



stippend het nieuwe millennium in?

C. Barella, R. Philipse, C. Pijnenburg

Het lijkt alweer een eeuw geleden sinds het begin van STIP, maar bij nadere beschouwing blijkt het toch nog maar 10 jaar te zijn. Op 28 Juni 1989 ging de eerste STIP-kolom, getest en wel, hier de deur uit. Op dit moment hebben we zo'n 300 STIP-kolommen getest. Hoe het allemaal zover kon komen, willen we hier uit de doeken doen. Het eigenlijke begin van STIP vindt plaats omstreeks 1985. Zoals zoveel onder u, hadden ook wij wel eens twijfels over de zuiverheid van een piek in een chromatogram. Omdat een meerkanaals-detector en zeker een diode-array toen voor ons nog niet voorhanden was, hadden we de volgende oplossing:

- spuit standaard en monster in en detecteer bij golflengte x. Bepaal concentratie in monster t.o.v. standaard m.b.v. de interne-standaard methode.
- spuit standaard en monster in en detecteer bij golflengte y. Bepaal concentratie in monster t.o.v. standaard m.b.v. de interne-standaard methode.

Indien de concentraties van het monster bij x en y hetzelfde waren, mochten we voorzichtig aannemen dat de piek "zuiver" was.

In diezelfde periode hadden we ook wel eens een intoxicatie te verwerken. En dat was dus echt werken! Allerhande voortestjes werden uitgevoerd, alle apparatuur ging aan, een heleboel stress en vele uren werk voordat je ook maar enigszins kon zeggen wat en hoeveel hiervan, erin zat.

De ergernis en frustratie die deze toxenen opleverden, brachten ons al snel op het idee om stoffen te identificeren aan de hand van een ratio, dus piekhoogte bij golflengte y gedeeld door piekhoogte bij golflengte x. Maar na de nodige experimenten bleek alras dat 2 golflengten (en dus 1 ratio) te weinig was om een stof te identificeren. En dus kwam er een derde golflengte(z) bij

(en uiteraard ook een derde injectie, waar we niet echt blij mee waren). Hierdoor hadden we 2 ratio's, namelijk y/x en z/x . Met deze methode kwamen we een heel stuk in de goede richting om stoffen te identificeren, al kwamen we er niet altijd uit. Er werd een extractieprocedure vastgelegd, een zuur en een basisch extract en de eerste standaardisatie binnen ons laboratorium was een feit.

Al snel bleek dat de mobiele fase bij de verschillende kolommen niet gelijk gehouden kon worden, zonder dat er verschuivingen in retentietijd zouden optreden en was de STIP-factor geboren, een factor die de bereiding van de mobiele fase aanpaste aan de te gebruiken kolom. Nadat deze identificatiemethode redelijk bleek te werken, werd het bestand opgebouwd. Een lange lijst stoffen op papier en dan maar zoeken in de lijst of we de goede ratio's konden vinden.

Nu kwam toevallig in die periode onze eerste PC binnen met een bestelprogramma voor de groothandel. Omdat deze PC op het laboratorium werd geplaatst, hadden we al snel in de gaten dat een gebruik van 15 minuten per dag voor bestellingen een niet erg efficiënt gebruik van een PC was. Deze PC werd dus al snel als eigendom van het laboratorium beschouwd en het knutselen aan programma's kon beginnen. Het eerste STIP-programma was een BASIC-programma, alwaar je door invoeren van de 2 gemeten ratio's en de retentietijd een lijstje (of lijst) kreeg met mogelijke kandidaten. Er was ook een lijstje aanwezig met symptomen en door welke stoffen deze symptomen veroorzaakt konden worden.

Omdat analisten liever lui dan moe zijn, vonden we 3 injecties en elke keer handmatig instellen van de golflengten iets teveel van het goede. Een oplossing hiervoor was de L3000-DAD, welke 2 kanalen tegelijk op een integrator kon plotten. En dus waren er nu nog maar 2 injecties nodig.

Nu waren we zover dat we de iden-

titeit redelijk konden vaststellen, maar een gehaltebepaling moest achteraf alsnog gedaan worden t.o.v. een standaard. Tot we op het idee kwamen om de piekhoogte, samen met de recovery van de mogelijke component, te gebruiken voor de concentratieberekening. Hiervoor maakten we van alle componenten een standaard, extraheerden deze standaard, en injecteerden standaard en geëxtraheerde standaard om zo de recovery en piekhoogten te bepalen. Uiteraard werd de concentratieschatting ook in de software opgenomen, zodat het mogelijk was om, na identificatie van de component, aan de hand van de piekhoogte en recovery de concentratie te bepalen.

We waren van mening dat we een goed systeem aan het ontwikkelen waren (alhoewel sommigen daar in het begin anders over dachten) en aangezien er op toxicologisch gebied in Nederland nog zeer weinig gestandaardiseerde procedures waren, waren we overtuigd van het feit dat deze methode voor elk klinisch-farmaceutisch laboratorium een uitkomst zou kunnen zijn en geen speciale eisen stelde aan de aanwezige HPLC-apparatuur. Het toeval wilde dat in die tijd de NVK-FAZ in oprichting was en nog meer toeval wilde dat een van ons in de redactie van "Extract" terecht kwam en een ander in de verenigingsraad. En dus werd STIP binnen de vereniging door ons volop gepropageerd, hetgeen, na lange tijd, resulteerde in de eerste gebruikers van STIP. En als er een schaaap over de dam is...

Dat STIP naast toxicologie ook gebruikt kon worden voor TDM, methodeontwikkeling en kwaliteitscontrole, sprak velen aan en was een extra reden om met STIP te gaan werken.

Uiteraard is elk systeem voor verbetering vatbaar en zo ook ons STIP-ratio-systeem.

We gingen over van ratio's naar spectra en wel 65 datapunten per spectrum. Dit hield wel in dat het



hele bestand opnieuw opgebouwd moest worden, maar een mens moet bezig blijven.

Nadat we overgingen van ratio's naar spectra, kwam de firma Merck, in samenwerking met de Universiteit Groningen, met een eerste release van de MDD-software. Deze software kon zoeken, maar dan hield het ook op. In overleg met de programmeur van de MDD-software hebben we het MDD aangepast aan het STIP-systeem en STIP-MDD was geboren.

Nadat STIP-MDD was geboren, probeerden anderen, nadat we verkondigden dat we het spectrumbestand ook voor andere merken DAD's toepasbaar konden maken, ons kindje in een vroeg stadium te aborteren. Het argument was dat het wetenschappelijk gezien niet mogelijk was om het spectrumbestand van de ene DAD naar de andere over te zetten, laat staan naar een ander merk DAD! Maar de praktijk bewees anders en STIP-MDD werd, uiteraard na de nodige overtuigingspogingen onzerzijds, een succes en werd op vele plaatsen in Nederland geïntroduceerd.

Intussen schreef onze apotheker regelmatig over STIP in "Ziekenhuis-farmacie", hetgeen uiteraard ook het nodige effect had op de bekendheid van STIP. De tijd voor een toxicologische screening werd, in ons geval, gereduceerd van 4-5 uur naar maximaal 2 uur.

In 1993 kwam de L4500 DAD op de markt, een enorme verbetering t.o.v. de L-3000 DAD.

Deze detector leverde per spectrum 334 datapunten, tegenover de 65 datapunten van de L-3000 DAD.

Deze enorme vooruitgang konden we niet negeren en wederom werd het hele bestand opnieuw opgebouwd. In de tussentijd kwamen er steeds meer aanvragen voor STIP-MDD en liep de distributie van de updates voor alle gebruikers enigszins uit de hand. Een oplossing hiervoor werd gevonden in het CZA-Bulletin Board System, een computersysteem waarop de STIP-MDD-gebruiker kon inloggen en de nieuwste updates kon downloaden.

In de tussentijd werd (en wordt) het bestand door ons nog steeds uitgebreid en nam het aantal gebruikers steeds verder toe. Ook de werkdruk

nam toe, zowel voor onze analisten die zoveel mogelijk de roep om nieuwe stoffen in het bestand wilden honoreren, als ook voor de apotheker die verantwoordelijk was voor het laboratorium. Hij zorgde er op adequate wijze voor dat we nieuwe geneesmiddelen razendsnel in huis hadden. Hoewel hij voor een aantal drugs meer dan een jaar bezig is geweest voordat ze uit Israël geïmporteerd mochten worden.

In 1994 hadden we in 's-Hertogenbosch Dhr. Dijkhuis op bezoek en kregen we met hem een flinke discussie over het nut van de KKGToxicologie-testen met een inzendtermijn van ca. 6 weken. Volgens ons zou de echte kwaliteitstest voor de toxicologie een Cito-tox zijn, die zo snel mogelijk resultaat op moest leveren. En prompt werd Nederland op zijn wenken bediend door de KKGTox en verscheen in mei 1994 een echte Cito-tox. Alhoewel we het idee zelf naar voren hadden gebracht, hebben we toen eerst wel nog enkele collegae gebeld, want we dachten dat we in het ootje werden genomen door een collega-laboratorium.

Dat sommige mensen door de kracht van het systeem verrast werden, bleek wel tijdens de KKGTox test B-1997. De KKGTox dacht iedereen op het verkeerde been te zetten door bij de anamnese een aniongap te beschrijven. Niemand zou hierbij aan valproïnezuur denken. Jammer voor de KKGTox, maar "echte stippers" doen het uiteraard zonder anamnese, en bepalen gewoon alles in 1 keer!

Nu moet ons toch van het hart dat we bij deze tox niet helemaal eerlijk zijn geweest. In het STIP-bestand dat toentertijd in Nederland circuleerde, was geen valproïnezuur opgenomen. In ons eigen bestand (dat altijd enkele stoffen meer bevat als de laatste update) zat wel valproïnezuur.

Toen we er achter kwamen dat er valproïnezuur in de KKGTox zat, hebben we van ons eigen bestand razendsnel een update gemaakt, het op het bulletin-board gezet, en half Nederland persoonlijk afgebeeld met de mededeling dat er een belangrijke update beschikbaar was.

Het een en ander resulteerde in druk modemverkeer en een groot aantal

deelnemers dat valproïnezuur positief identificeerde!

Niet alleen het aantal gebruikers nam toe (op dit moment ongeveer 50 ziekenhuisapotheken), maar het aantal telefoontjes over STIP nam ook enorm toe. Vele vragen van gebruikers waren hetzelfde en om deze vragenstroom enigszins te reduceren werd op Internet een homepage opgezet, welke nagenoeg alle informatie omtrent het STIP-systeem bevatte. Door het fenomeen Internet kwam STIP ook in de internationale belangstelling te staan, blijktens het feit dat het StipView-programma onder andere circuleert in Algerije, Argentinië, België, Canada, China, Italië, Luxemburg en Tsjechië. Door deze bekendheid kwamen nu de vragen over STIP per E-mail binnen.

Ook ons Drugs of Abuse systeem, een drug-screeningmethode op HPLC-DAD, met een MDD-bestand mag zich verheugen op een groeiende belangstelling. Ook dit bestand is voor de diverse merken DAD's beschikbaar en wordt reeds enkele jaren door een selecte groep ziekenhuisapotheken gebruikt.

Al met al kunnen we terugzien op een succesvolle STIP-periode. Maar kunnen we ook uitzien naar een verdere succesvolle STIP-periode of zullen andere technieken STIP inhalen? Vooralsnog zien we weinig in GC/MS of LC/MS als vervanging van STIP. Het grootste struikelblok bij deze technieken is de complexiteit en de veel hogere kosten, die aan zulke systemen zijn verbonden. Ook capillaire elektroforese zal de eerste tijd zeker geen alternatief zijn, en zal qua gevoeligheid voorlopig nog ontoereikend zijn.

Wat de toekomstplannen zijn?

We gaan, wat STIP betreft, zeker naar een kolom met een kleinere deeltjesdiameter en we werken aan een extractiemethode die zeer veelbelovend is.

Wat software betreft werken we aan een windows-versie van MDD en het conversieprogramma.

Wanneer dit alles klaar is? De tijd zal het leren, en tijd hebben we altijd te weinig.