

grootte dat digestie van de reactieproducten niet noodzakelijk is. Dit alles verkort de procedure, vermindert de kans op fouten en verlaagt de kosten. De duplex-PCR voor de detectie van mutaties in de factoren II en V is dus een snelle en goedkope manier om twee vaak voorkomende risicofactoren voor veneuze trombose aan te tonen dan wel uit te sluiten.

#### Literatuur

1. Koster T, Rosendaal FR, Ronde H de, Briet E, Broucke JP van den, Bertina RM. Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. *Lancet* 1993; 342: 1503-1506.
2. Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, Arruda VR, Aiach M, Siscovick DS, Hillarp A, Watzke HH, Bernardi F, Cumming AM, et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost* 1998; 79: 706-708.
3. Ferraresi P, Marchetti G, Legnani C, Cavallari E, Castoldi E, Mascoli F, Ardissino D, Palareti G, Bernardi F. The heterozygous 20210 G/A prothrombin genotype is associated with early venous thrombosis in inherited thrombophilias and is not increased in frequency in artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2418-2422.
4. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 1004-1008.
5. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, Velden PA van der, Reitsma PH. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64-67.
6. Chan WP, Lee CK, Kwong YL, Lam CK, Liang R. A novel mutation of Arg306 of factor V gene in Hong Kong Chinese. *Blood* 1998; 91: 1135-1139.
7. Williamson D, Brown K, Luddington R, Baglin C, Baglin T. Factor V Cambridge: a new mutation (Arg306→Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood* 1998; 91: 1140-1144.
8. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88: 3698-3703.
9. De Stefano V, Martinelli I, Mannucci PM, Paciaroni K, Chiusolo P, Casorelli I, Rossi E, Leone G. The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N Engl J Med* 1999; 341: 801-806.
10. Martinelli I, Bucciarelli P, Margaglione M, De Stefano V, Castaman G, Mannucci PM. The risk of venous thromboembolism in family members with mutations in the genes of factor V or prothrombin or both. *Br J Haematol* 2000; 111: 1223-1229.
11. Hezard N, Cornillet-Lefebvre P, Gillot L, Potron G, Nguyen P. Multiplex ASA PCR for a simultaneous determination of factor V Leiden gene, G→A 20210 prothrombin gene and C→T 677 MTHFR gene mutations. *Thromb Haemost* 1998; 79: 1054-1055.

*Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2004; 29: 35-37

## Interferentie van acetaminophen (paracetamol) bij de bepaling van glucose en lactaat in volbloed

M.H. de KEIJZER<sup>1</sup>, R.W. BRANDTS<sup>1</sup> en S. van DIJK<sup>2</sup>

Elektrodes voor de meting van glucose en lactaat in volbloed blijken steeds meer in de dagelijkse praktijk gebruikt te worden. Echter de aanwezigheid van verschillende endogene en/of exogene stoffen in bloed, zoals bijvoorbeeld geneesmiddelen, kan interfereren met de bepaling en kan leiden tot foutief verhoogde of foutief verlaagde uitslagen. Naar aanleiding van een dergelijke bevinding met als interfererende stof acetaminophen is dit nader onderzocht.

Geconcludeerd wordt dat elektrodes met compensatiemogelijkheden de juiste glucoseuitslag produceren, ook bij toxische acetaminophenconcentraties tot 300 mg/l; de lactaatuitslag kan in dat geval tot 0,6 mmol/l afwijken.

*Afdeling Klinische Chemie, Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen<sup>1</sup> en Bayer BV, afdeling Diagnostica, Mijdrecht<sup>2</sup>*

Correspondentie: Dr. M.H. de Keijzer, Klinisch Chemisch Laboratorium, Ziekenhuis Rivierland, Postbus 6024, 4000 HA Tiel. E-mail: r.de.keijzer@zrt.nl

*Trefwoorden: biosensoren; acetaminophen; glucosemeting; lactaatmeting; interferentie*

Een prematuur jongetje met een geboortegewicht van 1600 gram werd vanwege sepsis opgenomen op de afdeling Neonatale Intensieve Zorg. Naast een aantal verschillende antibiotica werd ook acetaminophen (Paracetamol) toegediend. Serieel werden capillairen bloed afgenomen en werden bloedgasparameters, elektrolyten en metabolieten bepaald m.b.v. een bloedgasanalyzer. Tijdens deze metingen werd op een bepaald moment door de bloedgasanalyzer een verhoogde concentratie lactaat gemeten, waarbij tevens de boodschap "interference substance detected" gegeneerd werd. Nader onderzoek bracht aan het licht dat het bewuste monster een (toxische) hoeveelheid van 550 mg/l acetaminophen bevatte (de therapeutische concentratie bedraagt ongeveer 20 mg/l). Dit kan leiden tot leverbeschadigingen en methemoglobinemie en zelfs tot irreversibele levernecrose met trombocytopenie en anemie (1).

Acetaminophen is een van de belangrijkste elektrochemische interferenten bij op oxidase gebaseerde elektrodes die waterstofoxide genereren, hoewel het in therapeutische concentraties dankzij verschillende technieken nauwelijks blijkt te interfereren met enzymatische glucose- en lactaatbepalingen (2, 3, 4). Echter, omdat dit middel een zeer populaire, 'over de counter' verkrijgbare pijnstillert is, is de kans op overdoseringen aanwezig. Wij hebben daarom onderzocht wat de effecten zijn van oplopende doseringen van dit analgeticum op de gemeten glucose- en lactaatconcentraties, zoals die in volbloed bepaald worden met behulp van een bloedgasanalyzer.

### Materiaal en Methoden

Voor het onderzoek is gebruik gemaakt van RapidLab analyzers uit de 800-serie (Bayer Diagnostica BV, Mijdrecht, Nederland), o.a. uitgerust met elektrodes voor de bepaling van de concentraties van glucose en lactaat in volbloed. Deze elektrodes bestaan uit twee anodes, waarvan één van beide met behulp van enzymen (glucoseoxidase of lactaatoxidase; GOD of LOD) glucose respectievelijk lactaat omzet in waterstofperoxide. Deze omzetting is biochemisch gesproken specifiek voor lactaat en glucose, maar de elektrode is niet specifiek voor peroxide. Door de niet-specifieke oxidatie van interfererende stoffen worden extra elektronen geproduceerd en wordt een foutief verhoogde concentratie glucose of lactaat gemeten. De RapidLab-analyzer maakt gebruik van drie verschillende correctiemiddelen: a) door speciale membranen te gebruiken wordt de diffusie van de interfererende stoffen naar het oppervlak van de elektrode tegengegaan, b) door de elektrode op een zodanig laag potentiaalverschil te laten werken dat wel waterstofperoxide, maar niet de interfererende stoffen worden geoxideerd, c) door een zogenaamde inactieve elektrode, zonder GOD of LOD te gebruiken (3, 4). Dit werkt als volgt: water van het monster diffundeert naar het meetgedeelte van de elektrode, terwijl cellen, eiwitten en andere macromolekulen achterblijven. Het plasmawater bevat o.a. glucose en lactaat, elektrolyten en potentieel interfererende endogene stoffen en geneesmiddelen. Alle molekulen diffunderen naar de beide anodes. Bij de actieve elektrode wordt glucose of lactaat enzymatisch omgezet in peroxide, waarbij de stroomsterkte evenredig is met de hoeveelheid substraat. Interfererende stoffen worden hier ook geoxideerd en leveren dus ook een bijdrage aan het spanningsverschil. Bij de inactieve elektrode vindt geen omzetting van lactaat of glucose plaats. Door oxidatie van de interfererende stoffen ontstaat een spanningsverschil dat evenredig is aan de concentratie van deze stoffen. Per meting worden dus twee meetsignalen gegenereerd; het verschil tussen beide wordt door de software van de bloedgasanalyzer omgerekend naar een waarde voor de concentratie van glucose of lactaat.

Voor het onderzoek werden glucose- en lactaatcontroles (Euro-Trol BV, Wageningen, Nederland) 'gespiked' met acetaminophen in concentraties van 80, 160 en 320 mg/l en daarna direct gemeten. De

metingen worden in duplo op twee verschillende bloedgasanalyzers uitgevoerd. Tijdens de experimenten worden de analyzers bij elke éénpuntsijking gekalibreerd met Wash/Zero-vloeistof (Bayer Diagnostica BV). De intravariatiecoëfficiënten voor beide bepalingen bedragen minder dan 6 %. Het functioneren van de inactieve elektrode wordt bij elke tweepuntsijking gecontroleerd. De elektrodes worden in principe om de twee weken (lactaat) of vier weken (glucose) vervangen. Als extra controle op het functioneren van de elektrodes wordt regelmatig een monster met een hoge glucose-/lactaatconcentratie gemeten. Als de uitslag meer dan 10% afwijkt van de targetwaarde wordt de elektrode vervangen.

### Resultaten

Uit de tabel blijkt dat de aanwezigheid van acetaminophen in de hoge concentratie van 320 mg/l een afwijking van ongeveer 0,6 mmol/l in de lactaatslag veroorzaakt. Het interferentiegedrag op de glucosemeting is minder eenduidig, maar verwaarloosbaar. De boodschap "interference substance detected" bleef bij alle metingen achterwege. Om vast te stellen of bij zeer hoge concentraties deze boodschap wel bij de uitslag wordt getoond is acetaminophen aan het controlemateriaal toegevoegd tot een eindconcentratie van 320, 640 en 1280 mg/l. Glucose- en lactaatslagen werden bij de concentraties van 640 en 1280 mg/l wel voorzien van bovengenoemde boodschap. De glucosemeting vertoonde hierbij een afwijking van minder dan 1 mmol/l, maar de lactaatslag was tot 17 mmol/l hoger dan verwacht. Twee van de vier voor dit experiment gebruikte RapidLab-analyzers geven al bij 320 mg acetaminophen per liter de 'interference' boodschap. Deze twee analyzers bleken voorzien te zijn van elektrodes, die al geruime tijd geleden geplaatst waren en die op de nominatie stonden om binnen enige dagen vervangen te worden.

**Tabel.** Gemiddelde uitslagen (in mmol/l) van de glucose- en lactaatmeting na toevoeging van verschillende hoeveelheden acetaminophen aan controlemateriaal

Glucosemeting	analyzer	analyzer
	nr. 1	nr. 2
controle 'blanco'	6,0	5,7
controle plus 80 mg/l acetaminophen	6,2	5,7
controle plus 160 mg/l acetaminophen	5,6	5,5
controle plus 320 mg/l acetaminophen	6,1	5,3
Lactaat meting	analyzer	analyzer
	nr. 1	nr. 2
controle 'blanco'	2,47	2,38
controle plus 80 mg/l acetaminophen	2,61	2,65
controle plus 160 mg/l acetaminophen	2,46	2,75
controle plus 320 mg/l acetaminophen	3,05	3,05

## Discussie

Een groot aantal stoffen, zoals bijvoorbeeld dopamine, ascorbaat, salicylaat, creatinine, hydroxybutyraat, is in het verleden onderzocht op het eventuele interfereren met de enzymatische glucose- en/of lactaatmeting, waarbij de keuze voor de verschillende stoffen en de gebruikte concentraties op geleide van de NCCLS-richtlijnen gemaakt is. De concentraties zijn in alle gevallen tenminste gelijk aan of een veelvoud van de therapeutische bovengrens of van de fysiologische waarde. Door het correctiealgoritme van de RapidLab-bloedgasanalyzers veroorzaken deze stoffen een fout van maximaal 0,3 mmol/l in zowel de glucosebepaling als de lactaatbepaling (2). Recent zijn nog andere, mogelijk interfererende, stoffen (thiocyanaat, icodextrine) beschreven, maar de glucose- en lactaatelektrodes van de RapidLab-analyzers blijken hiervoor niet gevoelig te zijn (5, 6).

Tenminste drie agentia onttrekken zich wel aan het correctiemechanisme van deze analyzers. Dit zijn natriumfluoride, kaliumoxalaat en acetaminophen, waarvan de laatste verreweg de belangrijkste zal zijn, uitgaande van een juist inzicht in het preanalytisch traject. Van acetaminophen is bekend dat het een twee-elektronoxidatie ondergaat waarbij een quinone gevormd wordt. Een fractie hiervan reageert met de gereduceerde vorm van GOD of LOD, waarbij weer acetaminophen ontstaat en opnieuw geoxideerd wordt. Deze reacties treden niet op bij de inactieve elektrode omdat daar geen oxidase aanwezig is. Dit maakt het onmogelijk om de interferentie van acetaminophen en aanverwante verbindingen volledig te elimineren en daarom zal bij hoge concentraties van deze stoffen een positieve bias op de lactaat- en/of glucoseuitslag gevonden worden. Voor acetaminophen geldt volgens de fabriekshandleiding (2) dat bij een therapeutische concentratie van 20 mg/l de afwijking in de glucose- en de lactaatwaarde niet meer mag bedragen dan 0,3 mmol/l.

Wij hebben aangetoond dat ook bij toxische acetaminophenconcentraties tot ongeveer 300 mg/l de glucose uitslag niet beïnvloedt wordt, terwijl in de lactaatwaarde een afwijking van maximaal 0,6 mmol/l kan worden verwacht. Bij nog hogere concentraties

zal de RapidLab-bloedgasanalyzer de boodschap "interference substance detected" meegeven en moet met name de lactaatsuitslag als onbetrouwbaar worden gekwalificeerd. Het verschijnen van deze boodschap zal ook afhangen van de ouderdom van de elektrode: het correctievermogen van een elektrode die al langer in de analyzer aanwezig is, wordt minder.

## Literatuur

1. Routledge P, Vale JA, Bateman DN, Jones A, Judd A, Thomas S, Volans G et al. Paracetamol (acetaminophen) poisoning. *Br Med J* 1998; 3177:1609-1610.
2. Ciba Corning Service Manual 800 series, 673719 Rev. E, 4/95 Ciba Corning Diagnostics Corp., 1995.
3. Moatti-Sirat D, Poitout V, Thomé V, Gangnerau MN, Zhang Y, Hu Y, Wilson GS et al. Reduction of acetaminophen interference in glucose sensors by a composite Nafion membrane: demonstration in rats and man. *Diabetologica* 1994; 37: 610-616.
4. Zhang Y, Hu Y, Wilson GS, Moatti-Sirat D, Poitout V, Reach G. Elimination of the acetaminophen interference in an implantable glucose sensor. *Anal Chem* 1994; 66: 1183-1186.
5. D'Orazio P. Interference by thiocyanate on electrochemical biosensors for blood glucose. *Clin Chem* 1996; 42: 1124-1126.
6. Janssen W, Harff G, Caers M, Schellekens A. Positive interference of icodextrine metabolites in some enzymatic glucose methods. *Clin Chem* 1998; 44: 2379-2380.

## Summary

*Interference by acetaminophen (Paracetamol) on the determination of glucose and lactate in whole blood. Keijzer MH de, Brandts RW, Dijk S van Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2004; 29: 35-37.*

The use of biosensors for the measurement of glucose and lactate in whole blood becomes more and more widespread. False increased or false decreased results can be found due to the presence of various endogenous and/or exogenous substances like drugs. Due to such a finding with acetaminophen as interfering substance some investigations were performed.

It is concluded that biosensors with compensation algorithms are able to produce correct glucose results, even in the presence of toxic acetaminophen levels up to 300 mg/L; these levels lead to overestimation of the lactate concentration up to 0.6 mmol/L.

*Key-words: biosensors; acetaminophen; glucose determination; lactate determination; interference*