



## KKGT TESTTOX C2000: een echte eye-opener

Apotheek Haagse Ziekenhuizen

Met de resultaten van KKG T testtox C2000 is iets vreemds aan de hand. Hiermee bedoel ik niet dat er diverse laboratoria stoffen vinden die er niet in zitten (o.a. bisacodyl, perindopriilaat, lithium, acetylsalicylzuur, etc.), maar het feit dat geen enkel lab beide aanwezige stoffen (triamtereen en metformine) heeft weten te vinden.

[N.B. Het eveneens aanwezige coffeine is afkomstig van de urine van koffiever slaafde analisten van de AHZ waarvan de KKG T gebruik heeft gemaakt bij de bereiding van deze testtox.]

Bij deze testtox was sprake van een mogelijk geval van het Münchhausen by proxy syndroom. De vraag was om urine van een 4-jarig kind te screenen op laxantia, diuretica en anti-diabetica.

Op ons laboratorium wordt voor elke van de bovengenoemde screenings gebruik gemaakt van de STIP-chromatografie, maar elke screening heeft een eigen extractie-methode.

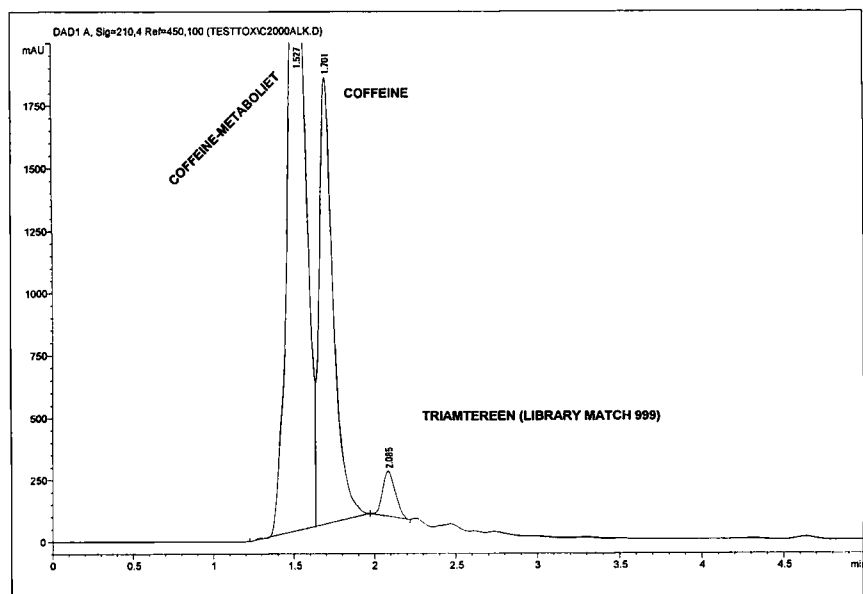
Een screening op anti-diabetica doen wij altijd in serum en wij maken daarbij gebruik van onze ITOX-extractie methode (boraat-buffer pH 9,3 en DCM). Door recent onderzoek weten we dat we op deze

wijze in serum alle orale anti-diabetica kunnen aantonen c.q. uitsluiten, m.u.v. metformine. Metformine is een amfotere stof en is daardoor bij elke pH geladen, waardoor extractie uit serum of urine naar een organische laag niet mogelijk is. Serum onteiwitten en vervolgens op STIP prikken heeft ook geen zin omdat metformine bijna geen retentie heeft en dus volledig in het front valt.

Naar aanleiding van deze testtox is er literatuuronderzoek gedaan naar de uitscheiding van de anti-diabetica. Hieruit bleek dat alle anti-diabetica, m.u.v. metformine, volledig gemeta-

boliseerd worden, voordat ze worden uitgescheiden via de urine. Dit betekent dat het eigenlijk geen zin heeft om in urine naar deze middelen te kijken, want het enige middel wat er in zou kunnen zitten (metformine) is niet te extraheren. Omdat je maar nooit weet hebben we toch 1,0 ml urine opgewerkt volgens onze ITOX-extractie methode en dit geïnjecteerd op STIP. In dit extract was het enige wat we konden aantonen het diureticum triamtereen.

Vervolgens hebben we de urine gescreend op diuretica en laxantia.



Chromatogram 1: Alkalisch extract, geïnjecteerd op STIP.

Onze diuretica-extractie is een basische extractie met ethylacetaat en NaCl. Dit laatste zorgt voor het zgn. uitzouteffect, waardoor ook zure diuretica geëxtraheerd worden. Het extract wordt geprikt op STIP. Hoewel de STIP-chromatografie niet ideaal is voor de bepaling van diuretica (te weinig retentie voor een aantal diuretica) kunnen wij op deze wijze toch het merendeel van de in Nederland verkrijgbare diuretica aantonen/uitsluiten. Behalve het al eerder aangetoonde triamtereen konden we in deze test-tox geen andere diuretica aantonen.

De laxantia-screening voeren wij uit volgens het voorschrift van de collegae uit Maastricht, zoals gepubliceerd in Pharmacy World & Science, 1999 nr 1. De voorbewerking bestaat uit deglucuronidering met glucuronidase, gevolgd door een vaste stof extractie. Het extract wordt weer geïnjecteerd op het STIP-systeem. In deze urine konden wij geen laxantia aantonen. Wel werd er weer triamtereen aangetoond.

Onze conclusie was:

- Intoxicatie met triamtereen
- Overige diuretica niet aantoonbaar
- Laxantia niet aantoonbaar
- Anti-diabetica zijn niet uit te sluiten. Hier is serum voor nodig.

Over metformine valt helemaal niets te zeggen.

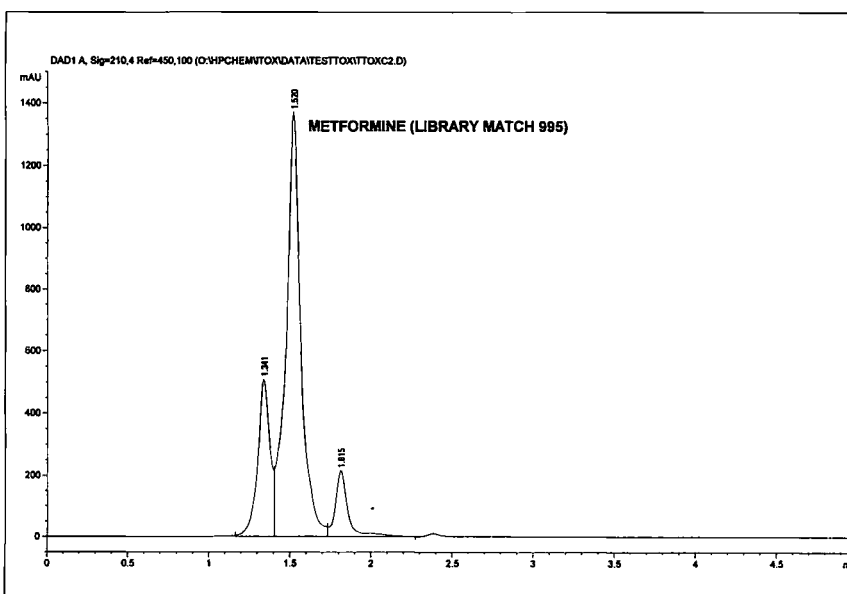
Met een gerust hart leverden wij deze uitslag in bij de KKG. Toen enige weken later de uitslag van de KKG binnenkwam, waren wij dan ook stomverbaasd dat 12 laboratoria met STIP metformine hadden aangetoond. Metformine was immers absoluut niet te extraheren? Toen ging er bij ons een lichtje branden. Als metformine niet te extraheren is en er zijn toch 12 laboratoria die het vinden, dan kan dit maar 1 ding betekenen: de urine is niet geëxtraheerd, maar rechtstreeks op het STIP-systeem geïnjecteerd! Vervolgens hebben wij 0,5 µl urine direct op ons STIP-systeem geïnjecteerd en toen kwam metformine er inderdaad feilloos uit! Voor de betrokken laboratoria is dit misschien niets nieuws, maar voor ons was dit een absolute eye-opener. Wij hebben urines altijd eerst geëxtraheerd, want urine is vies en bevat veel afvalstoffen. Dat kun je dus niet ongestraft direct op de kolom prikken, dachten wij. Dat blijkt dus reuze mee te vallen. Urine bevat weliswaar veel afvalstoffen, maar geen eiwitten en vetten, wat de grootste boosdoeners zijn m.b.t. het ruïneren van een kolom. Overigens is het natuurlijk wel noodzakelijk om

de urine eerst goed te centrifugeren en waarschijnlijk is het ook beter om de urine een aantal malen te verdunnen met eluens. Daarnaast zouden storende bestanddelen eerst uit de urine verwijderd kunnen worden door een gewone vloeistof-vloeistof extractie uit te voeren en dan de waterlaag rechtstreeks te injecteren. Met name bij stoffen die op STIP in het front vallen kan dit van belang zijn.

Inmiddels hebben wij in de praktijk al een aantal malen gebruik gemaakt van deze wetenschap. Zo kregen wij laatst de vraag of wij baclofen konden aantonen in urine. Baclofen is, net als metformine, een verbinding die niet of nauwelijks te extraheren is. Ook hier konden wij door de urine rechtstreeks op de kolom te injecteren zeer snel baclofen aantonen.

Er blijft echter nog één vraag over. Waarom hebben alle laboratoria die metformine hebben gevonden triamtereen gemist?

Wij hebben met 3 verschillende extractiemethoden steeds triamtereen gevonden, dus zo moeilijk kan dit niet zijn. Het lijkt er dus op dat deze laboratoria geen extractie hebben uitgevoerd, maar alleen urine direct geïnjecteerd hebben. Dit is vreemd omdat wanneer je diuretica en laxantia wilt uitsluiten er een concentratiestap nodig is en bij laxantia ook een deglucuronidering. Misschien dat één van de betrokken laboratoria deze vraag kan beantwoorden. Ook reacties van andere laboratoria zijn uiteraard van harte welkom.



Chromatogram 2: 0,5 µl urine rechtstreeks geïnjecteerd op STIP.