



## Verslag bijeenkomst toxicologie

### bijeenkomst n.a.v. KKG TOX 2000C

Op woensdag 1 november heeft de analyse commissie een gebruikers bijeenkomst toxicologie georganiseerd. De opkomst was weer zeer goed. Aan de hand van een, naar lastig gebleken, testtox (2000 C) werd iedereen in staat gesteld om zijn of haar toxicologische screening toe te lichten. Het was namelijk al gebleken uit de uitgebreide KKG TOX bespreking dat vrijwel niemand tot een volledige oplossing van deze testtox was gekomen. Het betrof

hier een casus van een kind (4 jaar) met het ernstige vermoeden dat een van de ouders zou lijden aan het syndroom van Von Munchhausen by proxy

#### **STIP in de 2000C testtox**

Nog steeds maken de meeste laboratoria gebruik van het bekende STIP systeem.

Ondanks het gebruiken van hetzelfde STIP systeem waren de resultaten zeer uiteenlopend en de vraag

was dan ook wat hiervan de oorzaak is. Het ging hierbij om een zeer hoge concentratie metformine (1498 mg/l) en triamteren (0.505 mg/l), beide stoffen komen voor in de STIP bibliotheek. Uit literatuur onderzoek blijkt dat metformine een pKa van 11,5 heeft (Clarke blz 740). Met de standaard basische STIP extractie (2N Loog) wordt de metformine netjes geëxtraheerd naar de organische fase. Maar aangezien een aantal laboratoria bij een lagere pH extra-

heren is dit dan ook de reden waardoor de metformine niet overkomt naar de organische fase. Er dient dus bij pH = 12 of hoger te worden geëxtraheerd. Een paar andere bijkomende problemen van deze stof zijn de zeer hoge concentratie waardoor het chromatogram "dichtslaat" en de zeer geringe retentie waardoor de stof bijna onvertraagd van meeste systemen komt. De triamteren piek werd bij rechtstreekse injectie van urine vaak door de zeer hoge metformine piek volledig overschaduwd. Wel was opvallend dat die laboratoria die een afwijkende pH voor de basische extractie gebruiken (pH ca.9, metformine niet over in organische fase) toch de triamteren misten.

Uit de toelichtingen van de deelnemers bleek wel dat niemand over een alles analyserend systeem beschikt. Wel waren er de nodige tips en trucs om in de toekomst tot een beter resultaat te komen. Een aantal van deze tips en trucs waren:

- het rechtstreeks (na centrifugeren of ultra-filtratie) injecteren van urine op het toxicologisch systeem. Dit blijkt geen nadelige gevolgen voor de levensduur van de kolom te hebben.
- de valkuil van de hoge concentratie oplossen door altijd een blanco van de matrix te injecteren en door te verdunnen of minder monster op te werken.
- een tweede systeem gebruiken om de op STIP snel eluerende stoffen beter te kunnen screenen. (Systeem Isala klinieken locatie: Weezenlanden te Zwolle)
- het gebruik maken van een fluorescentie detector. (Extra bevestiging, als toegevoegde waarde)
- bij het piek onderzoek in het chromatogram het spectrale window aanpassen naar 220 nm en hoger om de storing van o.a. barbituraten te voorkomen.

Een verzoek bij deze testtox was o.a. het uitvoeren van een laxantia en diuretica screening.

Dit kan op verschillende manieren (DLC, HPLC, GC-MS) – al dan niet

gebruik makend van hydrolyse – worden uitgevoerd.

Wel is het gebleken dat bij het goed uitvoeren van deze onderzoeken gedurende een aantal dagen (minstens drie achtereem) onaangekondigd urine verzameld dient te worden.

Het meenemen van een aantal positieve standaarden/monsters bij deze onderzoeken is aan te raden.

De laatste jaren zijn hierover een aantal artikelen gepubliceerd waaronder:

- Ziekenhuis-Farmacie, 1995 nr 4 blz 193 Bepaling van Laxantia.
- Pharmacie World and Science 1999 nr 1 Detection of laxative abuse by urine analysis with HPLC and diode array detection.
- Journal of Analytical Toxicology, Vol 18. May/June 1994, Artikel: Determination of Basic Drugs Extracted from Biological Matrices by Means of Solid-Phase Extraction and Wide-Bore Capillary Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Detection.
- Nephrol Dial Transport (2001) 16 blz 1303, Artikel: Use of urea containing dialysate to avoid disequilibrium syndrome, enabling intensive dialysis treatment of a diabetic induced lactic acidosis.

#### Alternatieve HPLC-DAD systemen

Bijna iedereen in toxicologieland maakt gebruik van HPLC-DAD, het zij volgens de originele STIP of een soortgelijk/aangepast systeem. DLC, GC(-MS), HPLC-MS, UV-spectrometrie, immunoassays en colorimetrische bepalingen worden in mindere mate ook gebruikt [1,2]. Deze technieken worden meestal ter confirmatie of voor het doelgericht zoeken naar specifieke componenten ingezet. HPLC-DAD blijft in de meeste laboratoria *Het systeem* voor een algemene toxicologische screening [3]. Naast het isocratische STIP-systeem worden er ook gradiëntsystemen gebruikt [4-6]. Het voordeel van deze systemen is het in 1 run kunnen bepalen van zowel minder polaire componenten als wel het specifiekere

kunnen bepalen van stoffen die snel elueren met een polair loopvloeistof en normaliter veel storing van endogene componenten zouden vertonen. Nadeel is dat de analysetijd fors kan toenemen bij gebruik van een conventionele kolom en dat nauw verwante verbindingen minder goed van elkaar gescheiden kunnen worden. Indien vermoed wordt dat met de gradiëntscreening de juiste component is gevonden kan, aan de hand van de retentietijd van de component en het gradiëntprofiel, een isocratisch eluenssamenstelling worden berekend ter nadere identificatie en kwantificering [6].

Een andere manier om in een enkel isocratisch systeem snel eluerende (basische) componenten van endogene stoffen te kunnen scheiden, zonder het inleveren aan kwaliteit van de bepaling van de minder polaire componenten, zou het gebruik van een quaternair ammonium verbinding in het eluens, teneinde een dynamische ionenwisselingsstelsel naast het reversed-phasesysteem te hebben. Alhoewel deze techniek bij toxicologisch screeningen niet veel wordt toegepast, wordt de ion-paar techniek wel vaker gebruikt bij het extraheren van biologische monsters [7]. Een andere voorbereiding die steeds meer gebruikt wordt bij toxicologische screeningen is de vaste fase extractie [5]. Deze voorbereiding heeft als voordeel dat vaak met 1 enkele extractie het merendeel van de componenten wordt geëxtraheerd en er, door het elueren met een klein volume, niet altijd een aansluitende concentreringsstap nodig is. Naast het vergelijken van spectra ter identificatie speelt ook de gevonden retentietijd een rol bij het vaststellen van de identiteit van de component. In de gaschromatografie wordt hier sinds mensenheugenis al gebruik van gemaakt. In de vloeistofchromatografie worden retentie index schalen minder gebruikt omdat de variatie in retentietijden groter is. Toch zijn er methoden ontwikkeld om de retentietijd als een specifieke identificatie te kunnen gebruiken [8].

## Referenties

1. Poletini A. Systematic toxicological analysis of drugs and poisons in biosamples by hyphenated chromatographic and spectroscopic techniques. *J Chromatogr B* 1999;733:47-63.
2. Bogusz MJ. Hyphenated liquid chromatographic techniques in forensic toxicology. *J Chromatogr B* 1999;733:65-91.
3. Lambert WE, Van Bocxlaer JF, Leenheer AP. Potential of high-performance liquid chromatography with photodiode array detection in forensic toxicology. *J Chromatogr B* 1997;689:45-53.
4. Gaillard Y, Pepin G. Use of high-performance liquid chromatography with photodiodearray UV detection for the creation of a 600-compound library: Application to forensic toxicology. *J Chromatogr A* 1997;763:149-163.
5. Lai CK, Lee T, Au KM, Chan YW. Uniform solid-phase extraction procedure for toxicological drug screening in serum and urine by HPLC with photodiode-array detection. *Clin Chem* 1997;43(2): 312-325.
6. Kuks PFM, Weekers LEA, Goldhorn PB. Toxicologische doorlichting van lichaamsvloeistoffen met behulp van gradiënt-HPLC en ultraviolet-fotodiodereeksdetectie. *Ziekenhuisfarmacie* 1992:77-83.
7. Brau M, Vanbinst R, Hassoun A, Wallemacq PE. Simultaneous detection and quantification of acidic and basic drugs in serum toxicological screening: use of ion-pairing technique in liquid-liquid extraction. *Acta Clin Belg Suppl* 1999;1:74-78.
8. Elliott SP, Hale KA. Development of a high-performance liquid chromatography retention index scale for toxicological drug screening.

De analysecommissie