



# Hoe voorkom ik dat ik buikpijn krijg van een hoofdpijn probleem

Hai Holthuysen,  
 Josje Hermkens-Laemers  
 Laboratorium Apotheek Viecuri  
 Medisch Centrum voor Noord-Limburg  
 Tegelseweg 210, 5912 BL Venlo  
 hholthuysen@viecuri.nl

## Inleiding

Om een snelle service te bieden aan de behandelend arts en de patiënt worden paracetamol spiegels bij een intoxicatie vaak gemeten met een van de bekende immunoassays. In ons laboratorium gebeurt dit met behulp van de FLX waarbij gebruik wordt gemaakt van Fluorescentie Polarisation ImmunoAssays. De methode is snel en betrouwbaar, wat met name van pas komt in de nachtelijke uren, want ook de dienstdoende analist ligt het liefst weer zo snel mogelijk in zijn warme nest. Toch werden wij enige tijd geleden met onze neus op de feiten gedrukt. Wat was het geval. Tijdens de dienst werd een van de analisten opgeroepen voor een paracetamol intoxicatie. Niets aan de hand dus. Maar wat bleek, bij het inzetten van de bepaling gaf de lamp de geest en of de duivel er mee speelde was er ook geen reservelamp meer voorhanden. Gewoon vergeten te bestellen dus. Dan maar over schakelen op de oude HPLC bepaling. Helaas deze werd in een ver verleden uitgevoerd

op een  $\mu$ -bondapak kolom en deze was net met het laatste rondje van de oud-ijzer boer meegegaan. Om op zeker te gaan werd dit maal bij de patiënt uit voorzorg een acetylcysteïne infuus aangelegd om eventuele leverbeschadiging te voorkomen. De volgende dag werd besloten om zo snel mogelijk een HPLC analyse te ontwikkelen.

## Materialen en methode

### HPLC

Het HPLC systeem bestaat uit een Alliance 2695 Separation Module met een 996 Photo Diode Array detector. De analytische kolom is een Atlantis™ dC18 (150 x 3,9 mm i.d.), 5  $\mu$ m (Waters, Etten-Leur, part no. WAT 188001319) in combinatie met een voor kolom Atlantis™ dC18 Sentry Guard (20 x 4,6 mm i.d.), 5  $\mu$ m (Waters, Etten-Leur, part. No. WAT186001323). De loopvloeistof bestaat uit een mengsel van water, acetonitril en 1% azijnzuur in een verhouding 84/8/8. De flow door de kolom bedraagt 1,5 mL/min. De detectie vindt plaats bij 240 nm.

### Grondstoffen en reagentia

Lichrosolv® Acetonitril  
 (VWR International)  
 Azijnzuur p.a. (VWR International)  
 Methanol p.a. (VWR International)

Perchloorzuur 70% p.a.  
 (Merck Nederland)  
 Aqua destillata (Baxter)  
 Paracetamol (Bufa B.V.)  
 $\beta$ -hydroxyethyltheophylline  
 (1,0 mg/mL in methanol)

### Standaarden

Los 50,0 mg paracetamol op in 50,0 mL methanol. Dit is oplossing A.

Standaard 1 (50 mg/L):

50  $\mu$ L oplossing A ad 1,0 mL blanco plasma.

Standaard 2 (100 mg/L):

100  $\mu$ L oplossing A ad 1,0 mL blanco plasma.

Standaard 3 (200 mg/L):

200  $\mu$ L oplossing A ad 1,0 mL blanco plasma

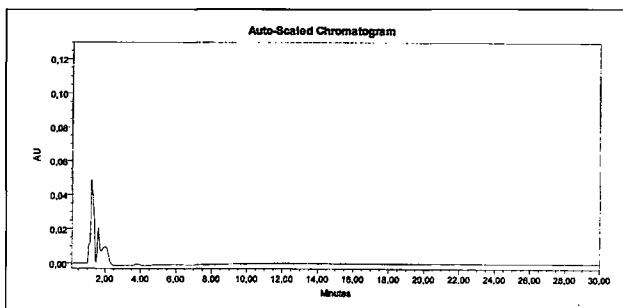
### Interne standaard

$\beta$ -hydroxyethyltheophylline  
 (1,0 mg/mL in methanol)

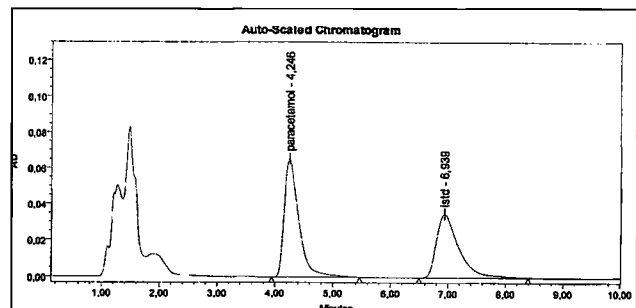
### Extractie

Breng achtereenvolgens in een eppendorfcupje.

1. 100  $\mu$ L standaard/controle of monster.
2. 40  $\mu$ L interne standaard.
3. 300  $\mu$ L methanol.
4. 1 gtt. perchloorzuur 70%.
5. Vortex 1 minuut.
6. Centrifugeer 5 minuten in de microcentrifuge.



Figuur 1. Blanco plasma.



Figuur 2. Met paracetamol gespiked plasma.

7. Breng de bovenstaande laag over in een geschikte vial.
8. Injecteer 25  $\mu$ L op het HPLC systeem.

### Chromatogrammen

In de figuren 1 en 2 op de vorige pagina zijn chromatogrammen van respectievelijk blanco plasma en een plasma gespiked met paracetamol gegeven.

### Validatie

De methode werd aan een verkorte validatie onderworpen. Er werd

gekeken naar de specificiteit van de bepaling door zes onafhankelijke blanco plasma monster afzonderlijk op te werken en te chromatograferen. De gebruikte plasma's vertoonden geen storing in de bepaling. Ter controle van de lineairiteit werd een kalibratiecurve gemaakt bestaande uit 8 punten (range 5-400 mg/L) in triplo opgewerkt. De  $R^2$  van deze lijn bedroeg 0,9997.

### Conclusie

Het gebruik van immunoassays in de routine biedt grote voordelen. De

bepalingen zijn snel en betrouwbaar. Het lijkt echter zinvol voor intoxicaties waarbij ernstige onherstelbare schade kan optreden voor de patiënt een valide procedure voor handen te hebben waarop in geval van nood terug gevallen kan worden. Dit is ook de moraal van dit verhaal.

### Literatuur

1. Chromatographic Columns and Supplies catalog: Waters Etten-Leur
2. Informatorium Medicamentorum 2003