



Van MICRO naar PICO ...

Door Johan Bommelé

Na veertig jaar laboratoriumwerk ben ik in oktober 2010 met prepensioen gegaan. De laatste 5 jaren heb ik gewerkt op het laboratorium van de Apotheek Haagse Ziekenhuizen. In de laatste maanden kwam tijdens koffiepauzes het terugkijken op die 40 jaar en de veranderingen van het laboratoriumwerk nogal eens ter sprake. Veelal was het omkijken in verwondering over de veranderingen. Van mijn AHZ-collega's kwam dan ook het verzoek om voor dit speciale nummer herinneringen op papier te zetten.

Spoeljongen

Op school hadden de exacte vakken altijd mijn voorkeur gehad en mijn vader had altijd enthousiaste verhalen verteld over de tijd dat hij op één van de laboratoria van de Gistfabriek in Delft werkte. Op 14-jarige leeftijd werd ik in de zomervakantie spoeljongen op een laboratorium van de Gist en maakte ik dus mee wat het werk van een analist inhield. Als de spoel- en schoonmaak-werkzaamheden klaar waren keek ik wat de analisten zoal deden. Op mijn verzoek leerden zij mij pipetteren, hoe een buret werkte en hoe maatkolfjes aan te vullen. Allemaal, heel veilig, met bidest. Ik heb dat een paar jaar gedaan en wist toen zeker dat ik analist wilde worden.

De opleiding

Vooruitlopend op de officiële invoering van de nieuwe onderwijswet, de zo genoemde Mammoetwet in 1968, werd in september 1967 in Delft in een deel van het laboratoriumgebouw van de voormalige Rubberstichting gestart met het dagonderwijs voor Hoger en Middelbaar Beroeps laboratoriumonderwijs. Tot die tijd was het in Delft alleen mogelijk om via avondonderwijs analist te worden. De naam van de school heette: "Stichting Delftse Analisten Cursus", afgekort als de DAC.

Met 35 leerlingen, studenten zou je nu zeggen, werd gestart. Dat eerste jaar allemaal in het zogenaamde voorbereidende jaar. Na dat jaar kon een keuze gemaakt worden voor de tweejarige studie MBO medisch analist of voor de twee- of driejarige studie HBO analytisch chemisch analist. Die twee- of driejarige studie heette toen respectievelijk HBO-A en HBO-B. Het laatste jaar van alle studies was een volledig stagejaar met vier dagen per week stage en één dag en één avond naar school.

Alles was nieuw dat eerste jaar: dat gold ook voor de leraren, sommigen hadden les gegeven aan het al jaren bestaande avondonderwijs voor analisten, maar de meesten moesten wennen aan dit nieuwe onderwijssysteem waarvan de eisen in het eerste jaar nog niet echt bekend waren. Het voorbereidende jaar was heel chaotisch, maar wel ge-



Gebouw van de Rubberstichting



zellig. Er werd dus niet veel geleerd. Het gevolg was dat alle verloren tijd later goedge maakt moest worden om aan de inmiddels opgestelde eisen te kunnen voldoen. Zodoende moest in het stagejaar tot de kerstvakantie geen één, maar drie avonden naar school gegaan worden en daarna twee avonden om alle theorie voor de examens behandeld te krijgen. Niet echt leuk dus. Een uitputtend jaar. Niet meer voor te stellen tegenwoordig. Bovendien telt nog het feit dat je als dienstplichtige elk jaar uitstel moest aanvragen en dat kreeg je alleen als je dat jaar geslaagd was voor je overgangsexamens. Blijven zitten of van studie veranderen hield direct in dat je in militaire dienst moest.

De eerste praktijklessen waarin alle beginselen zoals: pipetteren, titreren, mengen, oplossen en maatkolfjes aanvullen, waren voor mij gesneden koek. Afwegen van zouten en chemicaliën gebeurde op een balans met 4 decimalen. 0,1 mg stof kon dus worden afgewogen hetgeen ik toentertijd bizar vond. Je leerde om niet bij het afwegen te "kruidenieren", maar in drie pogingen de af te wegen stof nauwkeurig, tot binnen de halve milligram, af te wegen. Het nauwkeurig en snel kunnen afwegen telde mee voor je praktijkcijfer.

Bijzonder vond ik ook de warenkennislessen. Een bak vol met vaste- en vloeistoffen in afgesloten flesjes. Je moest door kijken naar de kleur, de structuur en de reuk kunnen zeggen welke stof er in zo'n flesje zat. Bij de vloeistoffen leerde je altijd de stop van het flesje snel langs je neus te halen en beslist nooit aan het flesje te ruiken! Elke les werden een paar flesjes behandeld en tot slot moest je in een praktijkexamen kunnen zeggen welke stof er in een flesje zat, waarom en wat de kenmerken waren.

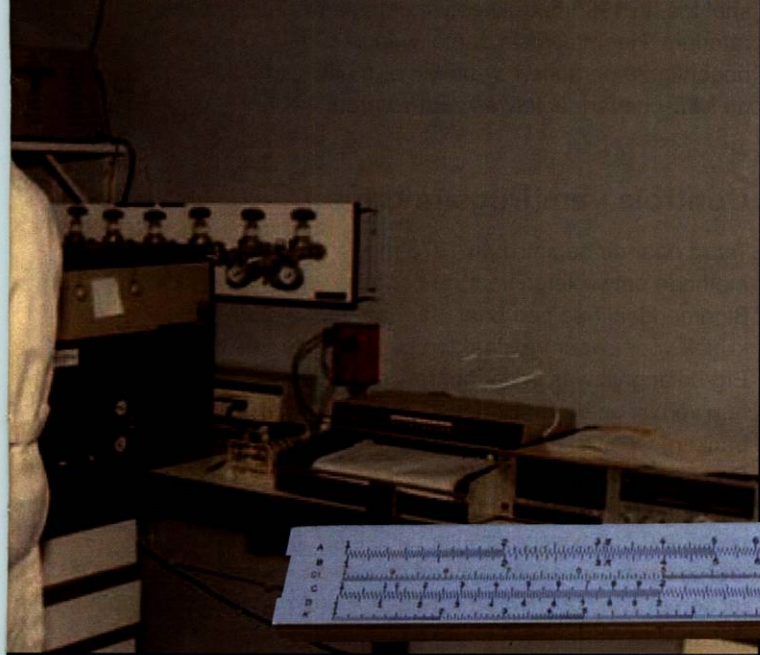


Laboratorium K.v.W. Den Haag

Er waren die eerste jaren nog niet echt boeken voor dit nieuwe onderwijstype. Leraren schreven toegepaste handleidingen uit eigen kennis en aangevuld met stukken uit specifieke Nederlandse- en (vertaalde) Engelse handboeken. De handleidingen werden gestencild, samengebonden en van een kaft voorzien. Ook moesten er enige boeken worden gekocht waarvan sommige Engelstalig waren. Voor het rekenwerk moest een rekenliniaal worden aangeschaft. Dat was een Sun Hemmi uit Japan die bij de school voor 20 gulden gekocht moest worden.

Onze schuifjapanner voor al het rekenwerk. Zakjapanners waren toen net op de markt maar onbetaalbaar. In 1967 kostte een exemplaar zo'n 500 gulden. In het stagejaar 1970-1971 had inmiddels iedereen een rekenmachientje voor minder dan 100 gulden en dat mocht je bij de examens gebruiken. De wiskundeleraar leerde ons hoe de rekenliniaal werkte. Ook daarin werd een proefwerk tot slot afgenomen. Mijn rekenliniaal heb ik nog steeds. Laatst zag ik een aanbieding op Markplaats van € 15,-. Gaandeweg de studie nam het instrumentarium toe. Het

Chromatografiekamer 1980



De Sun Hemmi rekenliniaal

was veelal afgedankte apparatuur van de industrie, maar je leerde de in de theorielessen opgedane kennis in de praktijk toe te passen. Concentraties die meetbaar waren gingen tot 100 microgrammen en dat was al veel meer dan de milligrammen die met de handbepalingen werden bepaald. Microgrammen werden uitgedrukt als 10^{-6} en als de toen veel gebruikte uitdrukking 1 ppm. Hoeveelheden stof die je met het blote oog niet meer kon zien. Alleen nog onder een microscoop. Vreemd vond ik dat. "Wen er maar aan", zei mijn praktijkleraar, over enige jaren zullen we in staat zijn nanogrammen te detecteren. Massaspectrografie was de toekomst en die techniek zou dat zeker mogelijk maken. Van alle detectie-technieken leerde je de werkingsprincipes maar het bleef bij sommige technieken bij de theorie. "In je stagejaar kom je wel in aanraking met die dure technieken", werd gezegd. En dat klopte.

Mijn eerste baan

Op 1 juli 1971 ontving ik mijn diploma HBO-B analytische chemie en moest 14 dagen later direct in militaire dienst. Aan het eind van mijn diensttijd had ik twee sollicitaties lopen, één bij de Keuringsdienst van Waren in Den Haag en één bij TNO in Delft. Bij TNO kon ik worden opgeleid tot massaspectrograaf analist. Tijdens mijn sollicitatiebezoek kreeg ik het enorme apparaat te zien dat in een apart laboratorium stond opgesteld. Ook kreeg ik te horen dat dit in de toekomst het toonaangevende detectieapparaat zou worden.

Bij de K.v.W. ging het veelal om handmatige bepalingen, zoals die omschreven waren in de Warenwet om voeding en speelgoed te analyseren. Begin jaren zeventig kwam er veel nieuwe apparatuur binnen om met de nieuwe detectie-technieken veel stoffen te analyseren. Vóórscreenen eigenlijk. Viel een analyseresultaat buiten de grenzen, zoals ze gesteld waren in de Warenwet, dan moest volgens de klassieke handmethode de stof in duplo geanalyseerd worden. Ik koos voor de K.v.W. omdat ik mij op jonge leeftijd nog niet wilde specialiseren op één detectietechniek en omdat het werk op de K.v.W. het analistenwerk was zoals ik opgeleid was.

De K.v.W. in Den Haag was toen gevestigd in een historisch gebouw aan de Prinsengracht. Ingericht met nog oude eikenhouten laboratoriumtafels, die elke week op vrijdagmiddag in de was moesten worden gezet. Er moest in het gebouw steeds verbouwd worden als er weer een nieuw apparaat aangeschaft werd. Op de K.v.W. leerde ik met alle apparatuur omgaan, zoals spectrofotometers en gaschromatografen. Toen een atomaire absorptiemeter werd aangeschaft mocht ik die voor de analyses van onder andere lood en cadmium in kleurstoffen bedrijfsklaar maken, om daarna deze analyses daarop te doen en andere analisten te leren deze techniek zich eigen te maken. Ik heb veel geleerd in de twee en half jaar dat ik daar gewerkt heb.

De Farmacie in

Na een succesvolle sollicitatie voor een baan op het laboratorium van psychiatrisch ziekenhuis Bloemendaal in Den Haag, heb ik daar van april 1975 tot en met 1 januari 2005 gewerkt. De baan waarop ik solliciteerde vroeg om een HBO-B biochemisch analist met ervaring op diverse detectietechnieken. Dat laatste had ik allemaal, maar ik was een analytisch chemisch analist. Toch kreeg ik de baan vanwege mijn ervaring met de apparatuur die daar inmiddels een half jaar stond en nog niet gebruikt was. "De biochemische kant van alles leer ik je wel", zei de biochemicus die in de zomer van 1974 was aangetrokken om van het kleine medische laboratorium een volwaardig klinisch chemisch uitgerust laboratorium te maken en een biochemisch laboratorium te starten voor de analyses van drugs in urine, metalen en geneesmiddelen in bloed. Bloemendaal had kort daarvoor een nieuwe directie gekregen en die had besloten dat de nieuwe psychiatrie niet zonder een goed geoutilleerd laboratorium kon. Een uitdaging dus om mee te helpen een goed laboratorium op te bouwen.

Nadat ik eerst alle apparaten, zoals gaschromatograaf, infraroodmeter, atomaire absorptiemeter en vlamfotometer bedrijfsklaar had gemaakt, kon ik beginnen met de analyses daarop te ontwikkelen.

Al gauw kon ik het werk niet meer alleen aan en werd een jaar later een tweede analist aangenomen. Samen ontwikkelden wij vele bepalingen die in de routine door een paar medische analisten werden overgenomen. Zoals enige enzymbepalingen, de elektrolyten bepalingen op de vlamfotometer en de metaalbepalingen op de atomaire absorptiemeter. De groei van apparaten en analisten, zowel aan de medische kant als aan de farmaceutische kant nam snel toe. In 1980 betrokken we een nieuw gebouw laboratorium. Het maximale aantal werknemers was begin jaren negentig 20 personen, waarvan er 5 uitsluitend in de klinische farmacie werkzaam waren.

Controle van drugs in urine

Terug naar de begintijd. In 1975 moest ik een betrouwbare methode ontwikkelen voor de bepaling van drugs in urine. Bloemendaal had een paar jaar daarvoor een drugsvrije kliniek voor zwaar verslaafden geopend: de Emiliehoeve. Erg belangrijk was in de therapie dat de patiënten tijdens hun verblijf op de Emiliehoeve geen drugs mochten gebruiken. Op straffe van uitzetting als dit wel gebeurde. De biochemicus had in het najaar van 1974 in New York de immunologische techniek om drugs, zoals opiaten en cocaïne (benzoylecgonine) in urine leren bepalen en hij leerde het mij weer. We gingen uit van antistoffen verkregen uit serum van konijnen en schapen. Eerst nog van materiaal dat uit New York was meegekomen, maar nadat dat op was

kregen we materiaal van konijnen die in Nederland speciaal daarvoor werden gefokt en behandeld. Een heel gedoe om regelmatig en goed materiaal te krijgen. Maar enfin, in 1975 waren wij de eersten in Nederland die voldoende betrouwbaar, met weliswaar een hoge afkapwaarde van positief/negatief, konden zeggen of de urine wel of niet schoon was van drugs.

Toen de industrie in de gaten kreeg dat er een goede markt was voor drugscontroles, kwam die eind jaren zeventig op de markt met kant en klare reagentia en nog weer later met toegepaste apparatuur voor die reagentia om de drugs in urine geautomatiseerd te bepalen. Vanaf het begin tot het eind van mijn loopbaan heb ik mij gespecialiseerd in dit onderwerp. Ik heb de diverse EMIT- en Agglutinatietechnieken in de loop der jaren langs zien komen en gebruikt. Alle screeningsmethoden die commercieel in de handel waren hadden altijd een percentage vals positief. Toen ze op de markt kwamen, waren vals positieve percentages in het concentratiegebied van positief/negatief van 5-15% niet vreemd.

Het was dus noodzakelijk een goede bevestigingsanalyse achter de hand te hebben om met zekerheid te zeggen dat een urine niet alleen positief was maar ook hoe hoog de concentratie van de gemeten drug was. De vele afdelingen die met verslaafden van doen hadden, gingen volledig uit van het resultaat van het laboratoriumonderzoek. Het was dus een bijzondere verantwoording om de analyse betrouwbaar uit te oefenen, omdat je wist dat de consequenties voor een patiënt groot waren.

Artsen en verplegend personeel zijn in al die jaren door ons voorgelicht. Bijvoorbeeld over hoe het beste een urine controle kon worden afgenomen, waarop bij de controle gelet moest worden en wanneer het beste urine kon worden verzameld. Ook over de interpretatie van de uitslagen was (is) telefonisch regelmatig overleg. Alle voorlichting over de controle van drugs in urine stond in een door ons gemaakte brochure die de afdelingen kregen.

Bevestigingsmethode

Voor het bevestigen van een drug in urine gebruikten we eerst een dunne laag chromatografie methode, maar die werd spoedig vervangen voor een veel betere gaschromatografische methode. Concentraties van 200-300 ng/ml van opiaten, amfetaminen, benzoylecgonine en methadon konden goed gemeten worden. Voor cannabis hebben we nooit een analysemethode ontwikkeld. De cannabismetabolieten blijven lang in het lichaam aanwezig en de screeningsmethoden waren gevoelig en redelijk betrouwbaar. Vonden we een positieve uitslag dan werd er dezelfde dag nog een urine bij de desbetreffende patiënt afgenomen en geanalyseerd.

Om opiaten goed te kunnen bepalen was minimaal 10 ml urine nodig. Na een nacht deglucuronisatie bij 37°C. was er

nog een bewerkelijke extractie nodig om dan in een woud van pieken in het chromatogram de morfinepiek te kunnen meten. De HPLC met een diode array detector bracht later een nog betere methode waarmee nog lagere concentraties konden worden gemeten. Bovendien was daar veel minder urine voor nodig, 1-2 ml urine was voldoende.

Toen ik stopte, waren op het laboratorium van de apotheek door middel van HPLC-MS-MS methoden voor diverse drugs in urine ontwikkeld, waarmee uit 100-200 microliter urine concentraties in de vorm van picogrammen betrouwbaar geanalyseerd kunnen worden.

Datzelfde geldt ook voor de analyses van geneesmiddelen in serum/plasma.

In 1980 begonnen we op Bloemendaal met de analyse van de geneesmiddelen. We ontwikkelden vele analyses door middel van HPLC eerst met UV, later met diode array en GLC met een stikstofgevoelige detector. In eerste instantie konden met GLC lagere concentraties gemeten worden dan met HPLC. Je moet denken aan bijvoorbeeld 2-5 ng/ml met GLC (uitgaande van 2-3 ml plasma) en met HPLC 10 ng/ml. Met name voor neuroleptica als haloperidol, perfenazine en flufenazine was dit belangrijk, omdat op Bloemendaal laag gedoseerd werd en concentraties van 2-5 ng/ml normaal waren. De verdere ontwikkeling van de HPLC-techniek met de gevoelige diode array detector zorgde ervoor dat deze techniek de GLC-techniek overklaste. Vanaf de jaren negentig analyseerden wij vele duizenden monsters per jaar.

In de eerste jaren werden de concentraties berekend door middel van het meten van de piekhoogte en piekbreedte, zodat de piekoppervlakte: basis x halve piekhoogte berekend kon worden. Ook kon je de pieken secuur uitknippen om door middel van het gewicht van de uitgeknipte piek de concentratie te berekenen. Dat had je op school geleerd, maar in de praktijk met veel analyses was dit niet te doen. Het kettingspapier van de printer liep daarbij vaak met een snelheid van 2 cm /minuut of meer om een aardige piek te krijgen.

Integratoren kwamen begin jaren 80 op de markt. De ChromJet van Spectra Physics was een betrouwbare integrator en ook nog eens eenvoudig in gebruik. Aan elke chromatograaf was zo'n integrator aangesloten.



HET Instrument

Op de jaarlijkse vakbeurs "HET Instrument" in de Rai in Amsterdam, later verhuisd naar Utrecht, maar sinds 2010 weer terug in Amsterdam, keek je je ogen uit. Die eerste jaren stonden veel fabrikanten met allemaal heel handige apparaten om je handwerk te verlichten. Schud- en mengmachines, zoals een Vortex en later zelfs een multi-Vortex, diverse typen drukpipetten, tritreermachines, etc. Als je echt iets handigs had gezien, dan had je de bevoegdheid gekregen om zo'n nieuw hulpmiddel aan te schaffen.

In de loop der jaren veranderde de opzet van de beurs. Steeds meer geautomatiseerde apparatuur, vooral in de medische sector, deed zijn intrede op de beurs. Fabrikanten gaven toen trots op hoeveel I.C.'s (geïntegreerde circuits) er op een moederboord van hun instrument zat. Wel vier bij firma X om even later bij zijn concurrent te horen dat zij er wel acht hadden!

Bij de integrators werd vooral gewezen op het algoritme dat in hun integrator gebruikt werd om een piek betrouwbaar te kunnen meten. Dat werd met de steeds smallere pieken van steeds groter belang.

Ook genoot je van instrumenten die niet direct in jouw vakgebied lagen, maar wel interessant en leuk waren. Zo keek ik bijvoorbeeld naar de beelden die je zag door prachtige microscopen en later zelfs door een elektronen microscoop. Later deden P.C.'s steeds meer hun intrede die steeds meer instrumenten konden aansturen. Kleine monitoren met beeldbuizen van 12 inch veranderden in platte beeldbuizen van 21 inch (en groter). Op beeldschermen van meer dan

een meter wordt een product getoond. Nee, voor een handig hulpmiddel kan je tegenwoordig niet meer terecht op de beurs. Het enige dat al die jaren is gebleven, zijn de appels. Sommige fabrikanten staan niet eens meer op de beurs. Ze nodigen je nu liever uit om hun nieuwste apparaat te demonstreren. En handige hulpmiddelen moet je maar uit gidsen halen of toevallig van een collega horen die daar op een ander laboratorium mee gewerkt heeft.

Slotwoord

Het met de hand afgesloten buizen schudden om een extractie te bewerkstellen is allang verleden tijd. Een extractie gaat met een schudapparaat. Bij de massaspectrometrie is soms van een extractie niet eens meer sprake. Dat we tegenwoordig detectietechnieken hebben die in picogram nauwkeurig een stof kunnen bepalen, is vooral te danken geweest aan de vlucht die de elektronica gemaakt heeft. De nanotechnologie voor het maken van elektronische componenten die in een computer gebruikt worden, heeft waanzinnige rekensnelheden mogelijk gemaakt waar wij nu van profiteren. In 1971 toen ik van school kwam had niemand kunnen voorspellen dat dit mogelijk zou worden. Een paar specifieke handmatige technieken die in al die jaren gelukkig zijn gebleven en die elke analist regelmatig doet, zijn: het afwegen op een balans (0,01 mg nauwkeurig tegenwoordig) en het handmatig pipetteren met een glazen gekalibreerde pipet. En dat zal altijd wel zo blijven. Denk ik.



We want you to stop using our gel clot LAL. And everyone else's.

We are so certain of the benefits that the PTS™ and MCS™ will bring to your lab that we invite you to test drive one for free.

www.stopwastingtimeandmoney.net

for more information:
yvonne.bos@crl.com
debby.tewierik@crl.com

charles river | endotoxin and microbial detection