antalet positiva</b>
U-Cannabis	29 861	1 908	1 803	42
U-Bensodiazepiner	29 462	1 217	1 166	27
U-Amfetaminer	28 379	702	650	15
U-Buprenorfin	19 355	529	346	8
U-Opiater	28 019	344	300	7
U-Kokainmetab.	7 417	44	44	1
Totalt			5693	

Förutom den sparsamma förskrivningen (inom Kriminalvården) av bensodiazepiner förekommer ett missbruk av dessa substanser och av de 1166 positiva fynden härrörde 150 st från intag av klonazepam vilket vi sett som en ökande missbruksdrog i ärenden från misstänkta ringa narkotikabrott.

Sedan en tid tillbaka finns även möjlighet att ta hårprov, saliv eller svett för drogkontroll inom Kriminalvården. Flera forskargrupper har lyft fram fördelar och nackdelar med saliv som matris (1-4). Provtagningen är enkel, inte lika integritetskränkande som urinprovtagning samtidigt som full övervakning av provtagningen kan ske, analysen kan ske både på plats (screening) och på laboratorium (verifikation). Övervakningen leder till att risker som utbyte eller utspädning, samt tillsättning av något till provet kan minimeras. Detektionstiden är troligtvis kortare än den för urin då ett salivprov mer kan liknas vid ett blodprov. RMV har nyligen utvecklat och validerat en metod för analys av droger och läkemedel i saliv (5) avsedd för salivtester vid vägkanten.

En förutsättning när man vill utöka möjligheterna att kontrollera drogfrihet är att metodiken är testad och validerad t ex mot nuvarande metoder. Dels kan man göra det med olika fältstudier, dels kan man göra det som kontrollerade studier på människa. Om man väljer det senare kan man få mycket värdefull information om utsöndring, detektionstider, halter och tolkning som ofta inte är möjlig med fältstudier där doser, tidpunkter för intag och flera andra parametrar är okända.

En annan viktig fråga är när personen tagit drogen (t ex i anstalt eller på permission) och här ser vi mot bakgrund av våra tidigare försök med buprenorfin och flunitrazepam (6,7) en möjlighet att genom analys av flera metaboliter och flera provmaterial kunna bestämma tidpunkten för intaget. Resultaten från studien med flunitrazepam visar att förhållandet mellan olika metaboliter kan ge information om när en person tagit flunitrazepam. Flera av metaboliterna utsöndrades under lång tid och en kvot mellan två av dessa förändrade sig över tiden oberoende av dos (7).

Det finns några arbeten publicerade om detektion av klonazepam i urin (8,9), men vår studie skiljer sig från dessa genom fokus på tolkning, snarare än detektion vilket ökar kunskapen och användbarheten i enskilda fall. Oftast har endast ett eller två urinprov tagits under den första 24-timmarsperioden. Genomgående har vi tagit urinprov vid flera tillfällen och mätt flera metaboliter för att noggrannare kunna bestämma farmakokinetiska parameterar och möjliggöra tolkning av metabolitkvoter.

När det gäller saliv finns mycket begränsade farmakokinetiska data för bensodiazepiner (10,11) och inget publicerat om klonazepam. Den aktuella studien av utsöndringen i saliv har därför inte bara varit av betydelse för Kriminalvården utan även för den forensiska toxikologin i allmänhet.

Mot bakgrund av likheten mellan saliv och blod kan man även tänka sig att använda saliv istället för blod vid de tillfällen då man inom Kriminalvården tar blodprov. T ex då personen inte kan lämna urinprov eller då påverkansgrad behöver undersökas.

En förutsättning för att saliven skall kunna spegla blodets koncentration av droger är att drogerna kan förflytta sig mellan de två vätskorna. Här spelar de inneboende kemiska och fysikaliska egenskaperna som lipofilitet, pKa-värde, laddning samt proteinbindningsgrad roll. De flesta substanser överförs från blod till saliv genom passiv diffusion, men åtminstone tre olika sätt finns beskrivna: passiv diffusion genom membranet, aktiv transport mot en koncentrationsgradient och ultrafiltrering genom porer i membranet. Läkemedelsubstanser är ofta fettlösliga och transporteras genom passiv diffusion i högre grad än sina mer vattenlösliga metaboliter vilka däremot kan ha mer basiska egenskaper. Normalt har saliv ett lägre pH (~6,5) än blod (~7,4) och medför att fördelningen av basiska substanser förskjuts till saliven medan det motsatta gäller för sura substanser. Samyn et al. (15) har sammanställt hur pH i saliv påverkar kvoten mellan koncentrationen av droger i saliv och plasma och fann t ex högre koncentrationer av 7-aminoflunitrazepam i saliv än flunitrazepam själv men koncentrationerna var låga i storleksordningen några nanogram per ml saliv (11). Endast fritt läkemedel (ej bundet till plasmaproteiner) i plasman kan ta sig över till saliven. Benzodiazepiner har en mycket hög proteinbindningsgrad i plasma vilket medför att dessa föreningar endast förekommer i låga halter i saliv (16) jämfört med blod. Saliv-plasma kvoten kan vara så låg som 0,01-0,08 och Laloup et al. (10) beskriver detta för diazepam. Här finns inga data för klonazepam medan blodkoncentrationer och vissa kinetiska data finns tillgängliga för klonazepam, men inte metaboliterna i blod både efter engångsdos och multipla doser (17-19).

Stabilitet av läkemedel i provmaterial behöver undersökas för att förvissa sig om att man transporterar och förvarar prover på rätt sätt samt är en förutsättning för rätt tolkning av analysresultatet. För prover från Kriminalvården är både korttids- och långtidsstabilitet av intresse. Idag skickas prover i rumstemperatur (eller egentligen vid okontrollerad temperatur) till laboratoriet för analys och dessa förvaras sedan i kyla inför analys. Generellt kan man säga att stabiliteten av olika läkemedel eller droger i blod, urin och andra provmaterial avtar med ökad temperatur.

## SYFTE

---

### Frågeställningar

Hur länge kan man spåra klonazepam i urin, blod och saliv efter engångsdos? Går det att beskriva ett samband mellan koncentrationer i saliv och blod? Kan man använda kvoter mellan moderssubstans/metabolit eller flera metaboliter (i urin) för att uppskatta tidpunkten för intag? Är klonazepam stabilt i blod, urin och saliv under transport till laboratoriet (korttidsstabilitet) eller vid långtidsförvaring (för eventuell omanalys i efterhand)?

### Betydelse

Saliv finns nu tillgängligt som provmaterial för drogtestning inom Kriminalvården, men för flera narkotikaklassade substanser och läkemedel är informationen om halter, detektionstider och jämförelse med de gängse urin- och blodproverna mycket bristfällig. I dagsläget finns endast ett fåtal studier där man undersökt farmakokinetiken av bensodiazepiner i saliv. För klonazepam finns egentligen inga data beskrivna alls varför en sådan studie är värdefull inte bara för den svenska kriminalvården utan även för den forensiska toxikologin i allmänhet. Även för urin och blod är vetenskapliga undersökningar få för denna bensodiazepin som blir allt vanligare i missbrukarkretsar. Studien utgör därmed en validering av den nya provmatrisen saliv mot de nu använda.



## METOD

---

### **Humanstudie**

Humanstudien var godkänd av Regionala etikprövningsnämnden i Linköping (dnr 2010/41-31 2010-02-17). Undersökningarna genomfördes på friska frivilliga enligt ett väl beprövat protokoll från tidigare studier (6,7). Rekrytering skedde via annonsering på Linköpings universitet. Personerna gavs två olika doser klonazepam (Iktorivil); 0,5 mg samt 2 mg. Urinprover lämnades efter 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 timmar samt efter 1, 2, 3, 5, 10 och 14 dagar. Blod- och salivprover lämnades efter 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 24, 48 och 72 timmar.

### **Toxikologiska analyser**

Samtliga urinprover analyserades för bensodiazepiner med immunokemisk screeningmetodik för att utreda om man kunde spåra ett engångsintag av klonazepam med kommersiellt reagens (CEDIA). Mycket känsliga vätskekromatografiska masspektrometriska (LC-MS-MS) metoder för klonazepam och metaboliterna 7-aminoklonazepam samt 7-acetamidoklonazepam användes för att inhämta farmakokinetiska data i urin, blod och saliv. Metoden för urin omfattade klonazepam, 7-aminoklonazepam samt 7-acetamidoklonazepam; samtliga med ett tröskelvärde på 0,25 nanogram per milliliter. Metoden för blod omfattade klonazepam och 7-aminoklonazepam; båda med tröskelvärdet 0,2 nanogram per gram blod. Metoden för saliv omfattade klonazepam och 7-aminoklonazepam; båda med tröskelvärdet 0,1 nanogram per milliliter saliv.

### **Stabilitet**

Extra prover från vissa tidpunkter och forskningspersoner delades upp i portioner för undersökning av korttids- och långtidsstabilitet i rumstemperatur (20°C), kyla (5°C) och frysa (-20°C).

### **Rapportering**

Statusrapport innefattande två delrapporter har lämnats in till Kriminalvården (2010-11-30). Analysmetoden har presenterats på rättstoxikologisk konferens hösten 2010 (20). Data från humanstudien har presenterats på rättstoxikologisk konferens hösten 2011 (21).

## RESULTAT OCH DISKUSSION

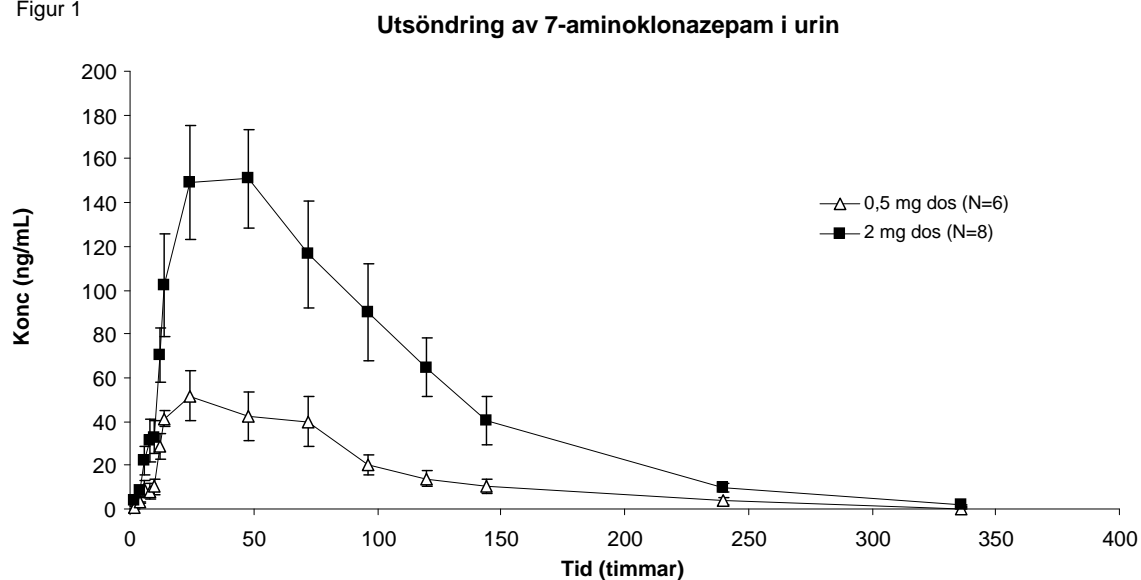
Totalt rekryterades 18 forskningspersoner. De fyra första personerna var pilotförsök vilka genomfördes under våren 2010 och utgjorde underlag för utveckling och validering av de slutliga analytiska metoderna med LC-MS-MS. På hösten 2010 genomfördes den huvudsakliga insamlingen av data från ytterligare 14 personer från vilka urin-, blod- och salivprover analyserades med de validerade analysmetoderna.

### Hur länge kan man spåra klonazepam i urin, blod och saliv efter engångsdos?

I urin kunde metaboliterna 7-aminoklonazepam och 7-acetamidoklonazepam spåras upp till 14 dygn efter intag. Den dominerande metaboliten var 7-aminoklonazepam (Figur 1). Två av sex personer som intog 0,5 mg var positiva även efter 14 dygn och sju av åtta som intog 2 mg var positiva. Koncentrationerna var dock mycket låga. Forskningsmetodens tröskelvärde ligger på 0,25 ng/ml i jämförelse med rutinmetoder för analys av missbruksprover där tröskelvärdet är i storleksordningen 10 ng/ml. Även med rutinmetodik kan man spåra ett 0,5 mg intag av klonazepam under 4 dygn och vid den högre dosen (2 mg) en vecka eller mer efter intag (d v s att koncentrationerna av 7-aminoklonazepam översteg 10 ng/ml).

Detta står dock i stark kontrast till de immunokemiska resultat som erhöles med rutinmetodik. Efter intag av 0,5 mg klonazepam erhöles inget positivt resultat från de sex försökspersonernas 90 urinprover. Efter intag av 2 mg erhöles sju positiva prover utav 119 tagna (6 %). De positiva resultaten erhöles mellan 14 och 48 timmar efter intag och innehöll mer än 150 ng/ml av 7-aminoklonazepam. Detta visar på att den rutinmässiga screeningmetodiken med immunokemiska metoder inte lämpar sig för att upptäcka enstaka intag av klonazepam. Vi har tidigare visat samma sak för bensodiazepinen flunitrazepam (7).

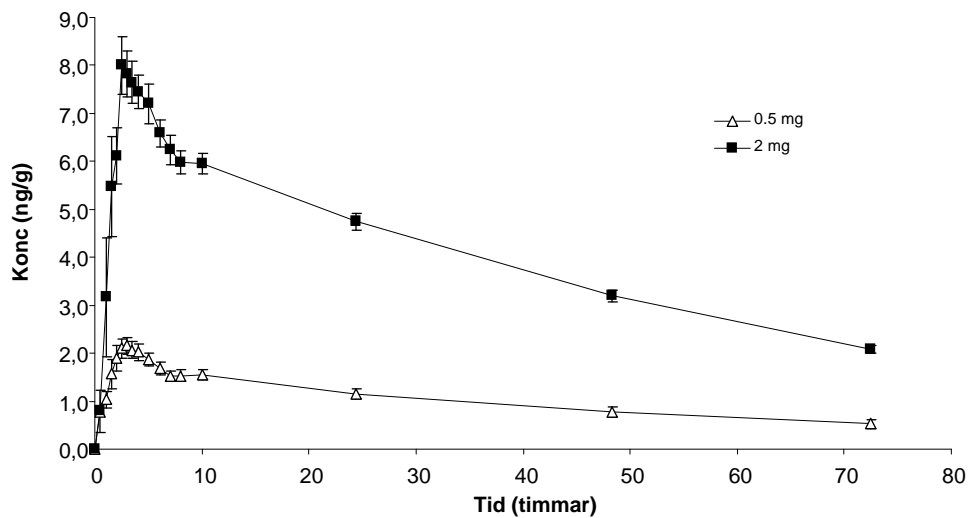
Figur 1



I både blod och saliv kunde klonazepam och dess metabolit, 7-aminoklonazepam, mätas under hela undersökningstiden upp till tre dygn efter intag. Eliminationskurvorna för klonazepam visas i figurerna 2 och 3 och man ser att det finns ett dos-koncentrationssamband för toppkoncentrationen. Efter en fyra gånger så hög dos får man en fyra gånger så hög koncentration i blodet och i saliven. Detektionstiden för klonazepam kan uppskattas genom extrapolering av kurvorna till metodernas tröskelvärde. En linjär funktion baserad på de sista fyra mätpunkterna gav sambanden  $y = -0,0623x + 6,4282$ ,  $r^2 = 0,989$  (blod) samt  $y = -0,0085x + 0,9526$ ,  $r^2 = 0,986$  (saliv). För både blod och saliv får man då en uppskattad detektionstid på 4 dygn vilket är betydligt kortare än för urin. Även här får man ta med i utvärderingen att rutinmetoder ofta har betydligt högre tröskelvärden, där tröskelvärdena är i storleksordningen 5 ng/g respektive 1 ng/ml vilket skulle motsvara detektionstider för klonazepam på ca 24 timmar i blod. Ett enskasta intag av 0,5 mg klonazepam skulle inte ge positivt resultat alls. I saliv är det bättre att mäta 7-aminoklonazepam eftersom den förekommer i högre koncentrationer, men även här blir detektionstiden ca 24 timmar med en rutinmetod.

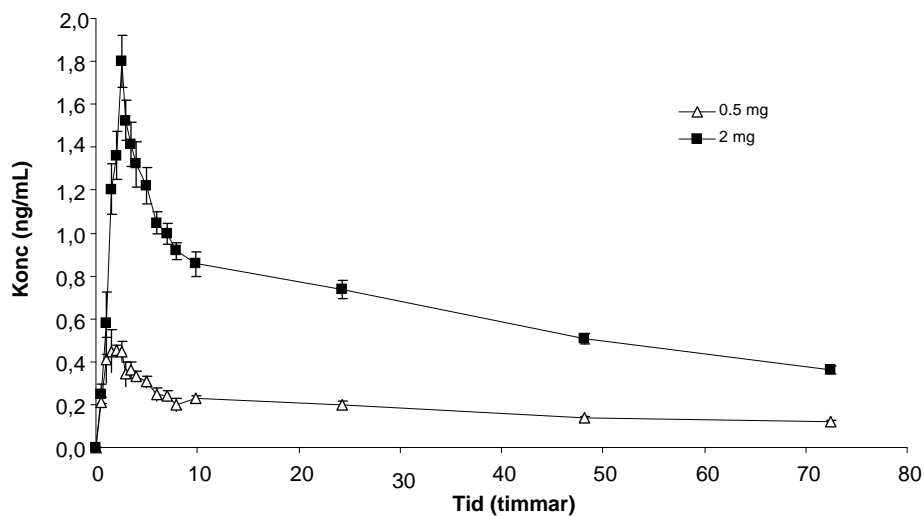
Figur 2

### Elimination av klonazepam i blod



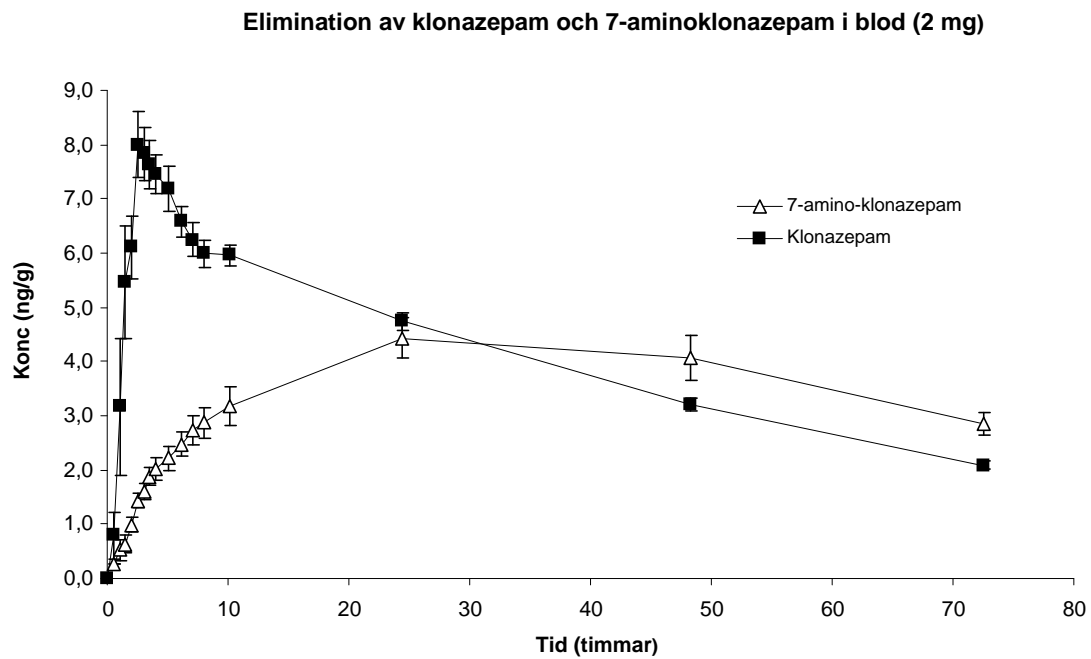
Figur 3

### Elimination av klonazepam i saliv

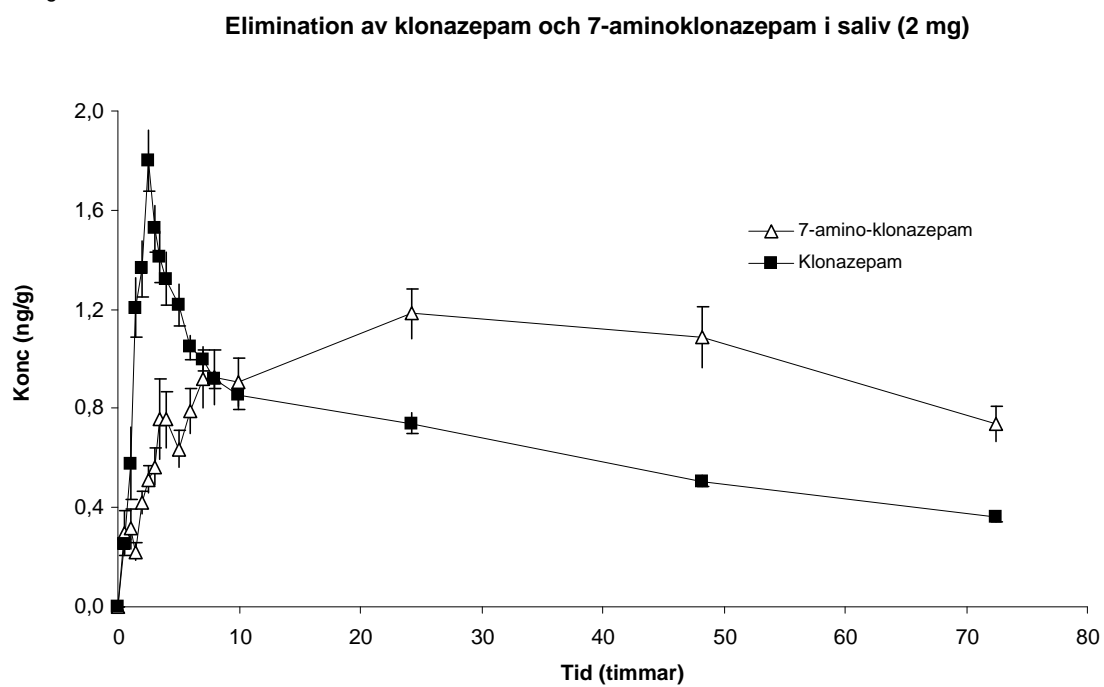


Koncentrationerna av metaboliten 7-aminoklonazepam följer inte samma eliminationskurva som modersubstansen, vilket kan ses i figurerna 4 och 5. I blod överstiger koncentrationen av 7-aminoklonazepam den av klonazepam efter ca 30 timmar medan detta sker betydligt tidigare i saliv. Man skulle kunna dra nytta av förhållandet mellan modersubstans och metabolit i blod eller saliv för att uppskatta tidpunkten för intaget.

Figur 4

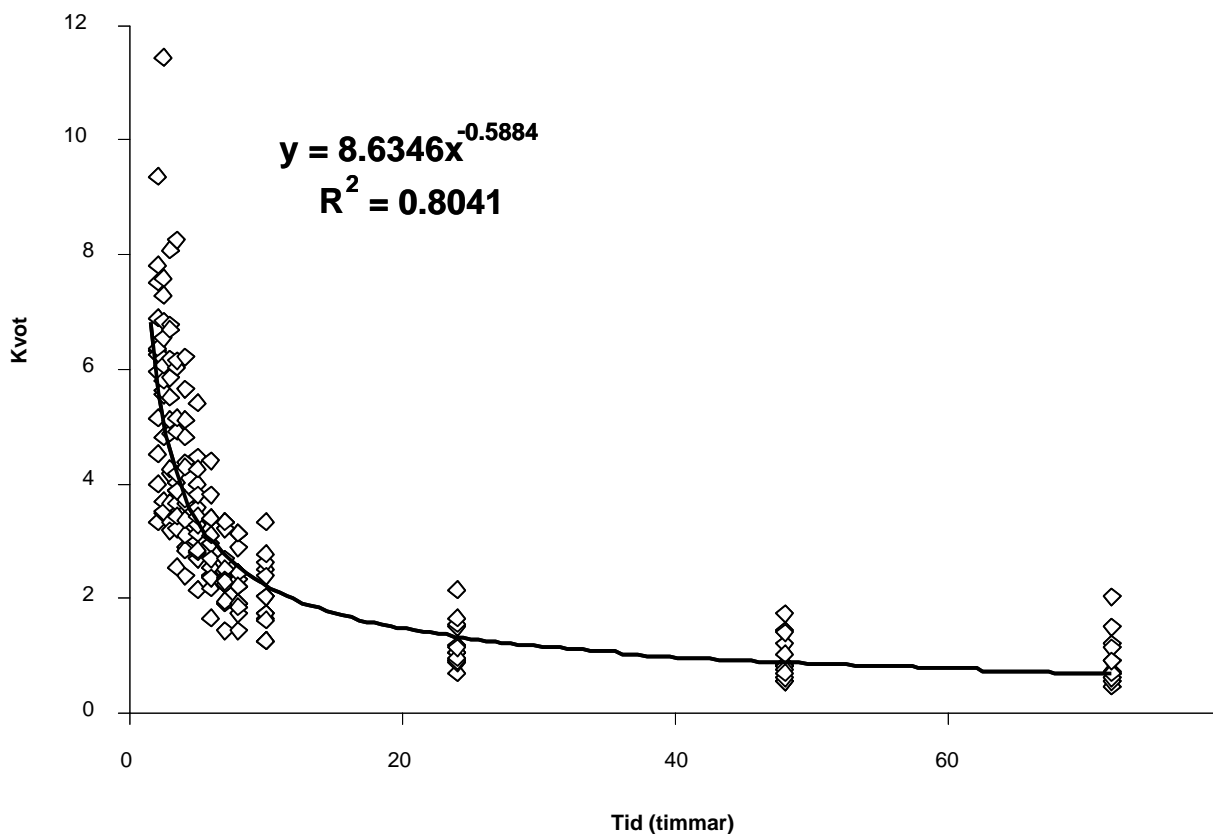


Figur 5



Modeller för att uppskatta tidpunkten för intaget med hjälp av blod- eller salivkoncentrationer ingick inte i de primära frågeställningarna, men ett exempel visas nedan där kvoten mellan klonazepam och 7-aminoklonazepam i blod för varje försöksperson plottats mot den sanna tiden efter intag (Figur 6). Data är från intag av 2 mg klonazepam. Man får ett icke-linjärt samband som har god korrelation ( $r^2=0,80$ ) men som man intuitivt kan se minskar användbarheten efter ett dygn då sambandet planar ut. D v s, en liten förändring i kvot mellan substanserna kan ge en stor förändring i uppskattad tid.

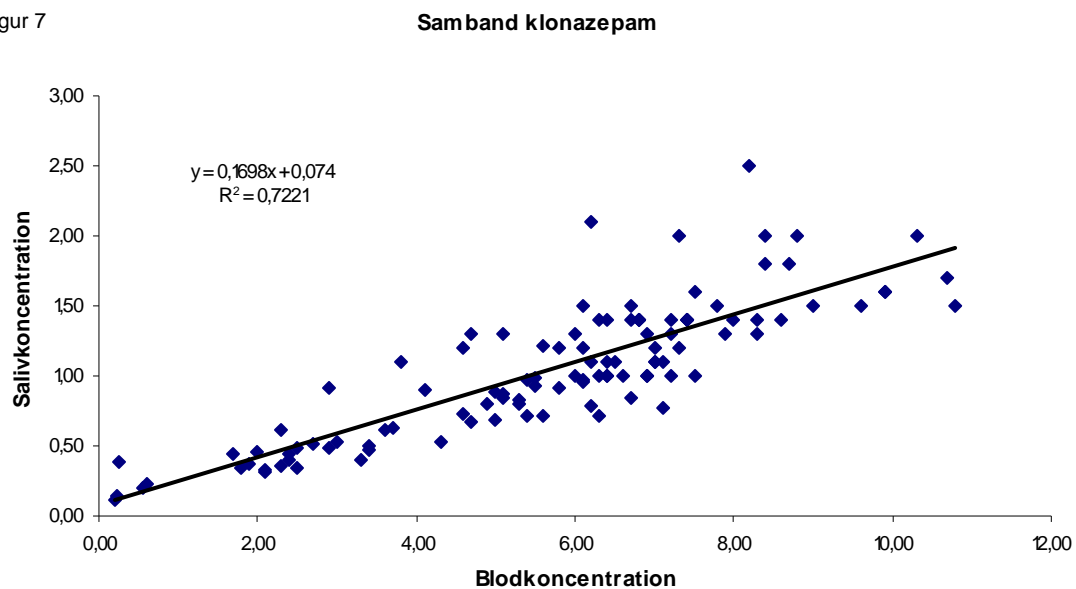
Figur 6



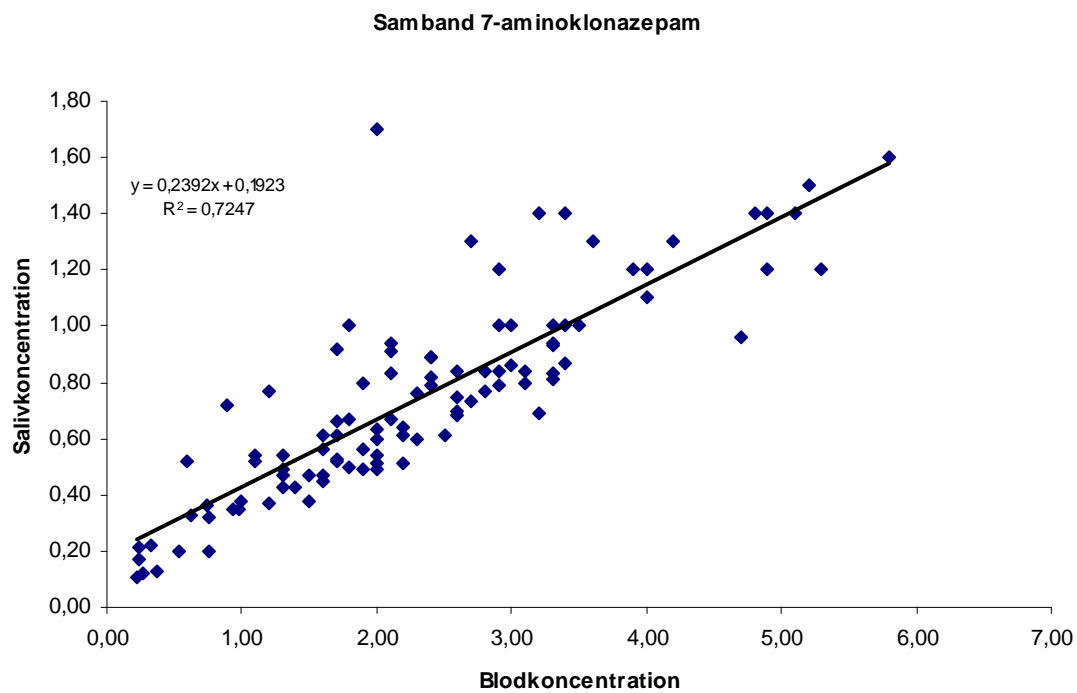
### Går det att beskriva ett samband mellan koncentrationer i saliv och blod?

Koncentrationerna i saliv är betydligt lägre än i blod, med ca 6 ggr högre klonazepam-koncentrationer i blod och ca 4 ggr högre koncentrationer 7-aminoklonazepam. Det finns dock ett tydligt samband mellan blod och saliv som inte verkar vara dosberoende varför salivprov skulle kunna användas som komplement eller ersättning till blodprov (Figur 7 & 8).

Figur 7

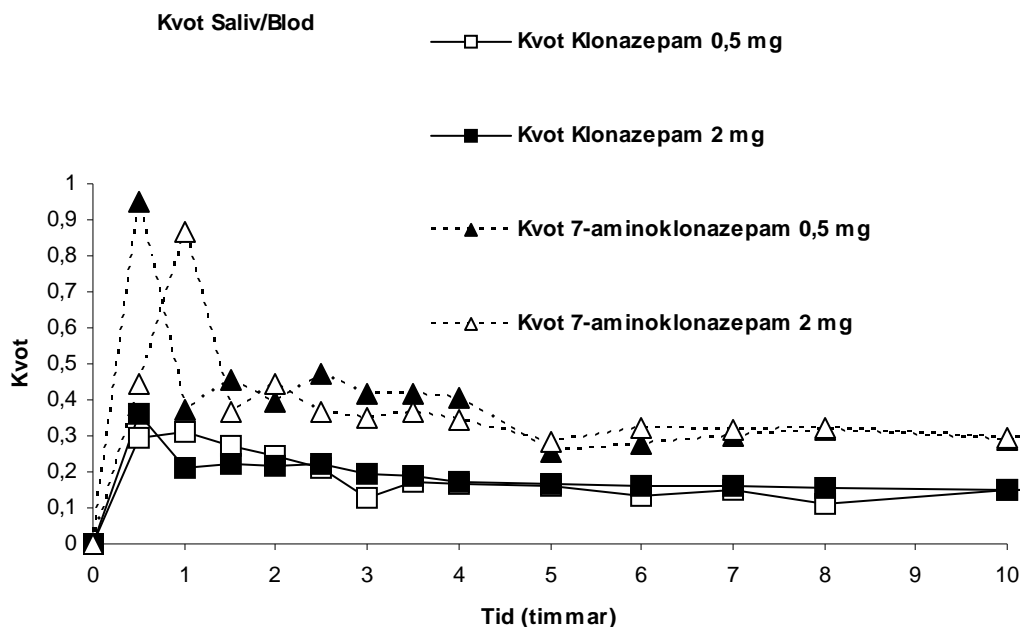


Figur 8



Det finns dock stora individuella skillnader och dessutom förändras förhållandet över tid såsom figur 9 visar. Under de närmaste timmarna efter intag är kvoten betydligt högre, men efter 6 timmar sker ingen ytterligare förändring utan kvoten är stabil.

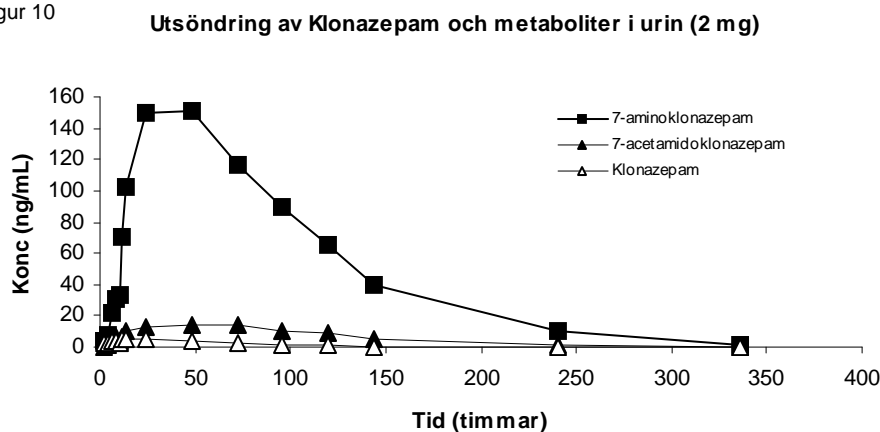
Figur 9



### Kan man använda kvoter mellan moderssubstans/metabolit eller flera metaboliter (i urin) för att uppskatta tidpunkten för intag?

Vi bedömer möjligheten att använda sig av kvoter mellan 7-aminoklonazepam och klonazepam eller 7-acetamidoklonazepam i urin för att uppskatta tidpunkten för intag som liten. Orsaken till detta var bland annat att urinkoncentrationerna av 7-acetamidoklonazepam och särskilt klonazepam var mycket låga och inte skulle kunna mätas med en rutinmetod vilket kan ses i figur 10. Annars visade en kvot mellan 7-aminoklonazepam/klonazepam på en successiv ökning över tiden medan det inte fanns någon trend för kvoten mellan de två metaboliterna.

Figur 10



## Är klonazepam stabilt i blod, urin och saliv under transport till laboratoriet (korttidsstabilitet) eller vid långtidsförvaring (för eventuell omanalys i efterhand)?

Stabiliteten av klonazepam och 7-aminoklonazepam undersöktes i autentiska prover från forskningspersonerna (tabell 2). Korttidsstabilitet studerades efter provförvaring i ett dygn i rumstemperatur (20°C). Efter ankomst till laboratoriet förvaras prover i kylskåp (5°C) i väntan på analys och detta scenario undersöktes under en period av tre veckor. I vissa fall sker en omanalys och då är det värdefullt att ha kunskap om drogens stabilitet över en längre tid. För detta ändamål studerades även stabiliteten efter en respektive fem månaders förvaring i frys (-20°C).

Substanserna ansågs stabila om skillnaden mellan det initiala resultatet och det senare uppmätta inte skilde mer än 15%. Resultaten visar att substanserna är stabila under transport över natten även om de befinner sig i rumstemperatur och att de är stabila åtminstone 1 vecka vid kylförvaring. Klonazepam uppvisade god stabilitet och inga resultat avvek mer än 15% från utgångsvärdet.

Den tydligaste förändringen i stabilitet observerades i urin avseende 7-aminoklonazepam. Efter 3 veckors förvaring i kyla var hade urinkoncentrationen av 7-aminoklonazepam sjunkit med 22% jämfört med utgångsvärdet.

Tabell 2. Stabilitet av klonazepam och 7-aminoklonazepam i autentiska prover vid olika betingelser.

			20°C	5°C	5°C	5°C	-20°C	-20°C
		0 dag	1 dag	7 dagar	14 dagar	21 dagar	1 mån	5 mån
<b>Blod</b>	Klonazepam	100	94	91	92	91	96	86
	7-aminoklonazepam	100	113	110	117	119	96	95
<b>Saliv</b>	Klonazepam	100	95	91	104	97	99	87
	7-aminoklonazepam	100	96	95	96	99	83	84
<b>Urin</b>	Klonazepam	100	105	99	86	88	103	94
	7-aminoklonazepam	100	98	91	87	78	81	85



## SAMMANFATTNING OCH REKOMMENDATIONER TILL KV

---

### **Hur länge kan man spåra klonazepam i urin, blod och saliv efter engångsdos?**

Urin har den längsta detektionstiden där vi i studien kunde mäta låga koncentrationer (tröskelvärde 0,25 ng/ml) upp till 14 dygn efter intag. Med en rutinmetod uppskattar vi detektionstiden till 4 till 7 dygn (tröskelvärde 10 ng/ml). I blod och saliv var detektionstiden 4 dygn med tröskelvärden på 0,2 ng/g respektive 0,1 ng/ml. Med rutinmetoder för blod eller saliv uppskattar vi detektionstiden till mindre än 1 dygn.

I urinen utsöndrades relativt höga koncentrationer 7-aminoklonazepam vilka är mätbara med vanliga kromatografiska rutinmetoder (tröskelvärden runt 10 ng/ml). Trots detta utföll nästan samtliga immunokemiska analyser negativt.

#### **Rekommendationer**

Urinprov är att föredra före blod- eller salivprov.

Om man misstänker enstaka intag av klonazepam eller av andra lågdosbensodiazepiner bör man dock överväga att genomföra en riktad analys med LC-MS-MS och inte nöja sig med den rutinmässiga screeningen med immunokemisk metodik.

Om en person inte kan lämna urinprov är salivprov och blodprov likvärdiga för att detektera förekomsten, men detektionstiden är betydligt kortare än för urin.

### **Går det att beskriva ett samband mellan koncentrationer i saliv och blod?**

Data från de parade blod- och salivproven gav ny värdefull information om metabolism och elimination av klonazepam. Metaboliten 7-aminoklonazepam förekommer i högre koncentrationer i saliv än moderssubstanten. Tydliga samband på gruppnivå fanns för både klonazepam och metaboliten, men stor spridning mellan individer och över tiden gör att en uppskattning av blodkoncentrationen utifrån ett värde i saliv blir osäker.

#### **Rekommendationer**

För att få längsta möjliga detektionstid vid analys av saliv rekommenderar vi att metoden inkluderar 7-aminoklonazepam.

Om man vill utreda påverkan rekommenderar vi att man tar blodprov. Även om salivprovet har samma möjligheter till detektion är inte sambandet så tydligt att en viss koncentration i saliv motsvarar en viss i blod.

### **Kan man använda kvoter mellan moderssubstans/metabolit eller flera metaboliter (i urin) för att uppskatta tidpunkten för intag?**

Även om det fanns en trend med en ökande kvot över tiden för 7-aminoklonazepam/klonazepam så bedömer vi att de låga koncentrationerna av klonazepam i urin gör strategin oanvändbar i rutin.

### **Är klonazepam stabilt i blod, urin och saliv under transport till laboratoriet eller vid långtidsförvaring?**

Stabilitetstesterna visade att vissa förändringar sker vid förvaring och att man måste vara medveten om detta vid tolkning av analysresultat.

#### **Rekommendationer**

Både urin-, blod och salivprov kan skickas till laboratorium per post över natten i rumstemperatur utan risk för nedbrytning av substanserna.

Särskilt urinprover bör analyseras inom en vecka om det förvarats i kyl.

Långtidsförvaring bör ske genom frysning vid  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  eller lägre.

## REFERENSER

---

1. Drummer OH. Introduction and review of collection techniques and applications of drug testing of oral fluid. *Ther Drug Monit.* 2008;30(2):203-206.
2. Pil K, Verstraete A. Current developments in drug testing in oral fluid. *Ther Drug Monit.* 2008;30(2):196-202.
3. Crouch DJ, Walsh JM, Cangianelli L, Quintela O. Laboratory evaluation and field application of roadside oral fluid collectors and drug testing devices. *Ther Drug Monit.* 2008;30(2):188-195.
4. Lillsunde P. Analytical techniques for drug detection in oral fluid. *Ther Drug Monit.* 2008;30(2):181-187.
5. Josefsson M, Brinkhagen L, Kronstrand R. Development of a LC-MS-MS multi-target method for 29 drugs and metabolites in oral fluid. Abstract TIAFT meeting, Geneve, Switzerland, 2009.
6. Kronstrand R, Nyström I, Andersson M, Gunnarsson L, Hägg S, Josefsson M, Ahlner J. Urinary detection times and metabolite/parent compound ratios after a single dose of buprenorphine. *J Anal Toxicol.* 2008;32 (8):586-593.
7. Forsman M, Nyström I, Roman M, Berglund L, Ahlner J, Kronstrand R. Urinary detection times and excretion patterns of flunitrazepam and its metabolites after a single oral dose. *J Anal Toxicol.* 2009;33(8):491-501.
8. Cheze M, Villain M, Pepin G. Determination of bromazepam, clonazepam and metabolites after a single intake in urine and hair by LC-MS/MS. Application to forensic cases of drug facilitated crimes. *Forensic Sci Int.* 2004;145(2-3):123-130.
9. Negrusz A, Bowen AM, Moore CM, Dowd SM, Strong MJ, Janicak PG. Elimination of 7-aminoclonazepam in urine after a single dose of clonazepam. *Anal Bioanal Chem.* 2003;376(8):1198-1204.
10. Laloup M, Fernandez Mdel M, Wood M, Maes V, De Boeck G, Vanbeckevoort Y, Samyn N. Detection of diazepam in urine, hair and preserved oral fluid samples with LC-MS-MS after single and repeated administration of Myolastan and Valium. *Anal Bioanal Chem.* 2007;388(7):1545-1556.
11. Samyn N, De Boeck G, Cirimele V, Verstraete A, Kintz P. Detection of flunitrazepam and 7-aminoflunitrazepam in oral fluid after controlled administration of rohypnol. *J Anal Toxicol.* 2002;26(4):211-215.
12. Concheiro M, de Castro A, Quintela O, Cruz A, López-Rivadulla M. Confirmation by LC-MS of drugs in oral fluid obtained from roadside testing. *Forensic Sci Int.* 2007;170(2-3):156-162.
13. Pehrsson A, Gunnar T, Engblom C, Seppä H, Jama A, Lillsunde P. Roadside oral fluid testing: comparison of the results of drugwipe 5 and drugwipe benzodiazepines on-site tests with laboratory confirmation results of oral fluid and whole blood. *Forensic Sci Int.* 2008;175(2-3):140-148.
14. Smink BE, Mathijssen MP, Lusthof KJ, de Gier JJ, Egberts AC, Uges DR. Comparison of urine and oral fluid as matrices for screening of thirty-three benzodiazepines and benzodiazepine-like substances using immunoassay and LC-MS(-MS). *J Anal Toxicol.* 2006;30(7):478-485.
15. Samyn N, Verstraete A, van Haeren C, Kintz P. Analysis of drugs of abuse in saliva. *Forensic Science Review*, 1999;11:1.
16. Kintz P, Villain M, Concheiro M, Cirimele V. Screening and confirmatory method for benzodiazepines and hypnotics in oral fluid by LC-MS/MS. *Forensic Sci Int.* 2005;150:213-222.

17. Greenblatt DJ, Blaskovich PD, Nuwayser ES, Harmatz JS, Chen G, Zinny MA. Clonazepam pharmacokinetics: comparison of subcutaneous microsphere injection with multiple-dose oral administration. *J Clin Pharmacol*. 2005;45(11):1288-1293.
18. Crevoisier C, Delisle MC, Joseph I, Foletti G. Comparative single-dose pharmacokinetics of clonazepam following intravenous, intramuscular and oral administration to healthy volunteers. *Eur Neurol*. 2003;49(3):173-177.
19. DeVane CL, Ware MR, Lydiard RB. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and treatment issues of benzodiazepines: alprazolam, adinazolam, and clonazepam. *Psychopharmacol Bull*. 1991;27(4):463-473.
20. Kronstrand R, Brinkhagen L, Lundström C, Forsman M, Nyström I, Kugelberg FC. Determination of clonazepam and 7-aminoclonazepam in whole blood and oral fluid using LC-MS-MS. Abstract SOFT meeting, Richmond, VA, USA, 2010.
21. Kronstrand R, Brinkhagen L, Lundström C, Forsman M, Nyström I, Kugelberg FC. Pharmacokinetics of single dose clonazepam in whole blood and oral fluid. Abstract SOFT-TIAFT meeting, San Francisco, CA, USA, 2011.



Kriminalvården

---

[www.kriminalvarden.se](http://www.kriminalvarden.se)  
601 80 Norrköping  
Telefon 077-228 08 00  
Fax 011-496 36 40