



## Onbekend maakt onbemind!

### Hai Holthuysen

Viecuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg  
Tegelseweg 210  
5912 BL Venlo  
077-3205194  
hholthuysen@viecuri.nl

### Inleiding

Net als in veel andere ziekenhuizen vindt de afname van geneesmiddelenmonsters plaats door de Klinische Chemie. Voor de afname staat een heel scala van afnamebuizen tot hun beschikking. De meest gangbare zijn:

- EDTA-buizen
- Stolbuizen

Het laboratorium in Venlo heeft altijd gebruik gemaakt van EDTA-buizen en deze keuze vormde tot voor kort geen enkel probleem. Tot voor kort dus.

### Probleem

Van de ene op de andere dag echter bleek het gebruik van EDTA-buizen wel een probleem. Wat was het geval. Ongeveer twee jaar geleden zagen wij dat de bepaling van desipramine, fluvoxamine en nortriptyline plotsklaps werd gestoord door een onbekende component die gelijktijdig met bovengenoemde componenten elueerde. Vergelijking van het UV-spectrum van de storende component met een uitgebreide database met geneesmiddelen (Toxicol van Waters) leverde een negatief resultaat op. Het probleem bleek ook niet op zichzelf te staan. In 1999 had zich hetzelfde voorgedaan.

### Het probleem in 1999

In 1999 werd het probleem voorgelegd aan de leverancier van de buizen. Het bleek dat destijds de nadruk had gelegen op de EDTA in de buizen als oorzaak van het probleem. Dit kon echter na onderzoek definitief worden uitgesloten. Na verloop van tijd bleek zelfs de piek helemaal te zijn verdwenen. Probleem dus opgelost.

### Eerste aanpak van het probleem

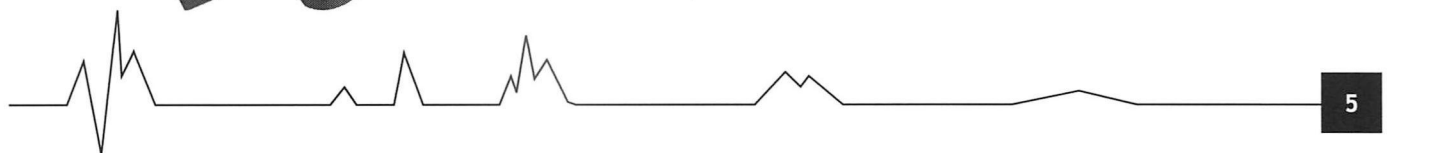
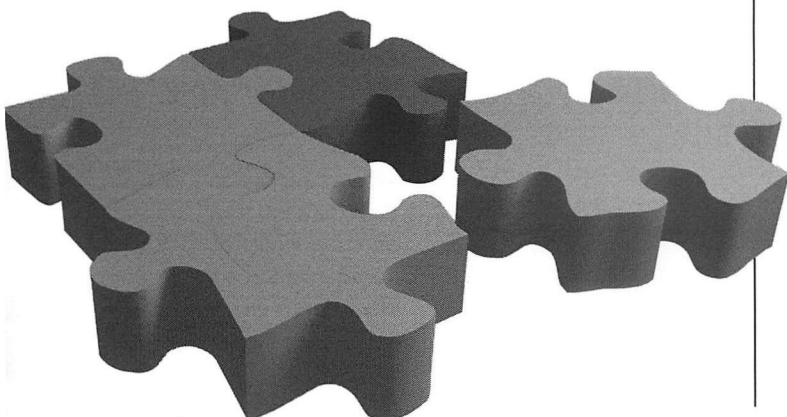
Na grondige bestudering van de analyse vielen ons enkele dingen op. De piek bleek niet voor te komen in de plasma-standaarden en controles. Deze worden bereid uitgaande van Fresh Frozen Plasma (FFP) van de bloedbank. Dat betekent automatisch dat de gewraakte component zich niet bevindt in de gebruikte reagentia, aangezien standaarden, controles en monsters gelijktijdig met dezelfde reagentia worden opgewerkt. Dit geldt ook voor het gebruikte glaswerk en doppen met inlages. De component komt alleen voor in patiëntenmateriaal afgenomen in EDTA buizen. De hoogte van de onbekende component in het chromatogram is wisselend, soms laag, dan weer hoog.

### Tweede aanpak van het probleem

Uit bovenstaande punten trokken wij de conclusie dat de verontreiniging zich met grote waarschijnlijkheid moest bevinden in de EDTA-buizen. Omdat de Klinische Chemie al eerder had aangegeven geneesmiddelen in stolbuizen te willen afnemen, dachten wij twee vliegen in een klap te kunnen slaan: wij zouden van die vervelende stoorpiek worden verlost en de Klinische chemie kon alles afnemen in stolbuizen. Des te groter was onze teleurstelling dan ook toen bleek dat de storing zich ook in stolbuizen bevond. Wat nu?

### Derde poging

Er werd via de Klinische Chemie contact gelegd met de leverancier van de buizen. Ook zij waren zeer verbaasd, maar waren wel genegen hun uiterste best te doen om achter de oorzaak van het probleem te komen. Er volgden uitgebreide gesprekken, het probleem werd opnieuw geanalyseerd en ook de bevindingen uit het verleden werden meegenomen. Hierop volgden enkele weken van radiostilte, maar meestal betekent geen nieuws, goed nieuws. Op 24 mei 2007 nam de leverancier opnieuw contact op. Goed nieuws dus: ze dachten de storende component (component 1) te hebben gevonden. Een test monster was



onderweg samen met 3 alternatieven (componenten 2,3 en 4) voor de storende substantie. Component 1 werd aansluitend onderzocht. Zowel het UV-spectrum als het retentiedrag van component 1 lieten een negatief resultaat zien. Met andere woorden component 1 bleek niet de boosdoener te zijn. Onderzoek van de drie alternatieven was na dit resultaat uiteraard niet meer nodig.

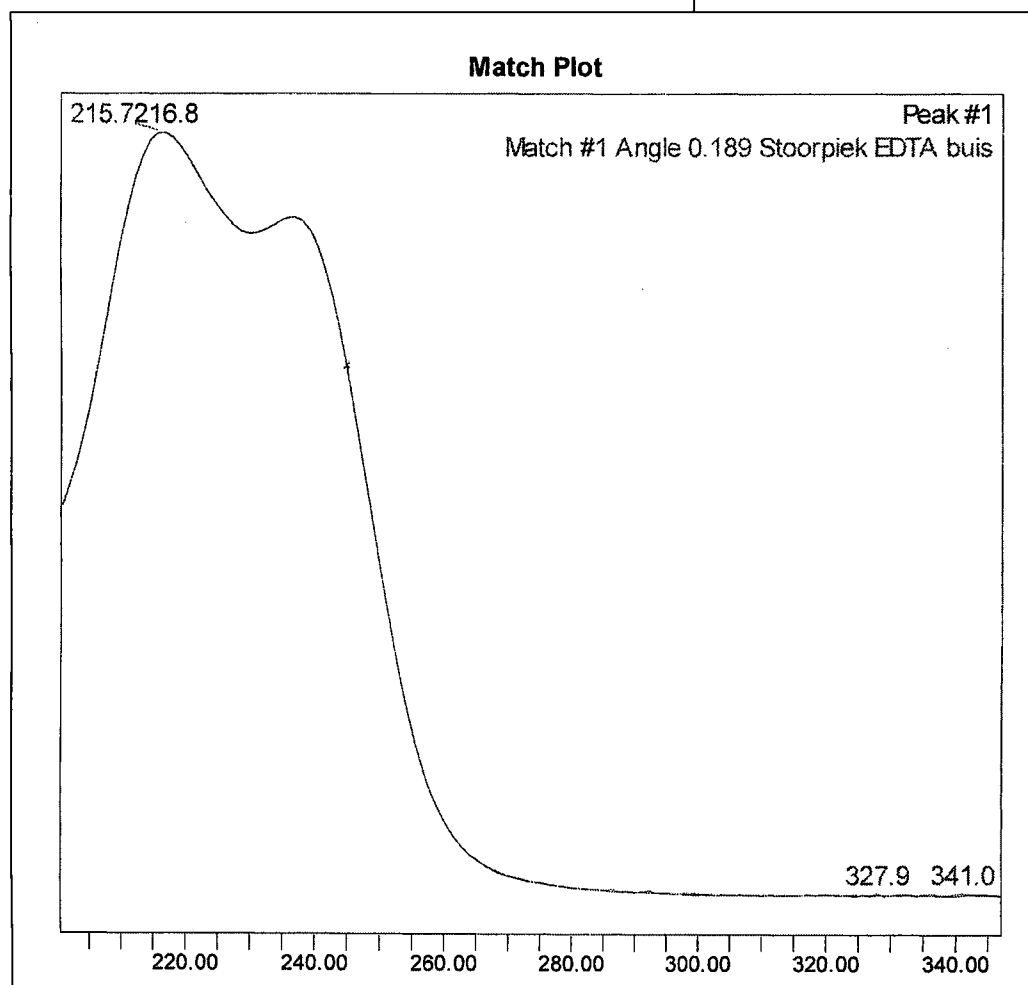
## Vierde poging

Ditmaal werd er door de leverancier een brief gestuurd met daarin een mogelijke oplossing voor ons probleem. Misschien was het zinvol te meten bij hogere golflengten (260- 280 nm). Uiteraard had ik dit al geprobeerd. Meten bij hogere golflengten heeft echter als nadeel dat de respons van fluvoxamine, desipramine en nortrityline zo laag wordt dat meten in het subtherapeutisch gebied onmogelijk wordt. Daarnaast is de storende component bij deze golflengten nog steeds zichtbaar (zie UV spectrum).

## Vijfde poging (Waterloo)

Opnieuw een brief van de leverancier. Ze hadden de component gevonden. Het bleek een bestanddeel van het ruwe basismateriaal te zijn dat werd gebruikt voor de bereiding van de plastics. Helaas konden ze mij de identiteit van de component niet bekend maken.

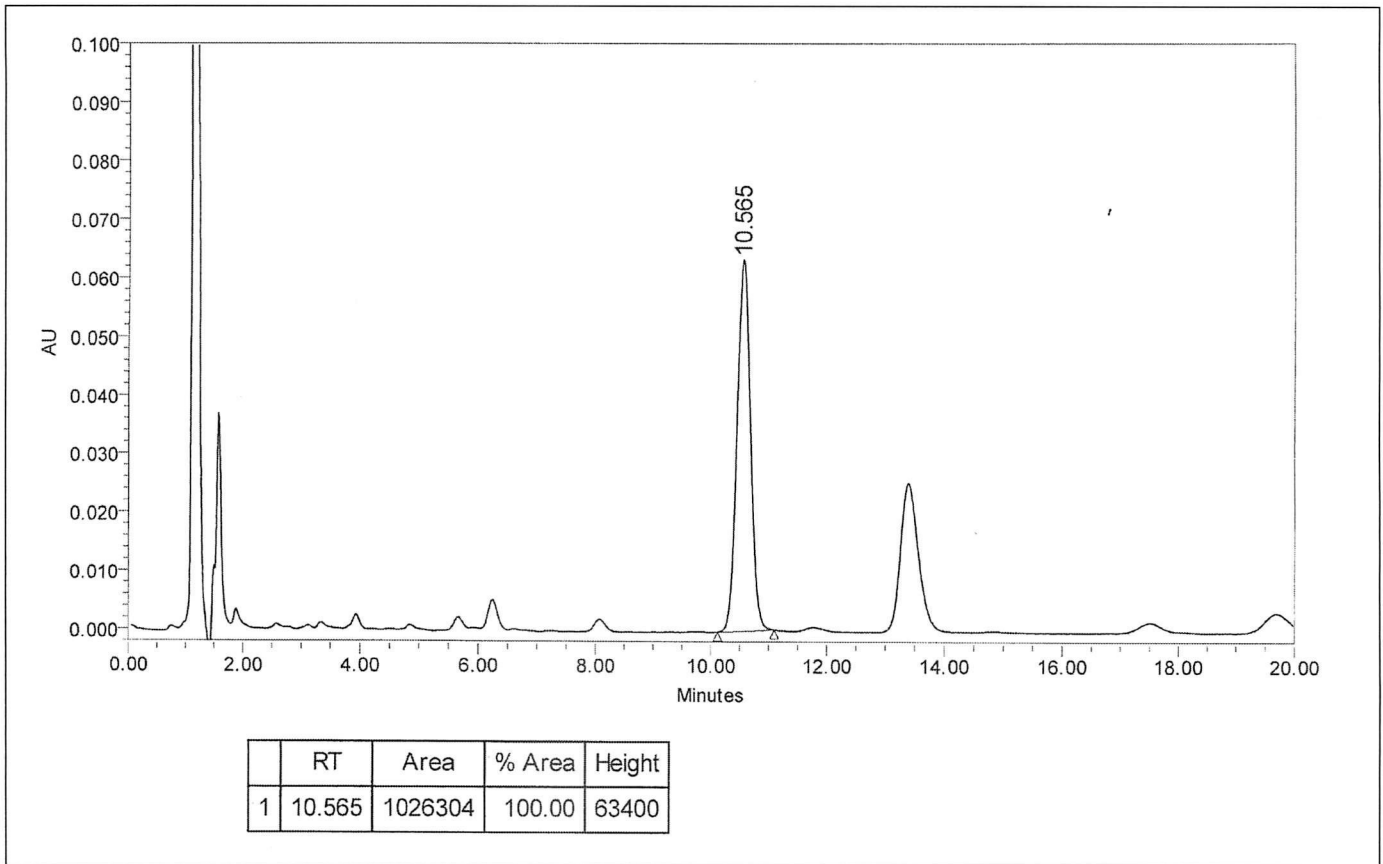
Een en ander betekent natuurlijk wel dat het geconstateerde probleem nog steeds niet van de baan is. Inmiddels is de bepaling van fluvoxamine, desipramine en nortrityline zo aangepast dat de storende component wordt gescheiden van de rest. Helaas betekende dit wel gebruik maken van een andere kolom en een ander loopmiddel en een verzwaring van het toch al overvolle programma. Onlangs deed ik nog een vreemde constatering. Bij de aanschaf en gebruik van een nieuw soort doppen bleek plotseling de storende component zich ook in de standaarden te bevinden. Het lijkt er dus op dat het ruwe basismateriaal voor deze nieuwe doppen hetzelfde is als dat wat wordt gebruikt voor de fabricage van de EDTA buizen.



UV-spectrum stoorpiek

## HPLC-systeem

Het HPLC-systeem bestaat uit een Alliance 2695 Separation Module met een 996 Photo Diode Array detector. De analytische kolom is een Symmetry C8 (150 x 3,9 mm i.d.), 5µm (Waters, Etten-Leur, part no. WAT 46970) in combinatie met een voorkolom Symmetry C8 Sentry Guard (20 x 3,9 mm i.d.), 5µm (Waters, Etten-Leur, part. No. WAT054250). De loopvloeistof bestaat uit een mengsel van een 0,1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> buffer op pH 4 gebracht met fosforzuur 17% en acetonitril in een verhouding 70-30. De flow bedraagt 1,3 ml/min. De detectie van fluvoxamine vindt plaats bij 205 nm, die van desipramine en nortrityline bij 215 nm. Bovenstaand systeem levert een retentietijd op van 10,56 minuten voor de stoorpiek.



Chromatogram met de stoorpiek op 10,56 minuten

## Extractie

Er wordt 2 ml plasma in bewerking genomen, waaraan wordt toegevoegd 0,4 ml carbonaatbuffer pH=9,5 en 3 ml heptaan-ethylacetaat-isoamylalcohol in een verhouding 785-200-15.

## Vragen

Aan de trouwe lezer van Extract heb ik enkele vragen cq. een verzoek.

1. Wie heeft deze component ook opgemerkt in zijn of haar chromatogrammen?
2. Weet iemand de identiteit van de component?
3. Tijdens een analyse heb ik de component opgevangen in een buisje. Wie zou voor mij dit monster willen analyseren m.b.v. de massaspectrometer?

