

*Dr. Jochen Türk*



*Institut für Energie-  
und Umwelttechnik e.V.*

# **Bio- und Umgebungsmonitoring von Antibiotika und Zytostatika im Gesundheitswesen mittels LC-MS/MS**

Analytisch-chemisches Kolloquium  
Essen, den 30.06.2008

UNIVERSITÄT  
**DUISBURG**  
**ESSEN**

- **Vorstellung IUTA e.V.**
- **Einleitung**
  - Monitoringverfahren
  - Analytische Methoden
  - Zytostatika - Messwerte
- **Antibiotika - Studie**
- **Die MEWIP - Studie**
- **Zusammenfassung und Ausblick**



**Institut für Energie- und  
Umwelttechnik e.V.  
Bliersheimer Str. 60  
47229 Duisburg  
Internet: [www.iuta.de](http://www.iuta.de)**

## **Geschichte**

- 1989 gegründet als Institut für  
Umwelttechnologie und  
Umweltanalytik e.V.
- 1991 An-Institut der Universität Duisburg-  
Essen
- 1998 umbenannt in Institut für  
Energie- und Umwelttechnik e.V.

## **Zahlen & Fakten (2007):**

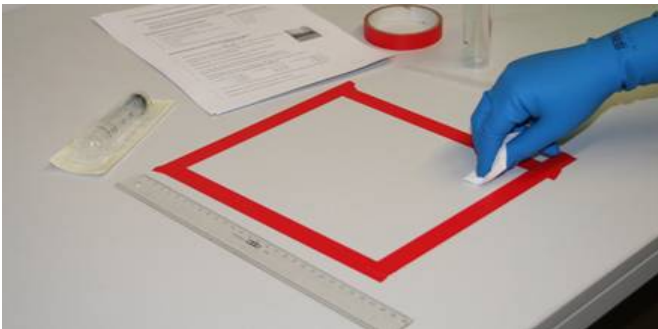
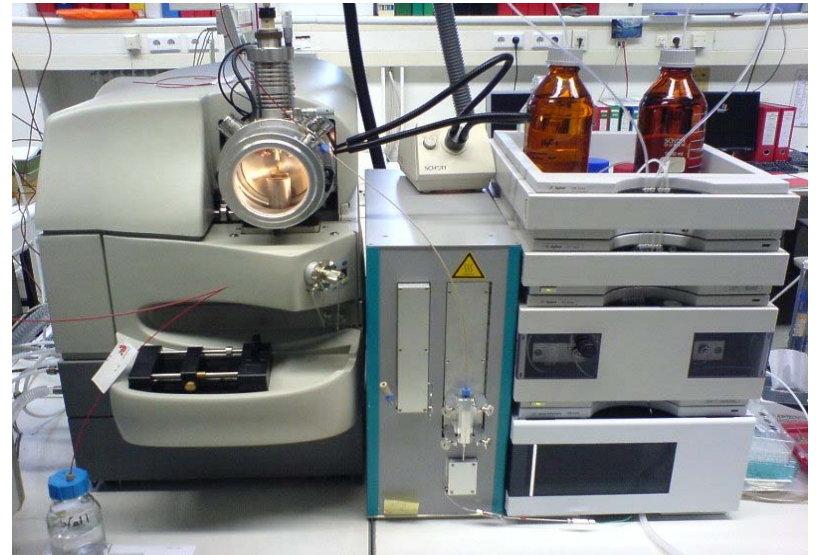
Mitarbeiter(innen)	120
Büro-/Laborfläche	2.400 m <sup>2</sup>
Technikumsfläche	4.000 m <sup>2</sup>
Umsatz	ca. 6,4 Mio €

## Arbeitsschwerpunkte:

- Umweltrelevante Pharmazeutika (z.B. Zytostatika)
- Mykotoxine
- Innenraumhygiene
- Kontaminationsvermeidung
- Abwasser-/Abluftbehandlung
- Chromatographische Verfahren
- Fortbildungsveranstaltungen

## Ausstattung

- Spurenanalytisches Labor
- Labor-Infrastruktur für toxische Medien (LAF-Werkbänke, Klimaschränke, ...)
- UV- und Ozon-Versuchsanlagen
- Abwasserbehandlungsanlagen





## Arbeitsschwerpunkte:

- Arzneimittelanalytik
- org. Spuren-Analytik
- Methodenentwicklung
- Monitoring nach GefStoffV

## Ausstattung

- HPLC-MS/MS
- HT-HPLC
- LC-MS
- diverse GCs
- diverse HPLCs



## Arbeitsschutzrelevante Pharmaka

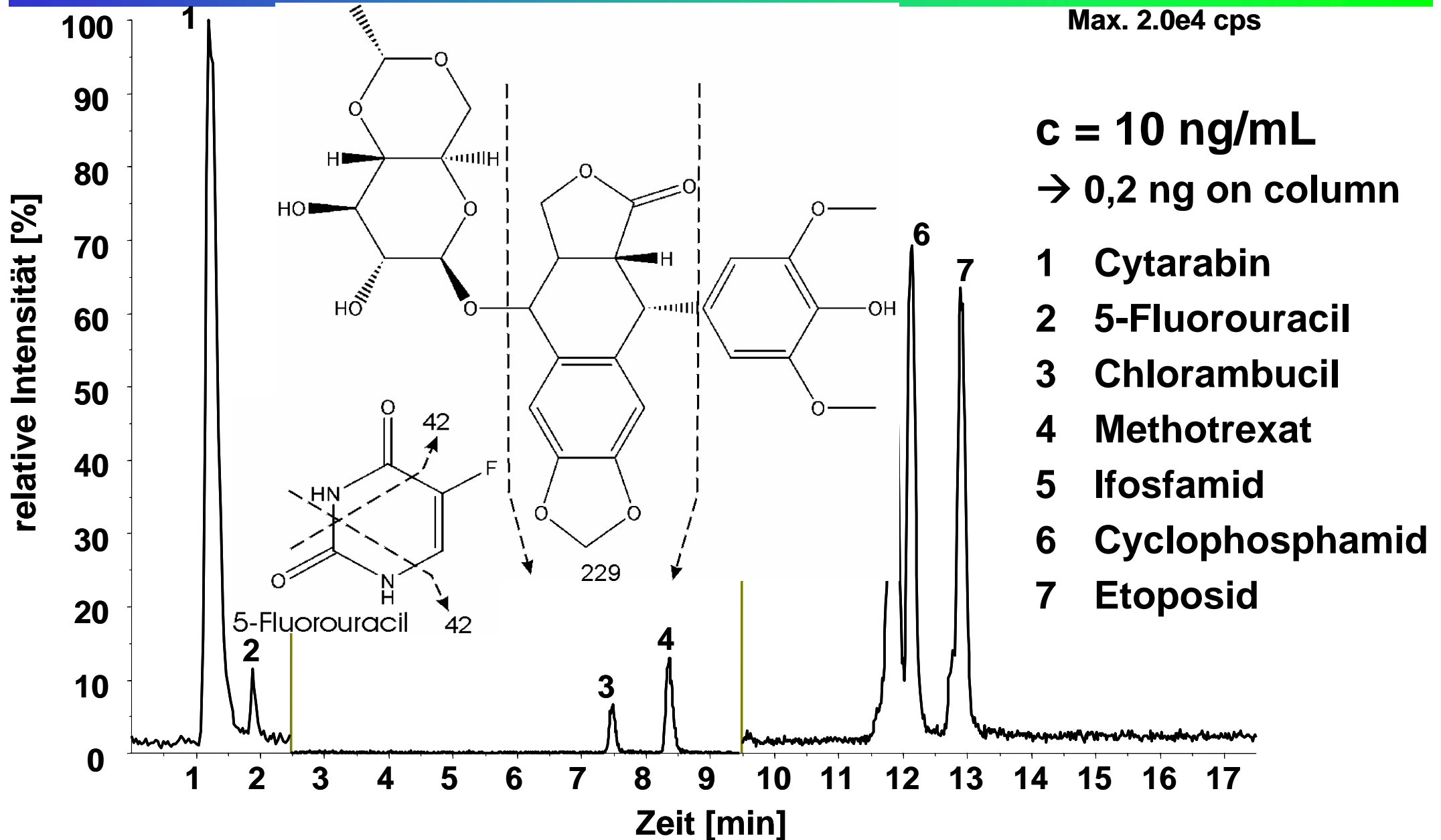
- **Zytostatika**
  - **CMR-Stoffe:** cancerogen, mutagen, reproduktionstoxisch
  - **Eingruppierung in Schutzstufe 3 und 4 der GefStoffV**
- **Antibiotika**
  - teilweise auch toxisch  
(z.B. Chloramphenicol, Ciprofloxacin)
  - sensibilisierend und allergieauslösend
  - **Resistenzproblematik**

- **Arbeitsplatz- und produktionsbegleitende Messungen in Apotheken, Kliniken und der Pharmaindustrie**  
(Arbeitsplatzbewertung und Gefährdungsbeurteilung nach GefStoffV)
- **Biomonitoring**
  - Urin- oder Blutproben
- **Umgebungsmonitoring**
  - Wischproben (→ MEWIP-Studie)
  - Textilproben
- **Luftmessungen**
  - häufig Staubmessungen (Pharmaindustrie)
  - selten Partikel- und Gasphase

- **Eingesetzte Zytostatika: ca. 75**
- Stand der Zytostatika-Analytik
  - (HPLC- oder CE-UV)
  - Einzelstoffanalytik mittels GC/MS & **LC-MS/MS**
    - ca. 25 Wirkstoffe zurzeit analysierbar
    - i. d. R. 1 Wischprobe für 1 Wirkstoff!
  - **Multimethoden mittels LC-MS/MS (z.B. MEWIP)**
    - bis zu 10 Wirkstoffe + Pt aus **einer** Wischprobe
  - Gesamt-Platin (Voltammetrie oder ICP-MS)
  - **Neu: Pt-Spezies-Analytik mittels LC-ICP-MS**



# Zytostatika – Standard (TIC)



Substanz	Methode	NWG [ng/mL]	WP-NWG [pg/cm2]
Cyclophosphamid	GC-MS*	10	3
	<b>LC-MS/MS</b>	<b>0,1</b>	<b>3</b>
	GC-HRMS*	0,01	0,003
Ifosfamid	GC-MS*	30	10
	<b>LC-MS/MS</b>	<b>0,1</b>	<b>3</b>
	GC-HRMS*	0,02	0,007
5-Fluorouracil	<b>LC-MS/MS</b>	1	33
Chlorambucil	<b>LC-MS/MS</b>	2	67
Cytarabin	<b>LC-MS/MS</b>	0,4	13
Etoposid	<b>LC-MS/MS</b>	0,1	3
Methotrexat	<b>LC-MS/MS</b>	0,1	3

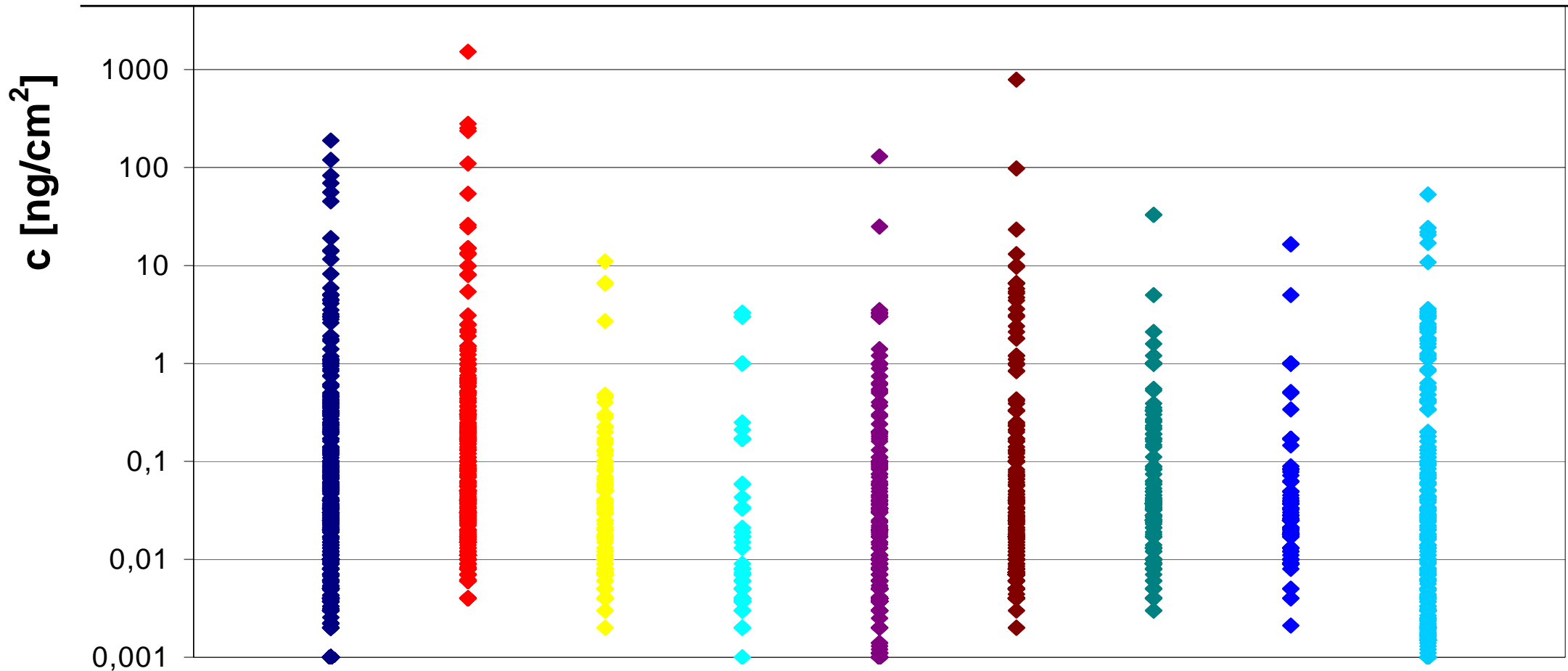
Annahme für WP-NWG: 900 cm<sup>2</sup> Wischfläche, 30 mL Extraktion

\*GC/MS & GC-HRMS: Derivatisierung und Aufkonzentrierung um den Faktor 100

# Einzelmessungen (ohne MEWIP), Stand 31.12.07

◆ CP    ◆ 5-FU    ◆ Eto    ◆ MTX    ◆ IF    ◆ Gem    ◆ Pac    ◆ Doc    ◆ Platin

n	977	942	629	639	794	569	473	364	514
% pos.	30,3	23,5	6,0	7,0	16,1	22,0	11,0	5,5	45,3
90. Perz.	0,136	0,30	0,061	0,006	0,033	0,126	0,146	0,058	0,137



## Untersuchung einer Normal- und einer Intensivstation in einem nordrheinwestfälischen Krankenhaus:

Bestimmung von 15 Antibiotika in Wisch-, Textil- und Urinproben

### 1. Umgebungsmonitoring (Exposition)

Oberflächen:       Arbeitsflächen, Equipment, Mülleimer,  
                          Vials, Lichtschalter, Flure, Türen, etc.

Arbeitskleidung:   Baumwollstoffe (an die Kleidung geheftet)

→ Extraktion der Wisch- und Textilproben mit VE-H<sub>2</sub>O

### 2. Biomonitoring (Inkorporation)

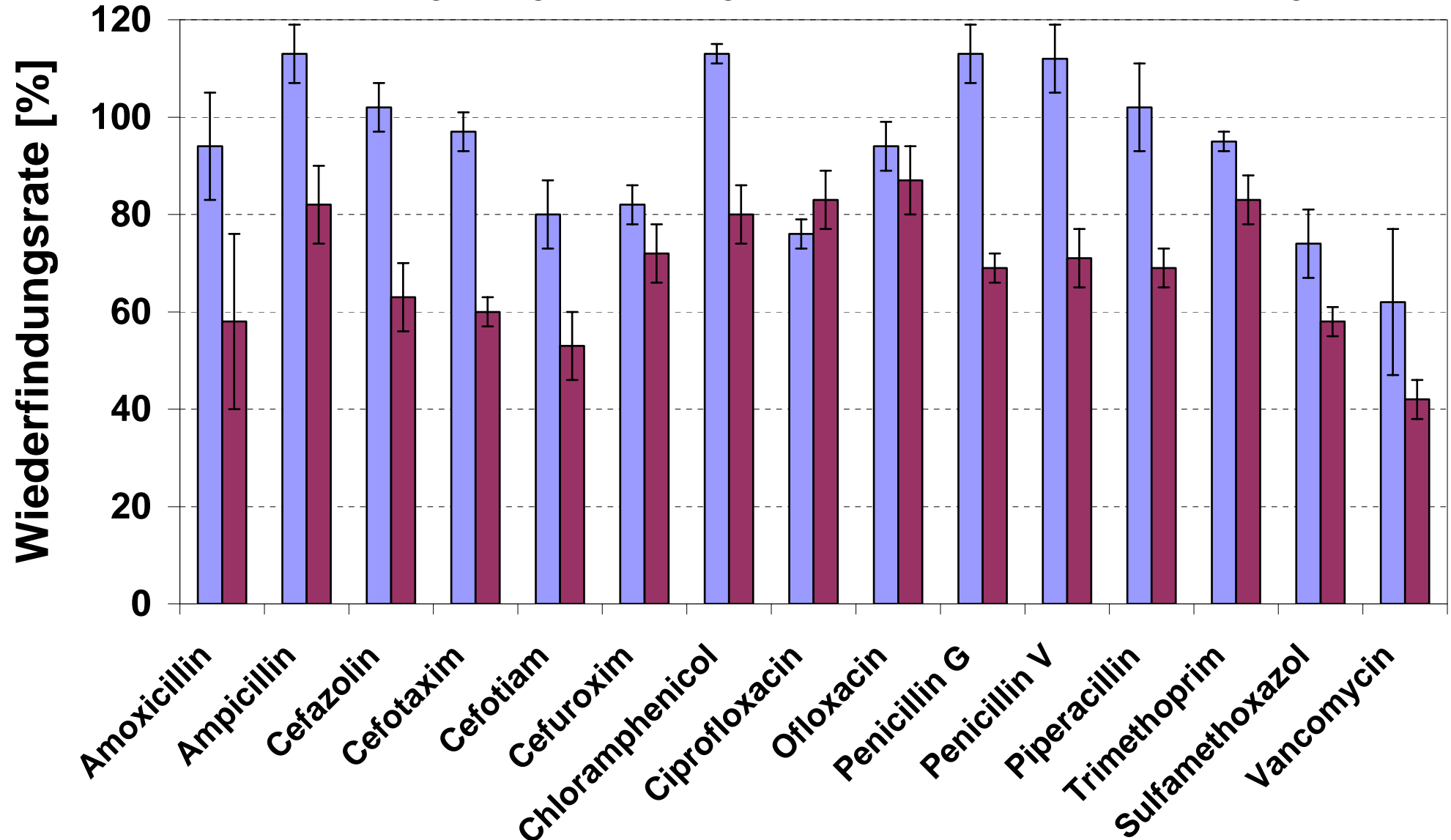
→ Festphasenextraktion von Urinproben

# Laborwiederfindungsraten

n = 3, c = 100 ng/mL

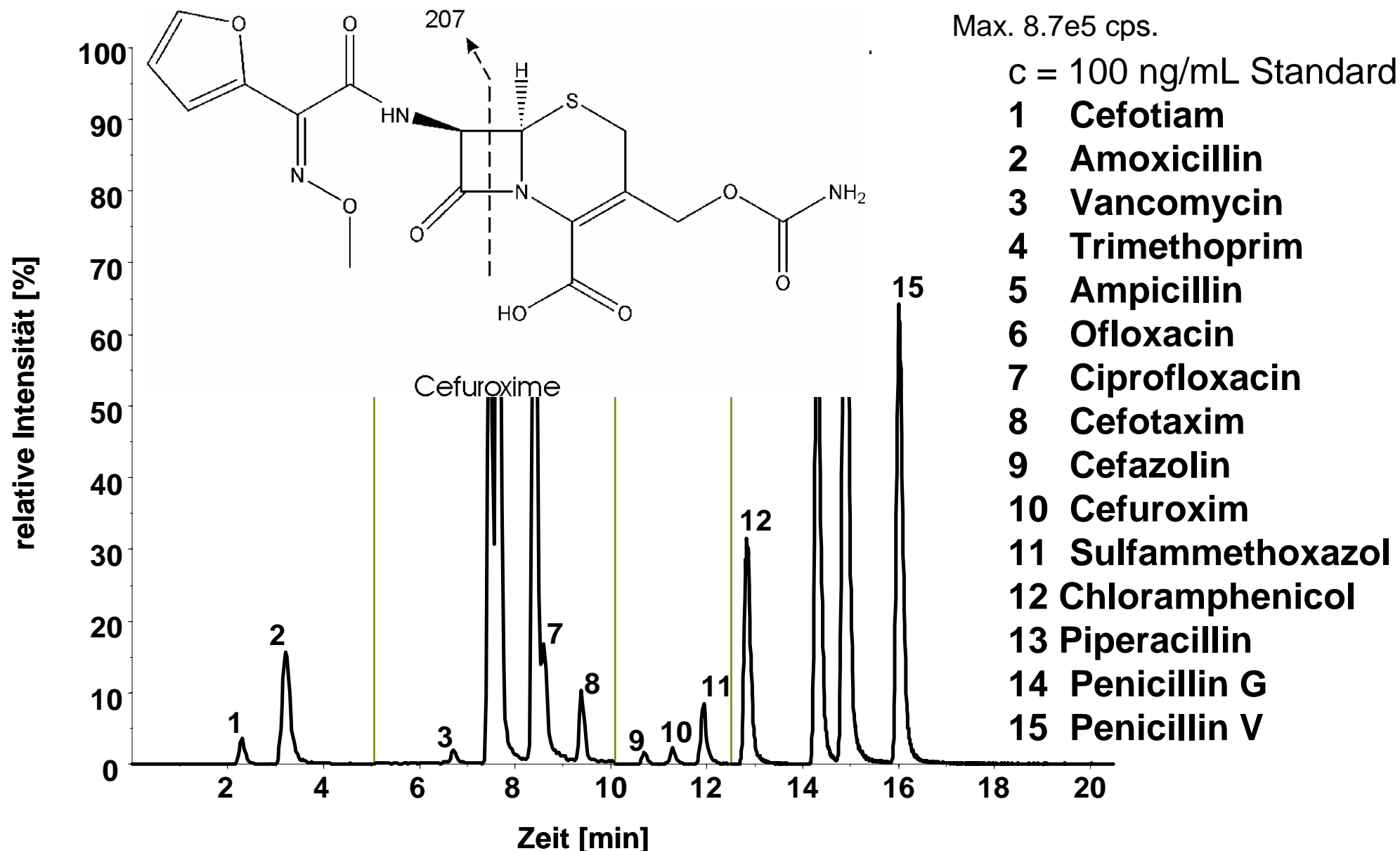
■ Umgebungsmonitoring

■ Biomonitoring

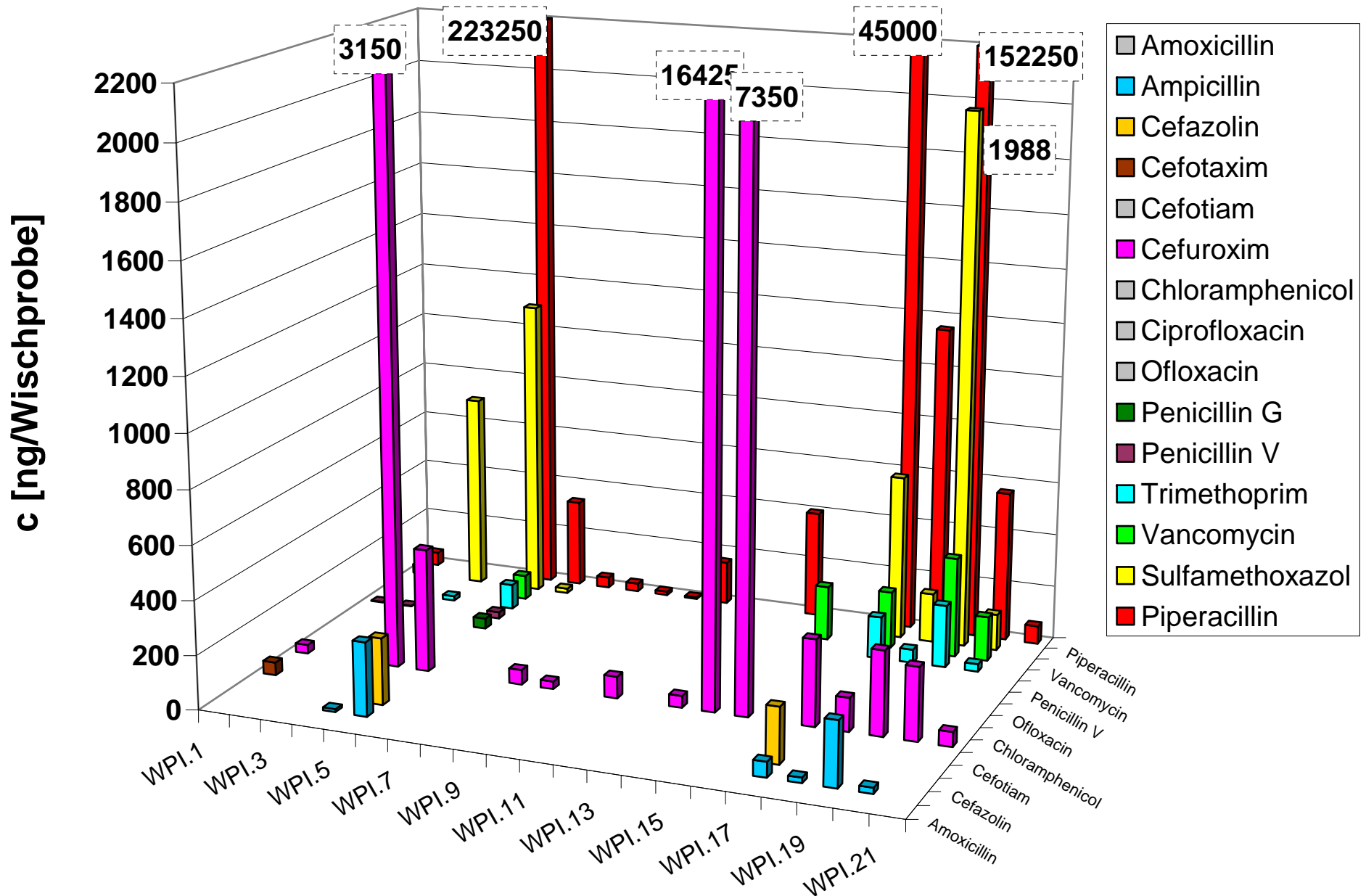




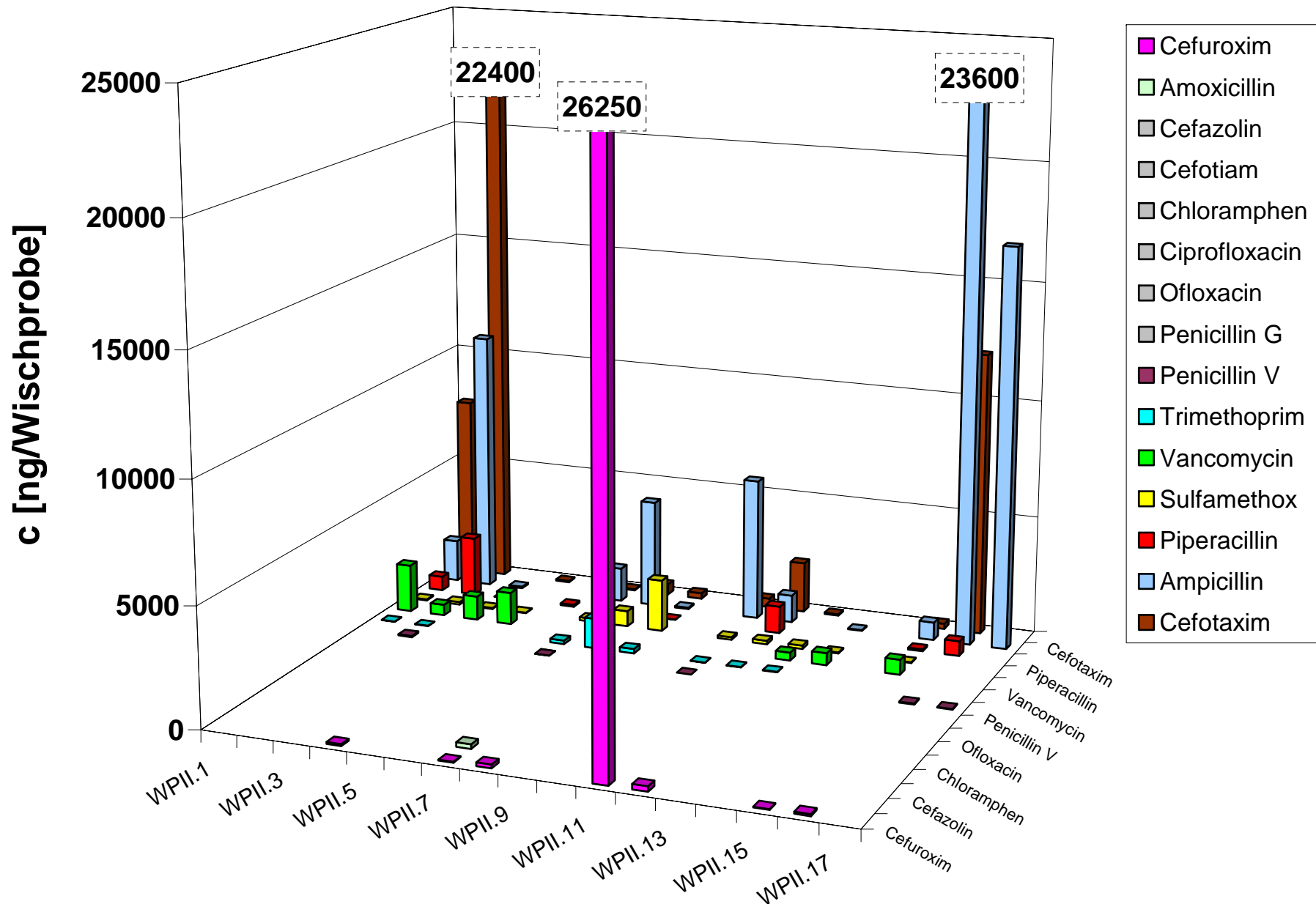
# Antibiotika – Standard (TIC)



# Flächenbelastung Intensivstation



# Flächenbelastung Normalstation



- **37 von 38 Oberflächen belastet**
    - bis 223  $\mu\text{g}/\text{WP}$  = 248  $\text{ng}/\text{cm}^2$
    - 10 von 15 Antibiotika nachweisbar
    - oft Mehrfachbelastungen  
(bis zu 9 Substanzen pro Wischprobe)
  - **21 von 21 Textilproben belastet**
    - bis zu 288  $\mu\text{g}/\text{Textilprobe}$  = 960  $\text{ng}/\text{cm}^2$
    - fast immer Mehrfachbelastungen  
(bis zu 5 Substanzen pro Probe)
- **Korrelationen zur Exposition feststellbar!**
- **10 von 40 Urinproben (10 von 21 MA) positiv**
    - niedriger  $\text{ng}/\text{mL}$  - Bereich, keine Mehrfachbelastungen



## Monitoring-Effekt-Studie für Wischproben in Apotheken (Monitoring-Effect Study of Wipe Sampling in Pharmacies)

### Projektpartner:



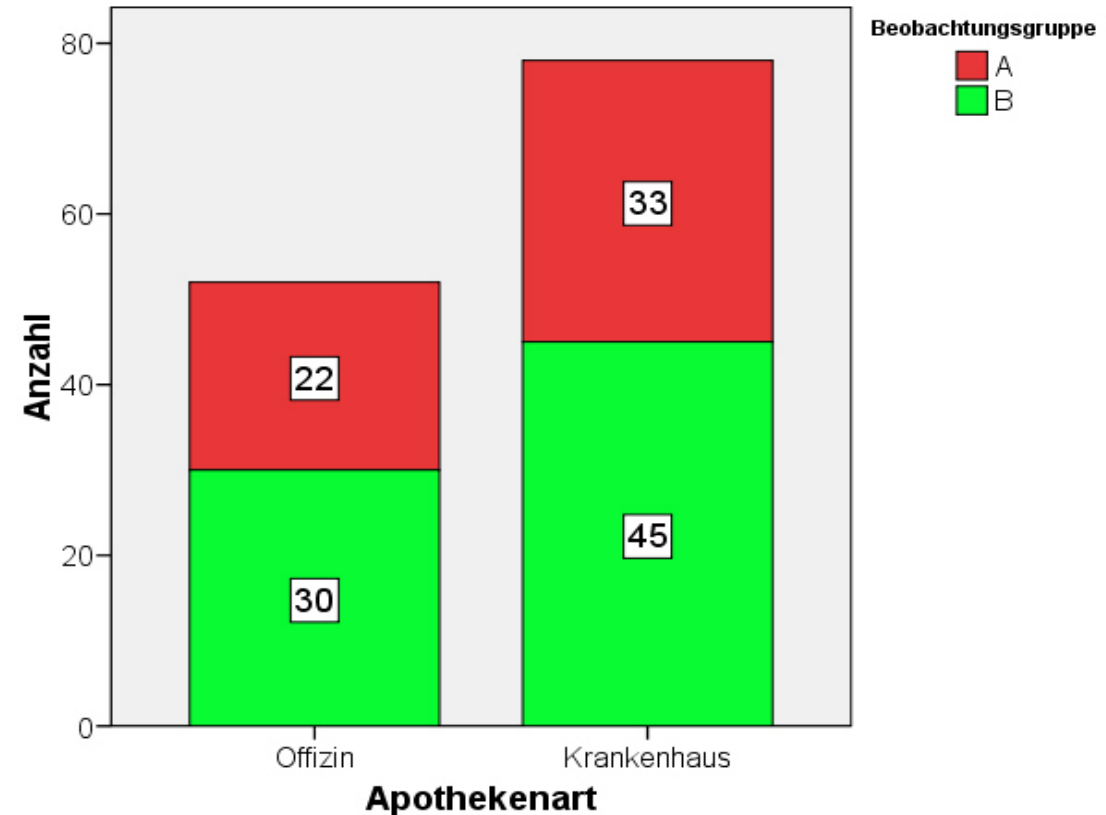
IfAP

- **Ziele**

- Umgebungsbelastung mit Zytostatika ermitteln
- Basis zur Ableitung von Orientierungswerten schaffen
- Auswirkungen eines Wischproben-Monitorings untersuchen
- Entstehung und Verbreitung von Kontaminationen aufklären



- **254 Interessensbekundungen**
- **201 Anmeldungen**
  - 10 Apotheken ausgeschlossen
    - < 500 Zubereitungen
    - Isolatoren
    - (Um-)Baumaßnahmen
    - geografische Lage
- **130 Teilnehmer gelost**
- **Stratifizierung nach Apothekenart**



# Einteilung der Apotheken in zwei Gruppen\*

**Gruppe A:** *quartalsweise* Wischprobennahme,  
Apotheken erhielten jeweils Rückmeldung mit  
Messergebnis; (Anzahl: 55 Apotheken)

→ Teilnahme an allen **5 Messzyklen/Wischproben**

**Gruppe B:** Wischproben zu *Beginn* und am *Ende* der  
Studie, Apotheken erhielten Informationen über  
ihre Messergebnisse erst nach Abschluss des  
Monitorings; (Anzahl: 75 Apotheken)

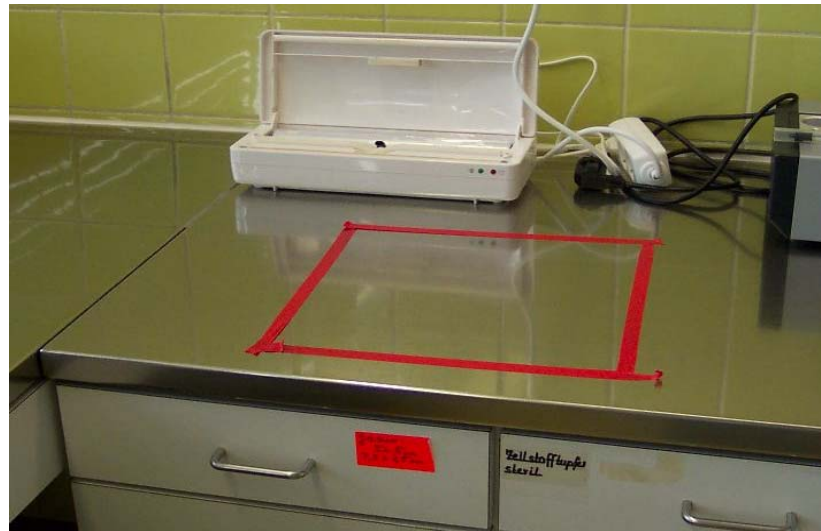
→ Teilnahme an **1. und 5. Messzyklus/Wischprobe**

\* Die Einteilung erfolgte per *Losverfahren* mit Stratifizierung (IMSIE) nach Apothekentyp (KH/Offizin)  
basierend auf der vorab-Auswertung des 2. Fragebogens

# Beispiele für Probenahmeorte

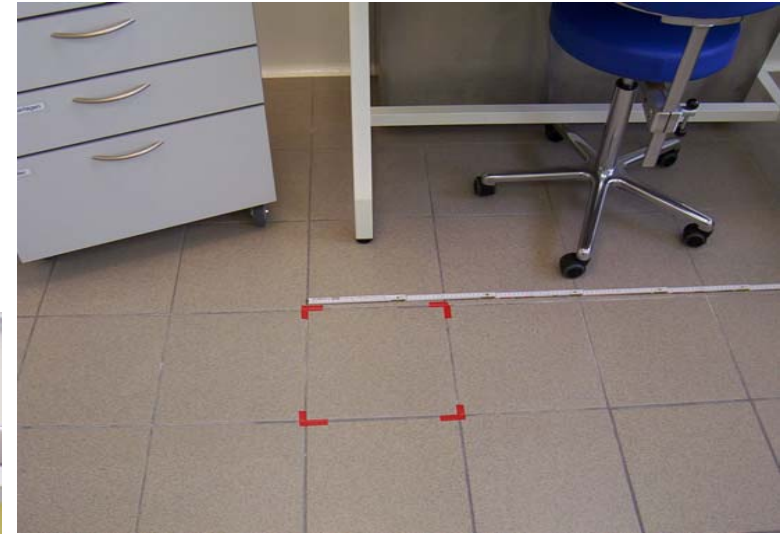
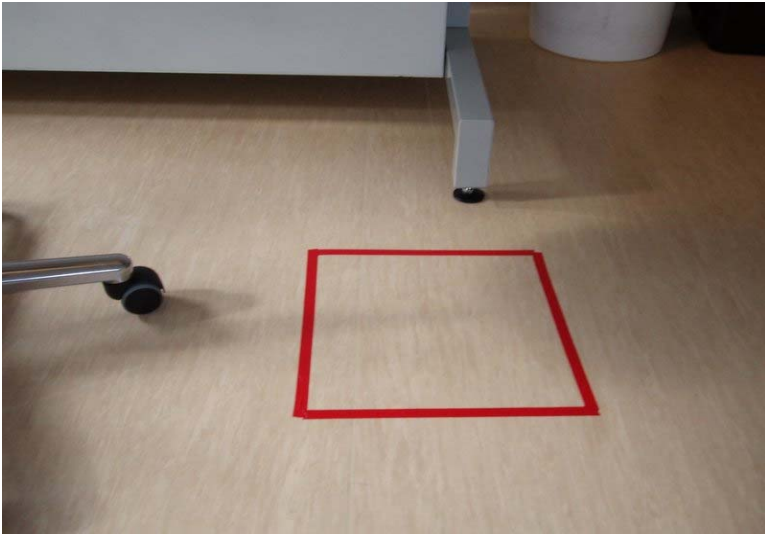


# Probenahmeort 1: Arbeitsfläche



**Vorgabe: Am häufigsten benutzte Arbeitsfläche auswählen!**

# Probenahmeort 2: Fußboden



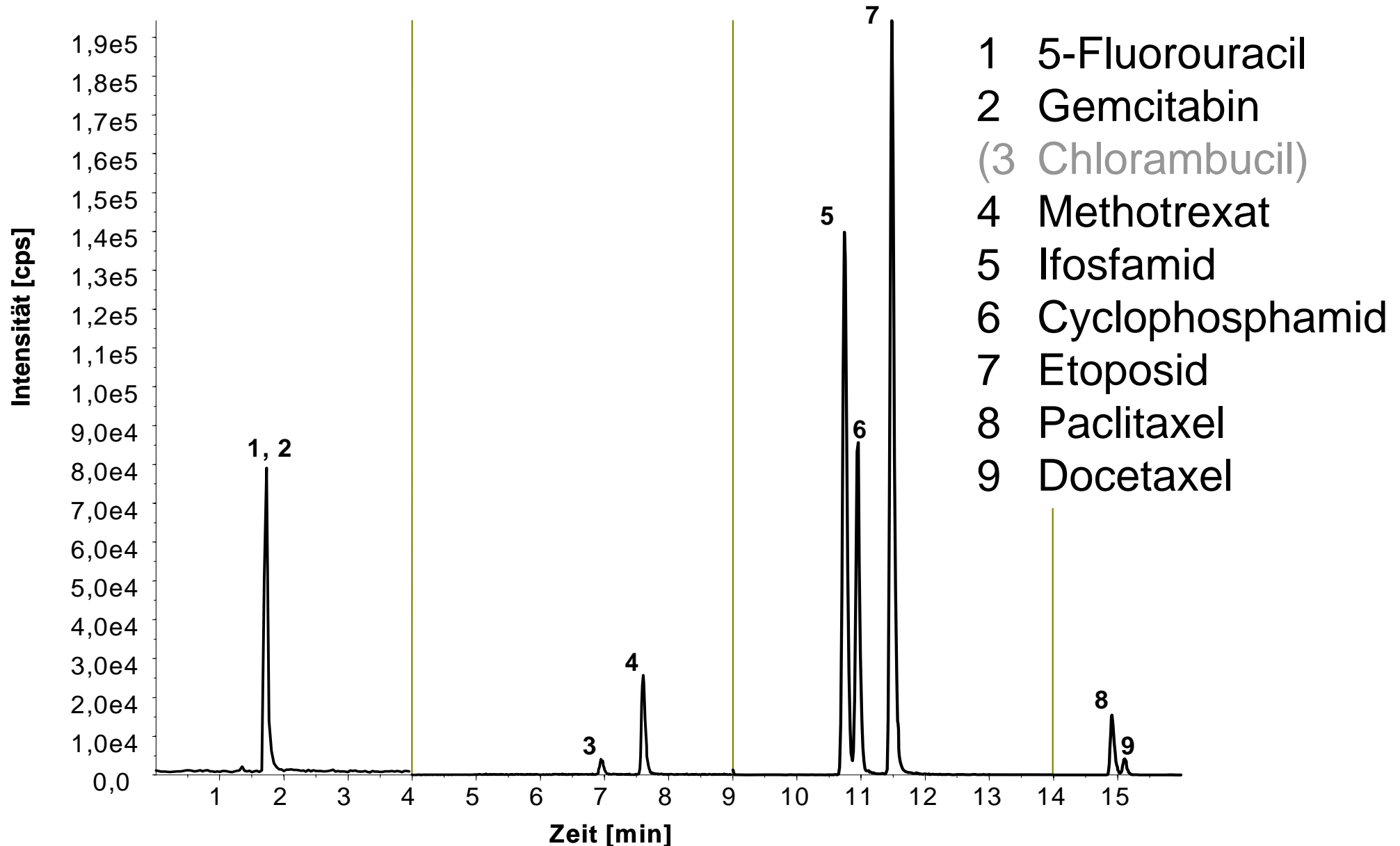
**Vorgabe: Fußboden vor der Zytostatikawerkbank auswählen!**

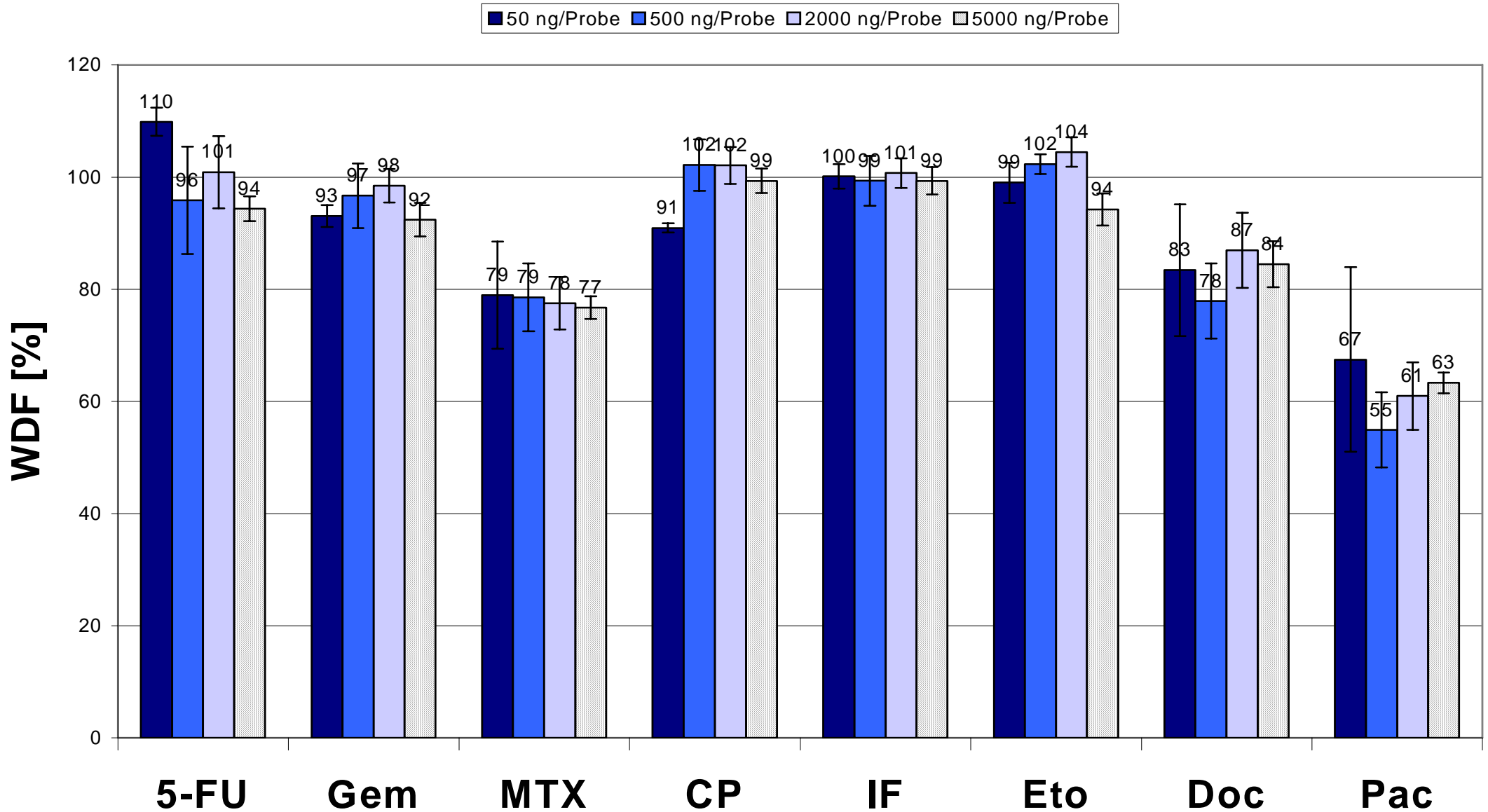


# Probenahmeort 3: Kühlschranktür

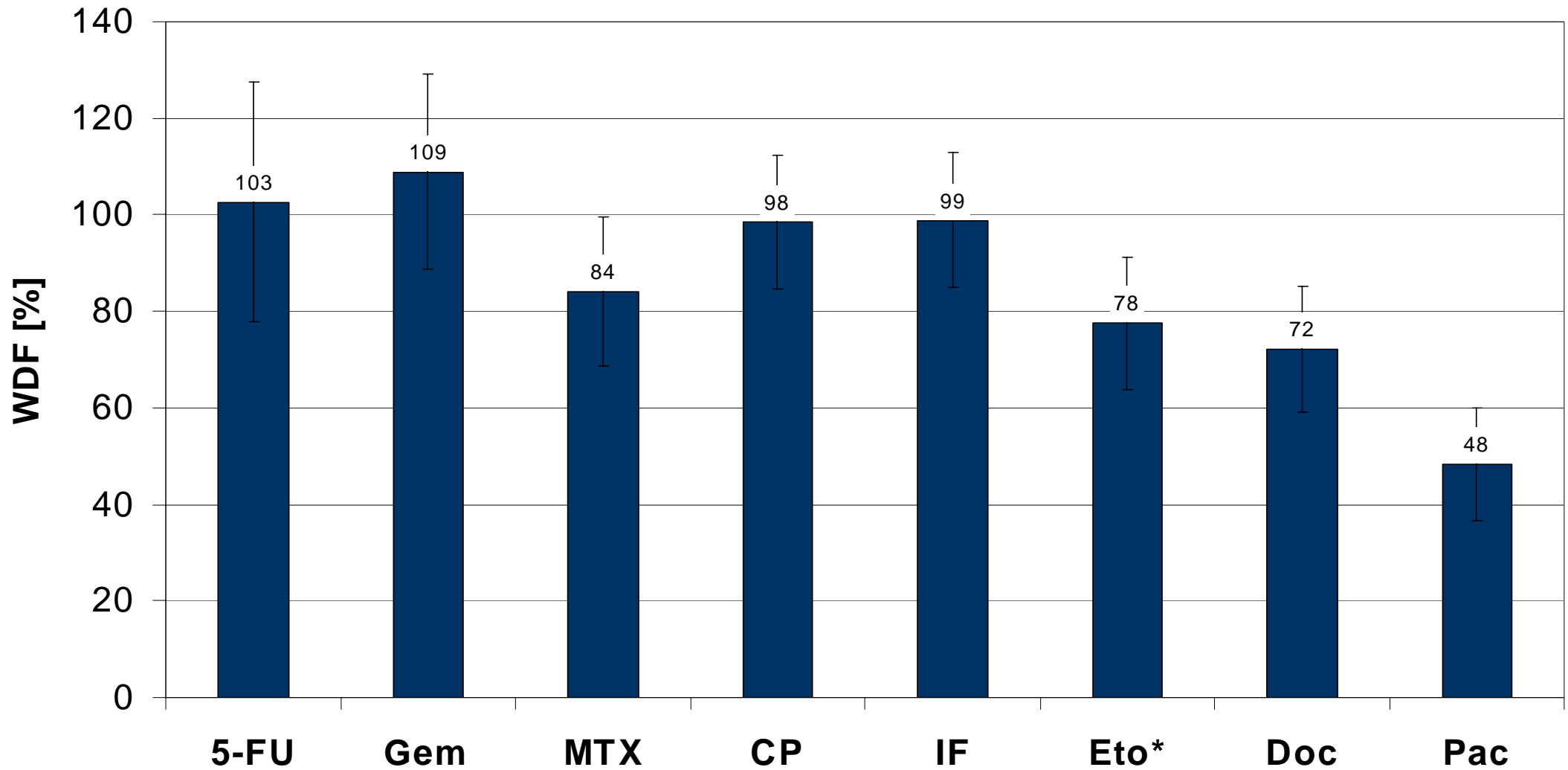


**Vorgabe: Vorderseite des Kühlschranks (inkl. Türgriff) auswählen!**





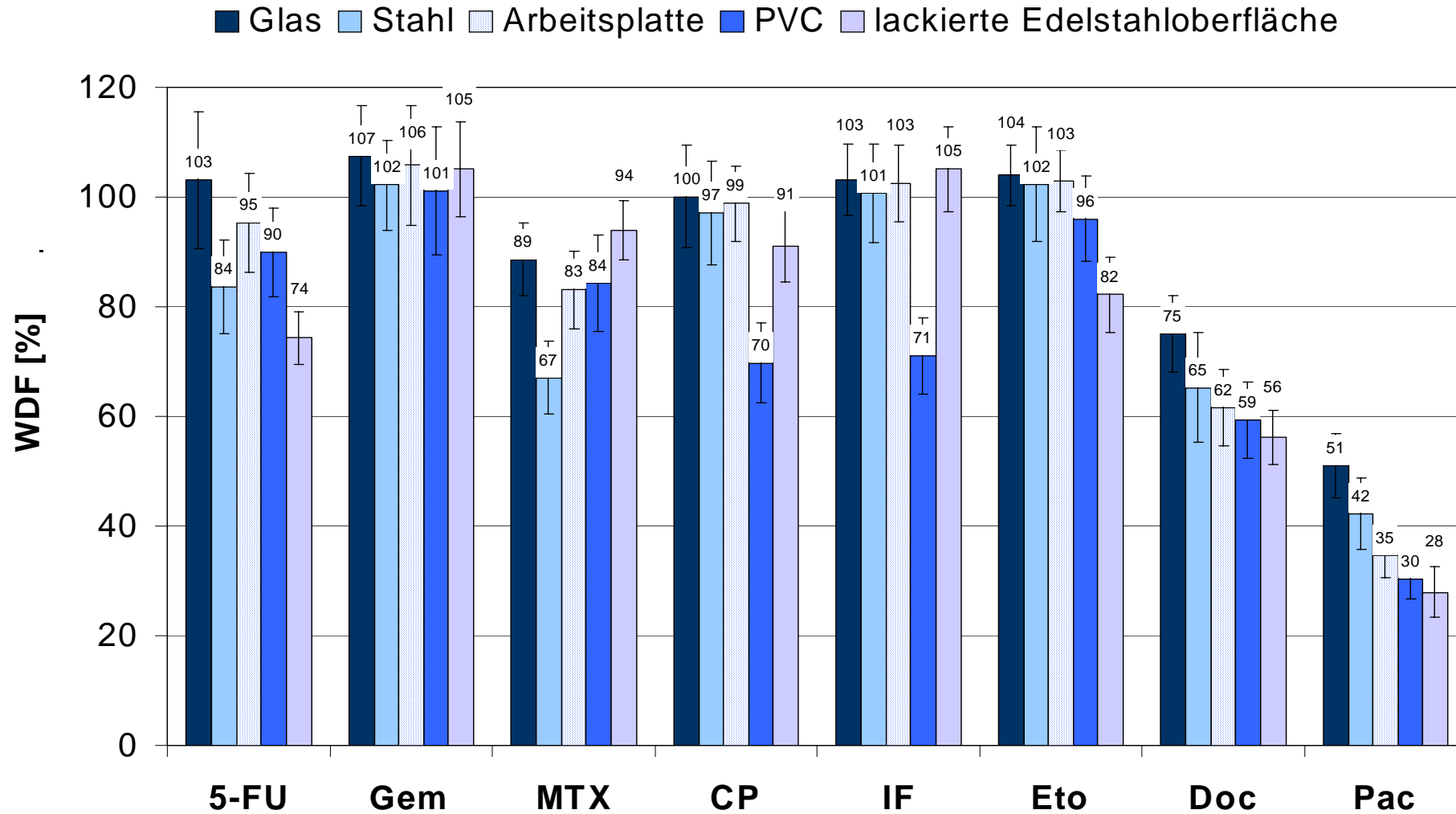
# Probenehmereinfluss (n = 28)



**Wiederfindungsraten:** Probenahme durch 28 verschiedene Personen (n=112, c= 10 ng/cm<sup>2</sup>)

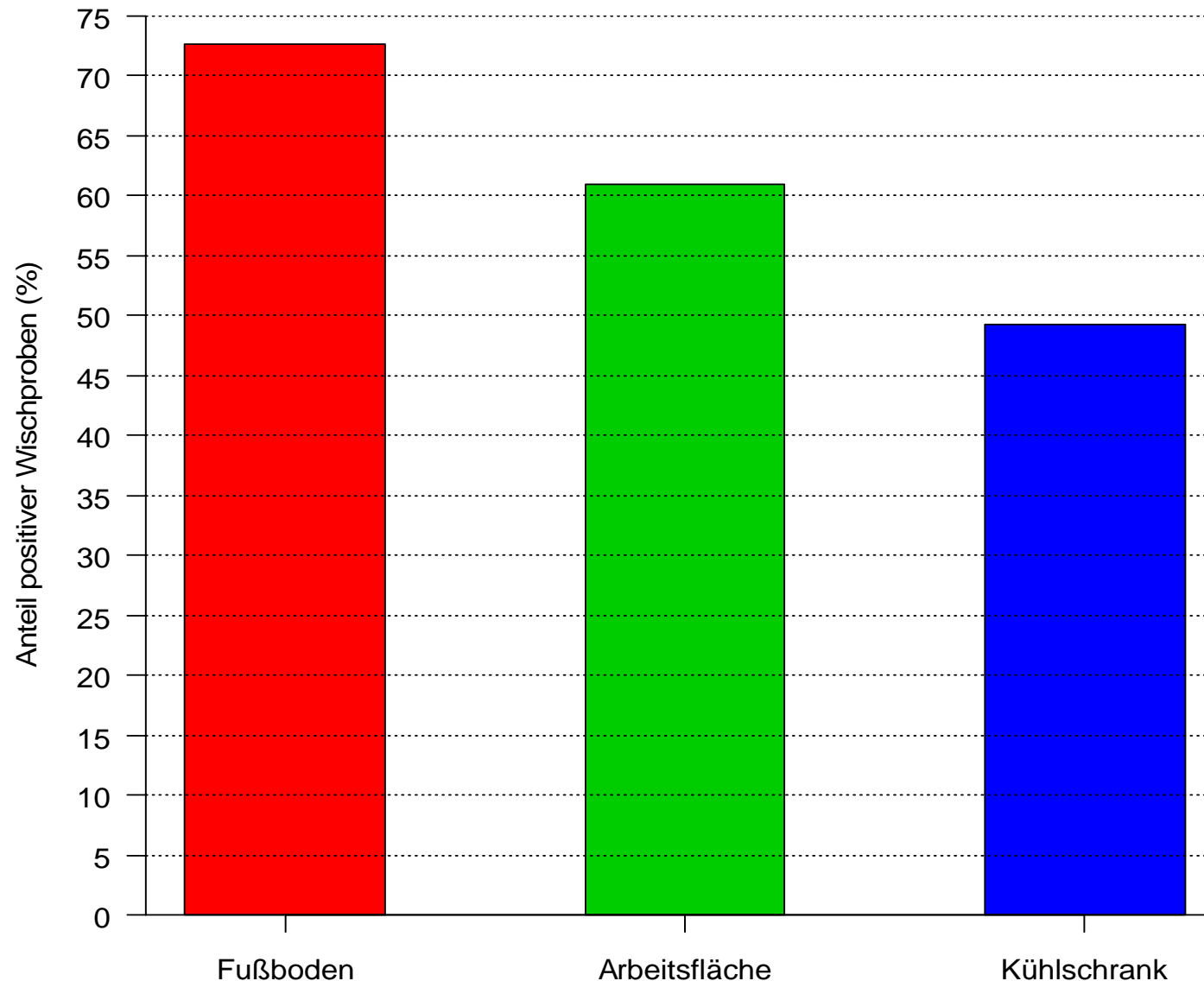
\*Etoposid: Messwerte von 13 Personen (n=50)

# Materialeinfluss (n=9, c= 10 ng/cm<sup>2</sup>)

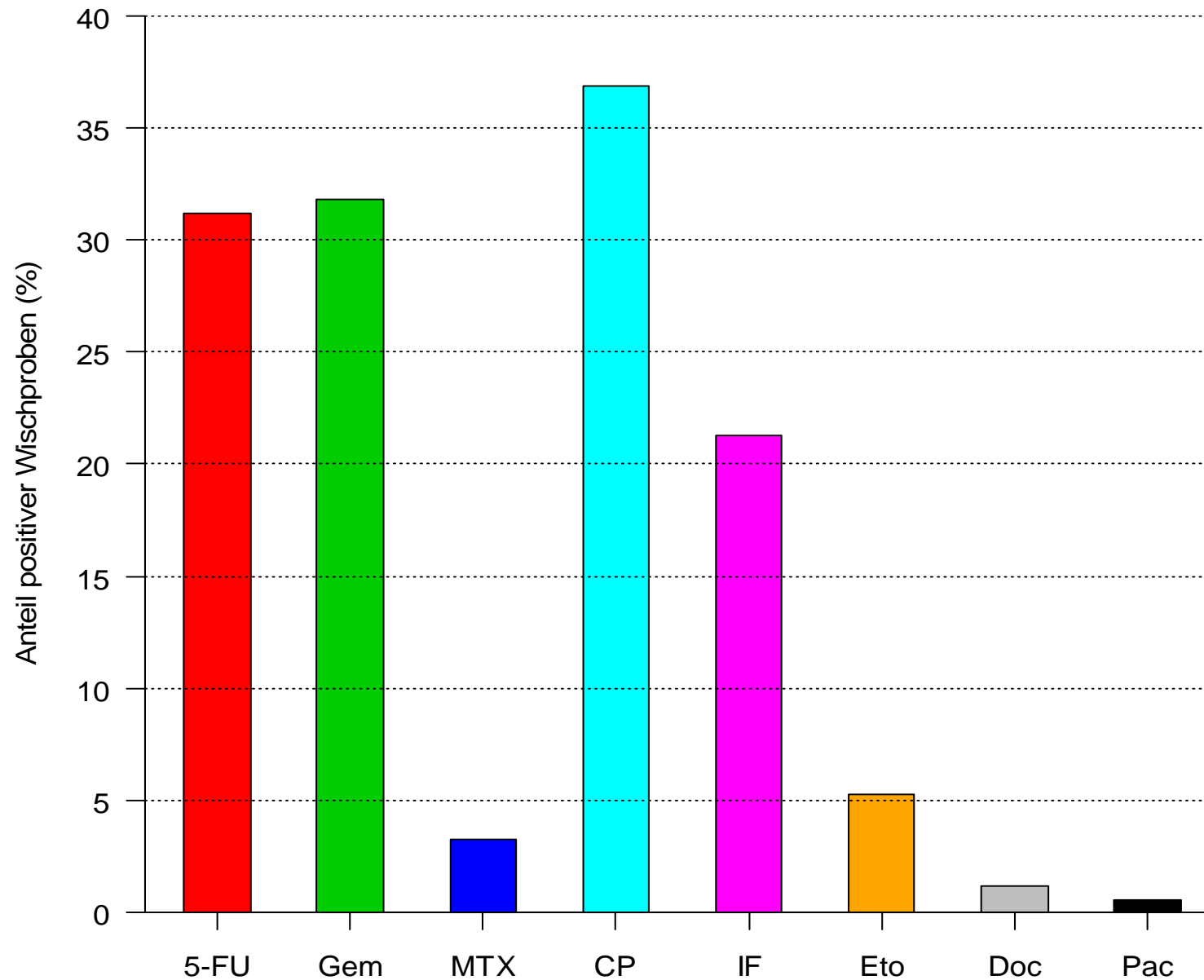




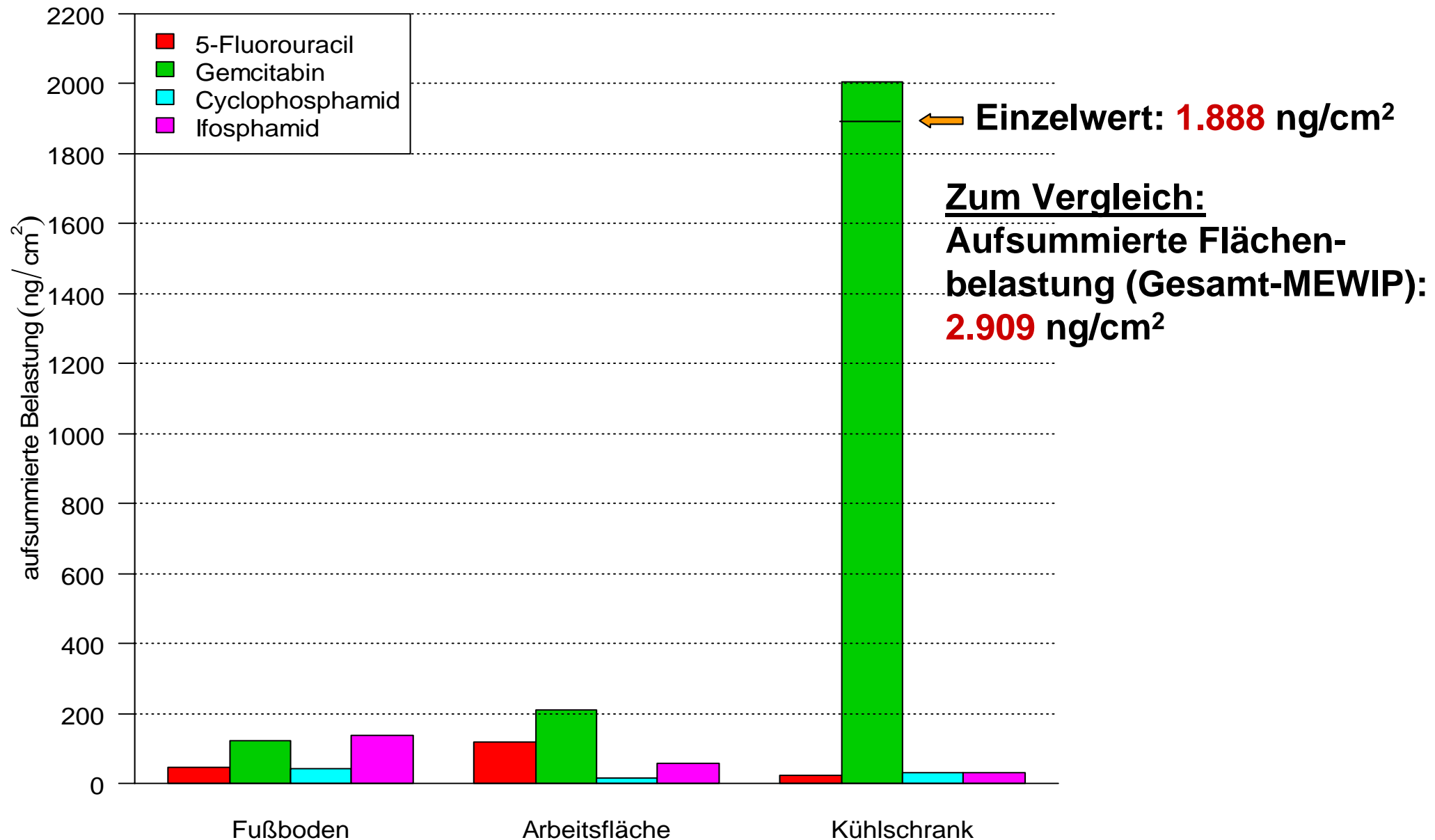
## Anteil positiver Proben nach Probenahmeort



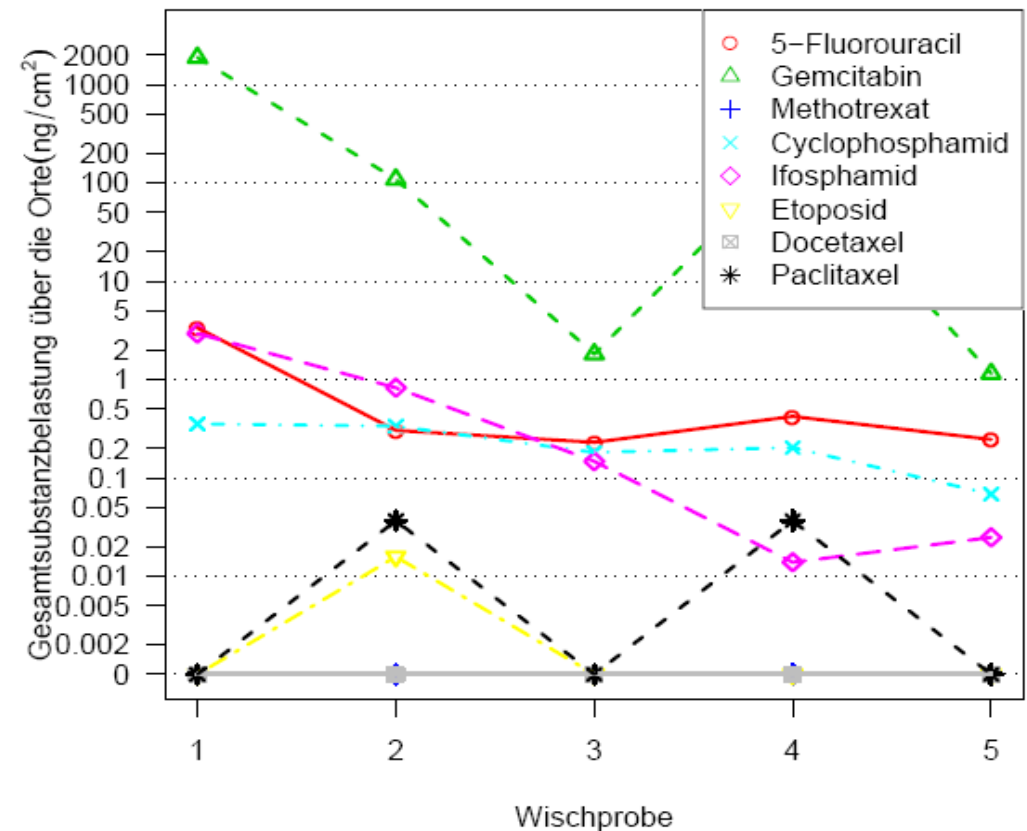
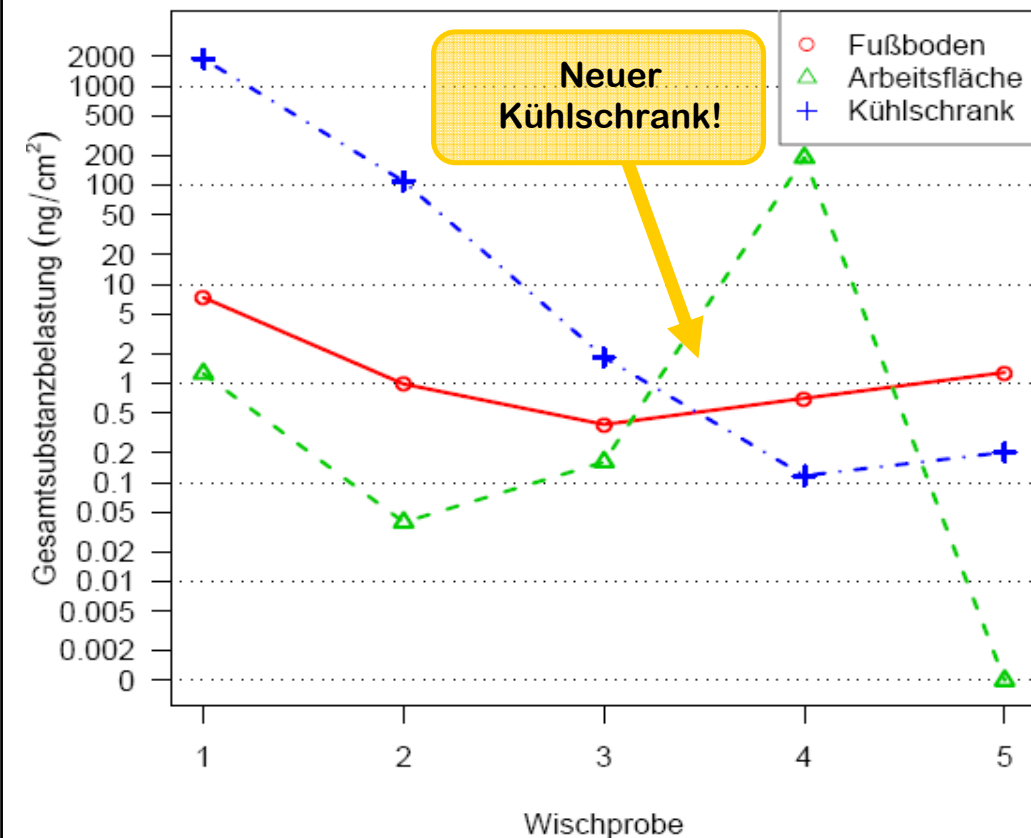
# Anteil positiver Wischproben nach Substanzen



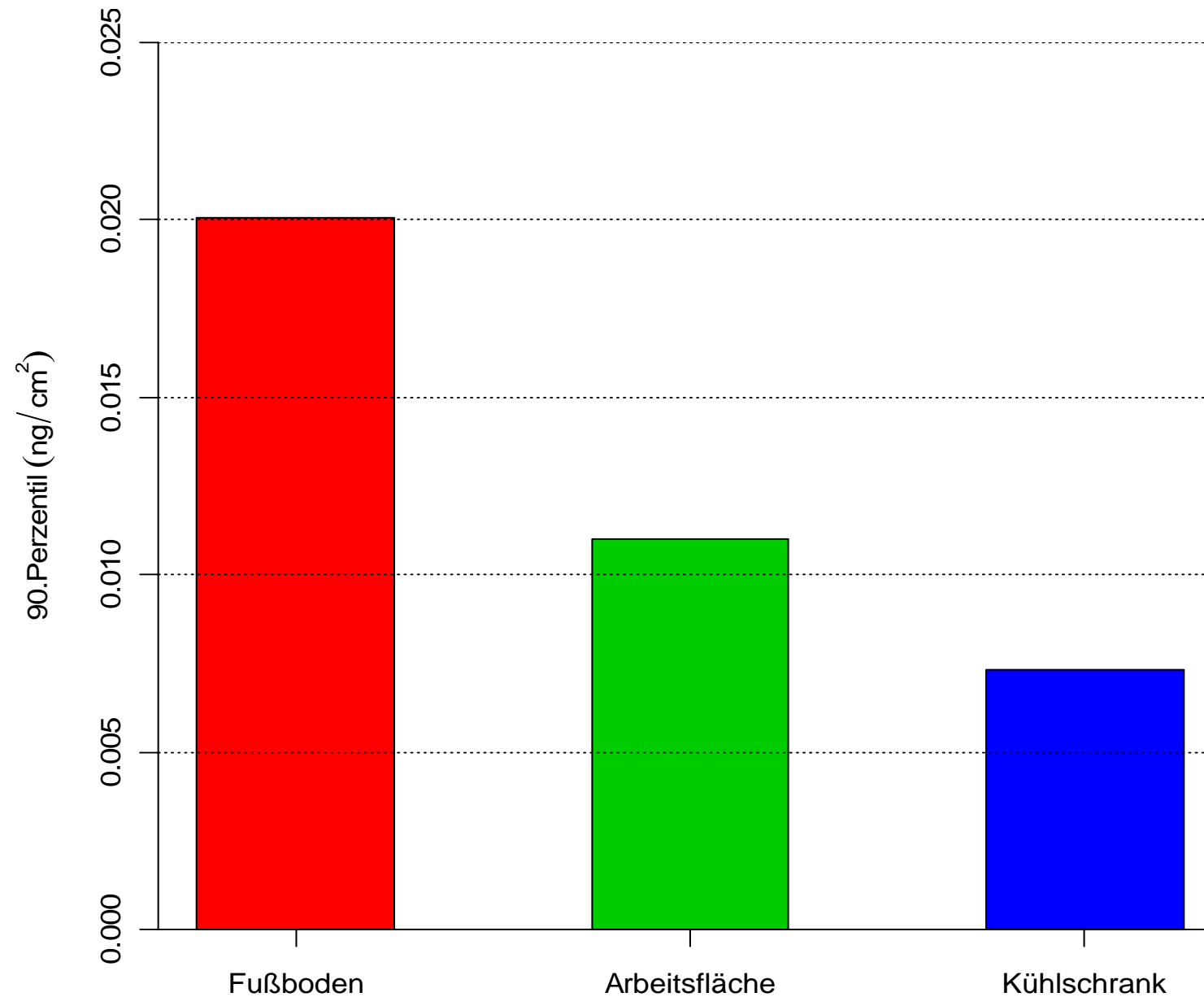
# Substanzspezifische Belastung n. Probenahmeort



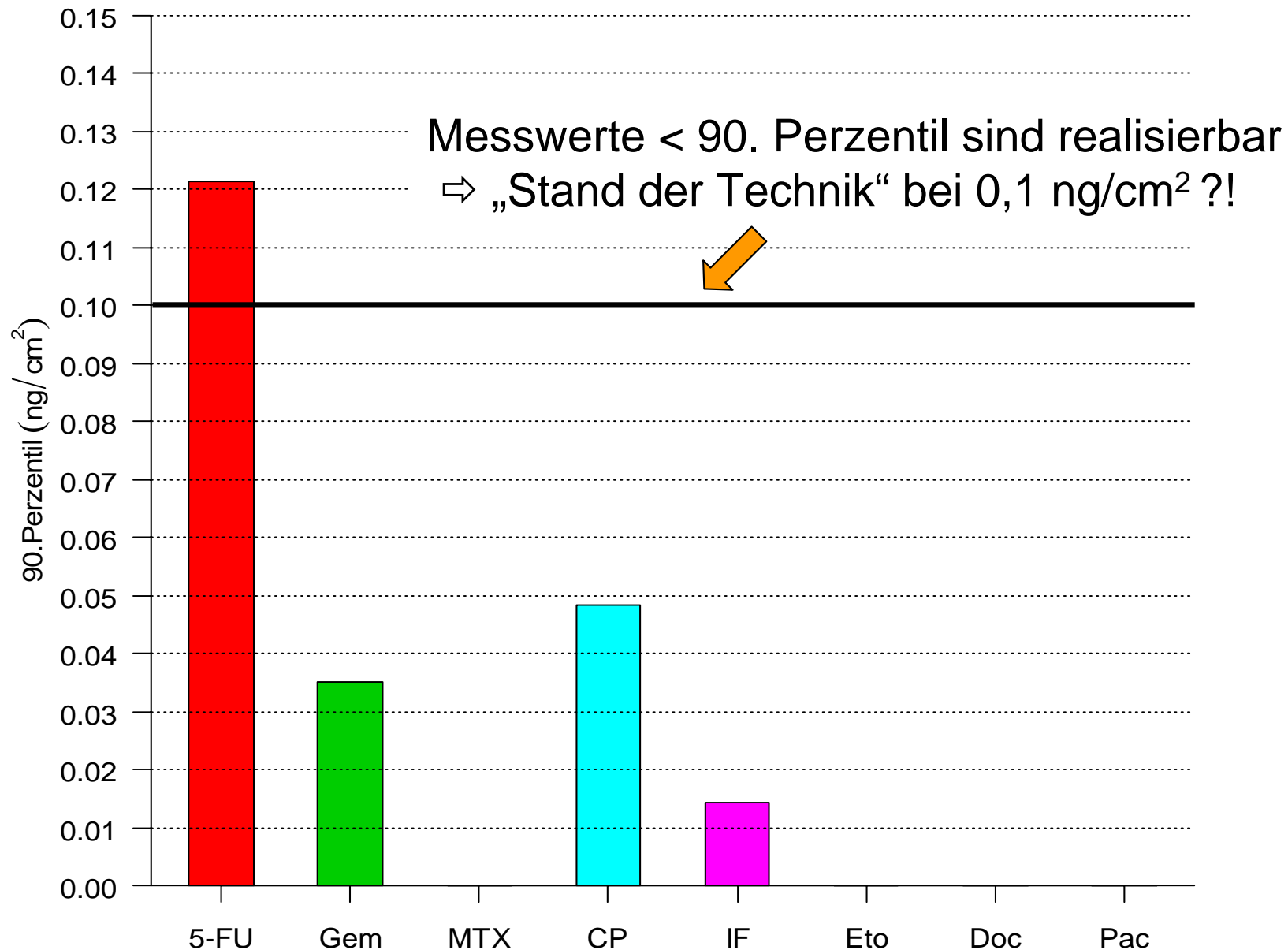
## Was beeinflusst das Kontaminationslevel?



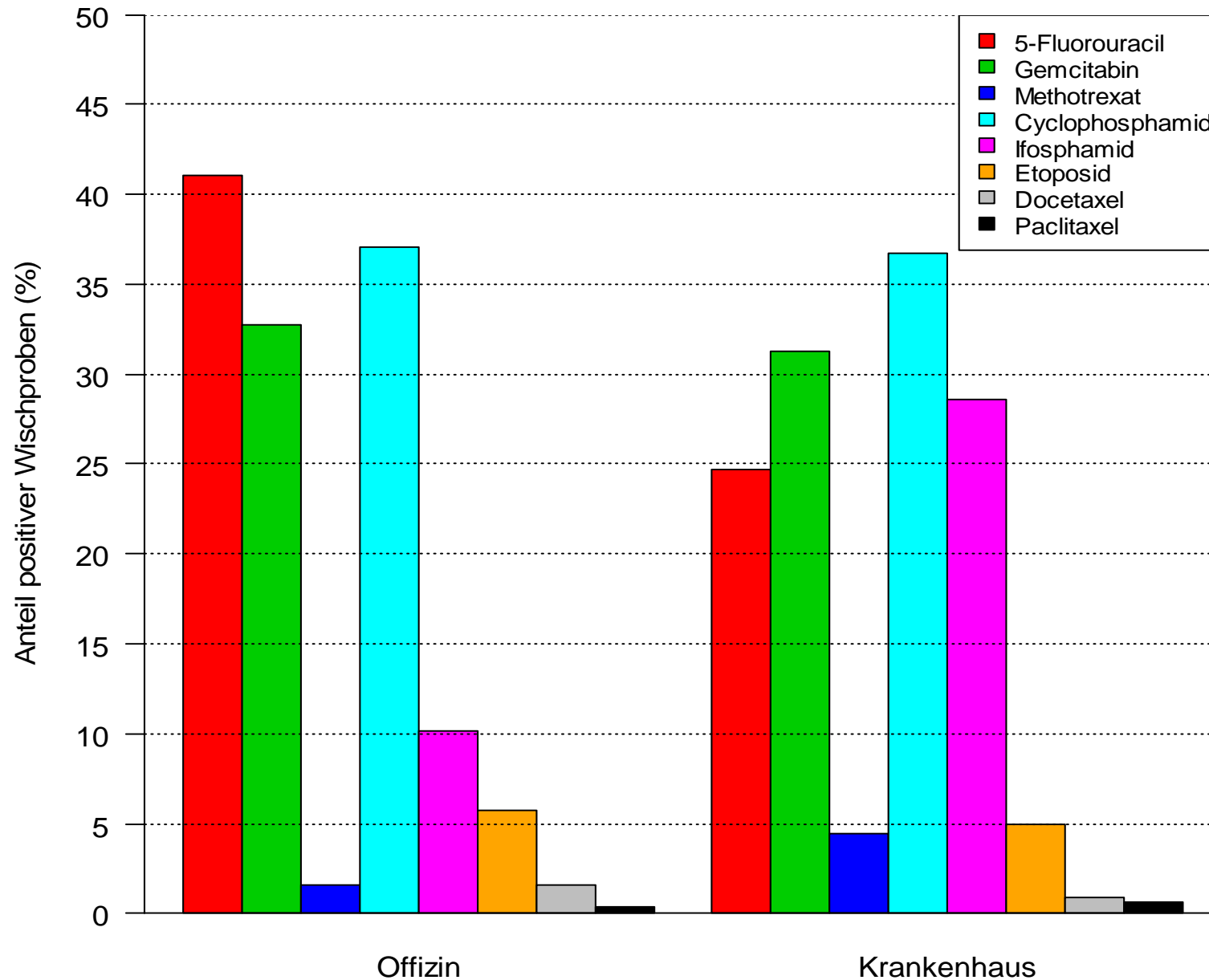
# 90. Perzentile nach Probenahmeort



# 90. Perzentil nach Substanzen

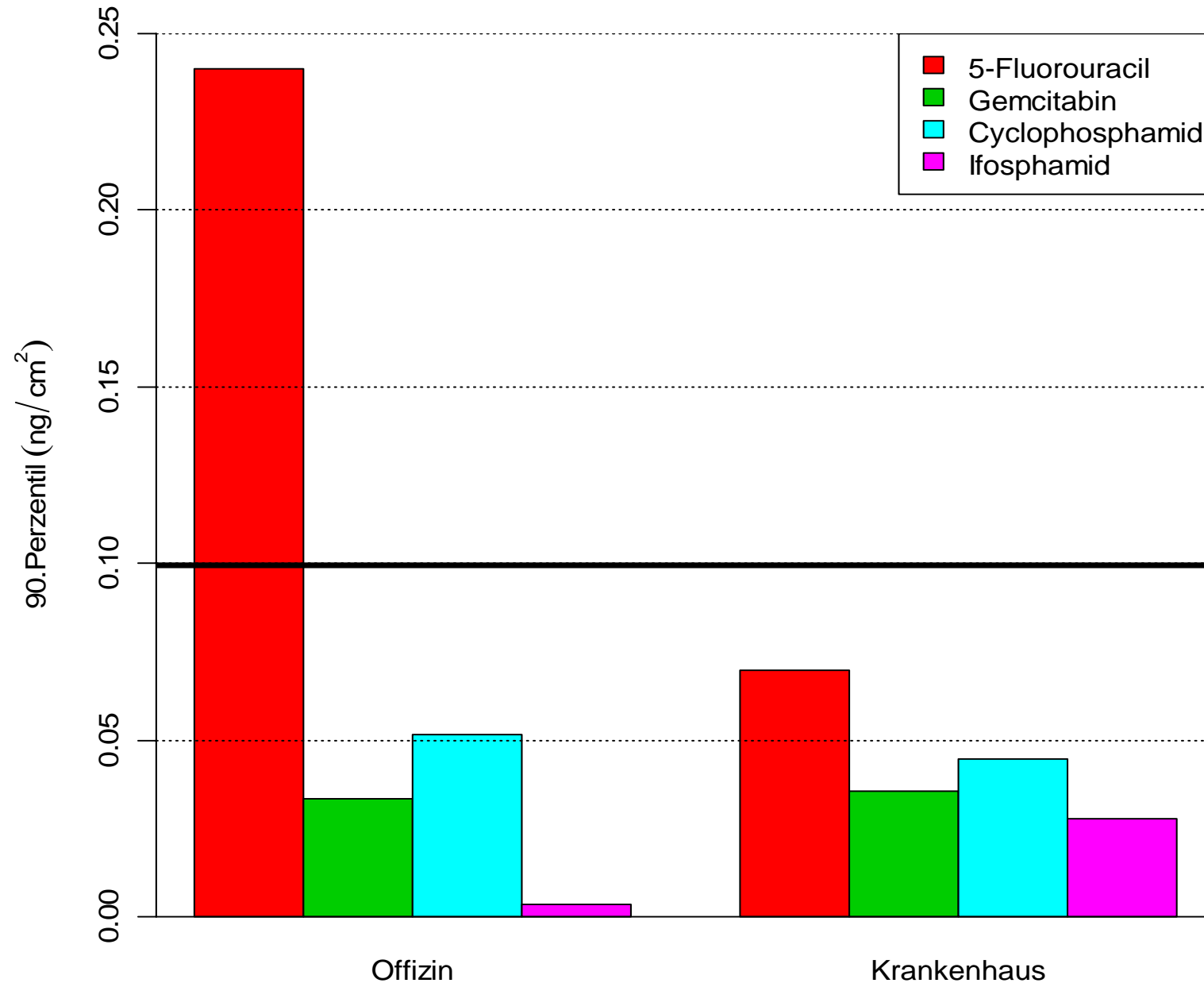


# Anteil positiver Wischproben nach Apothekenart

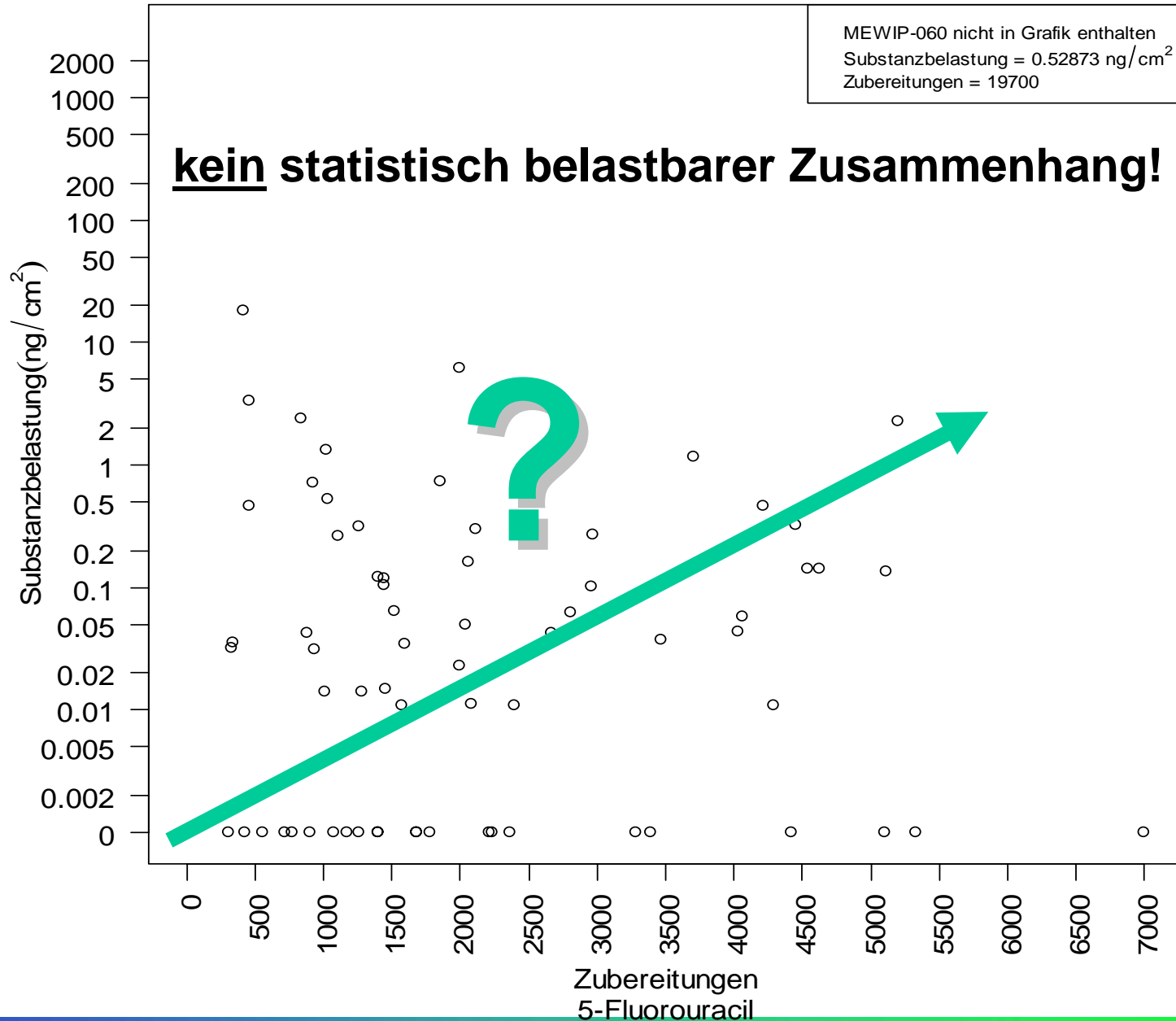




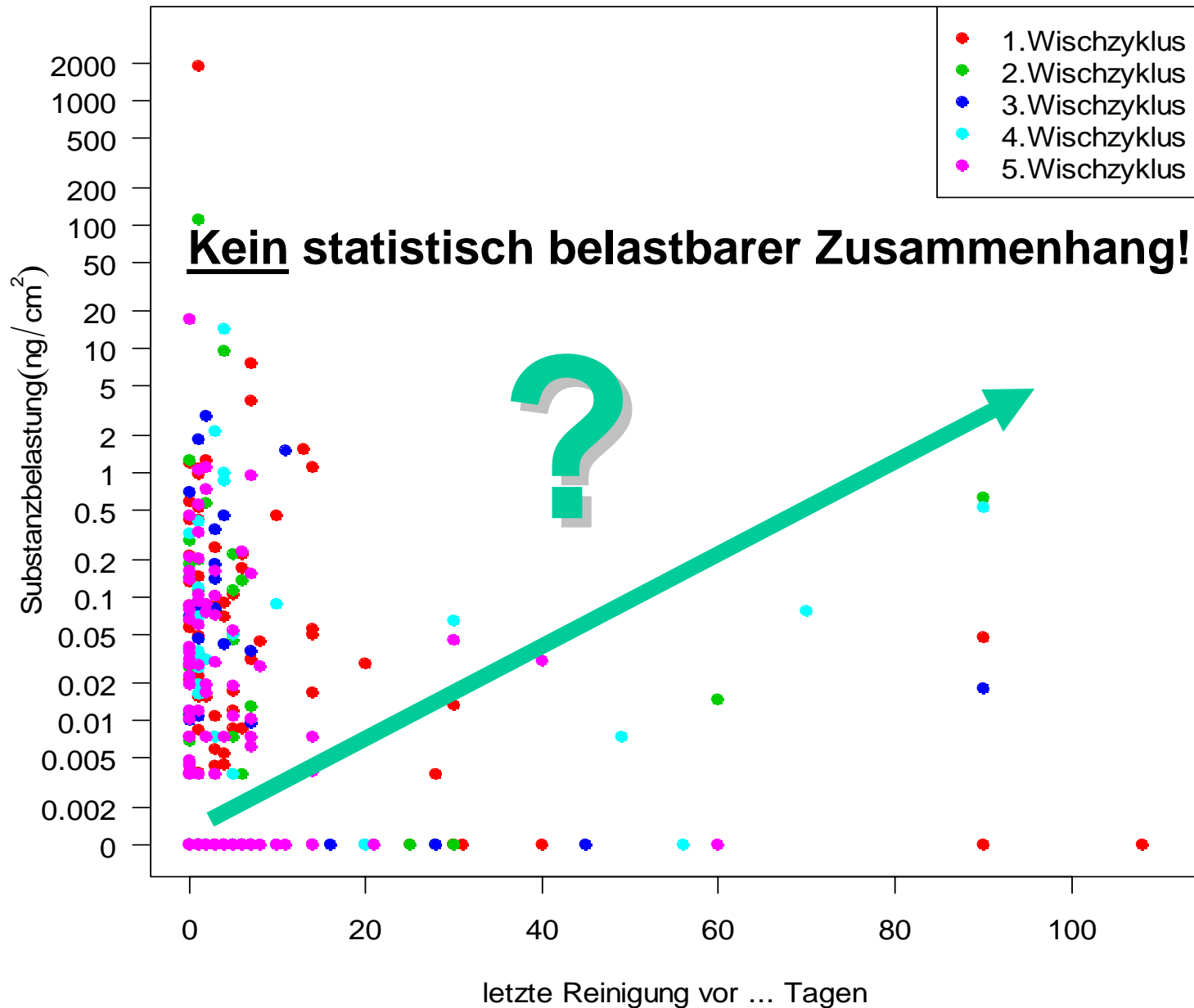
# 90. Perzentil nach Apothekenart



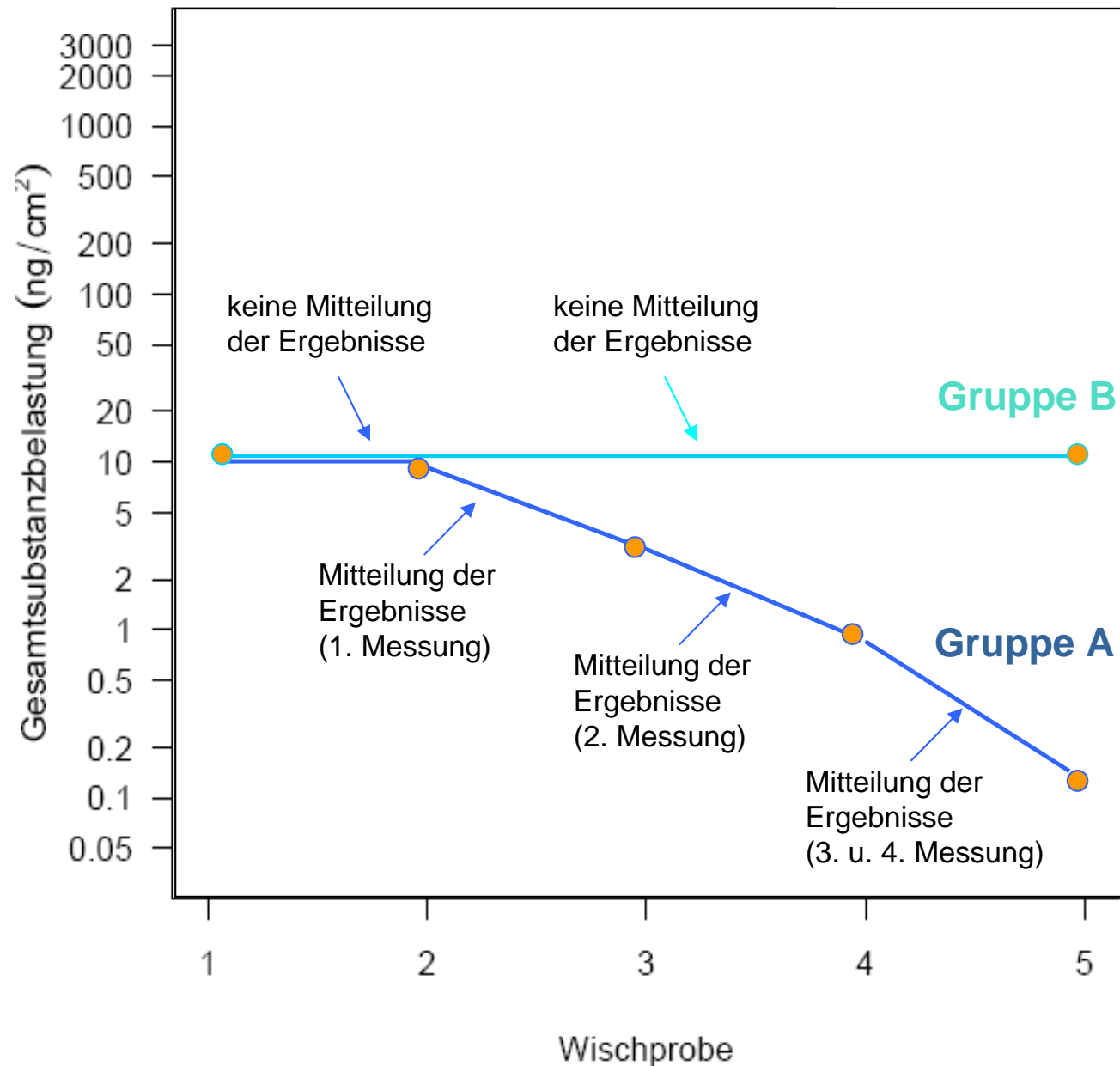
# Korrelation zur Zubereitungsanzahl (5-FU, 2006)?



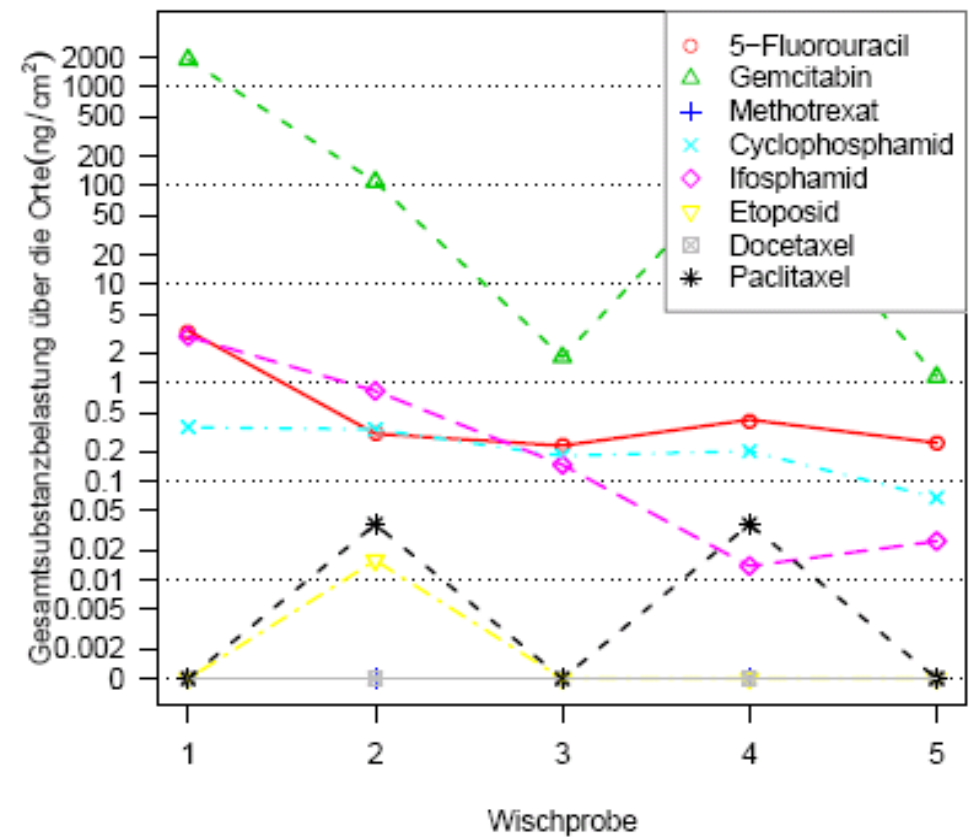
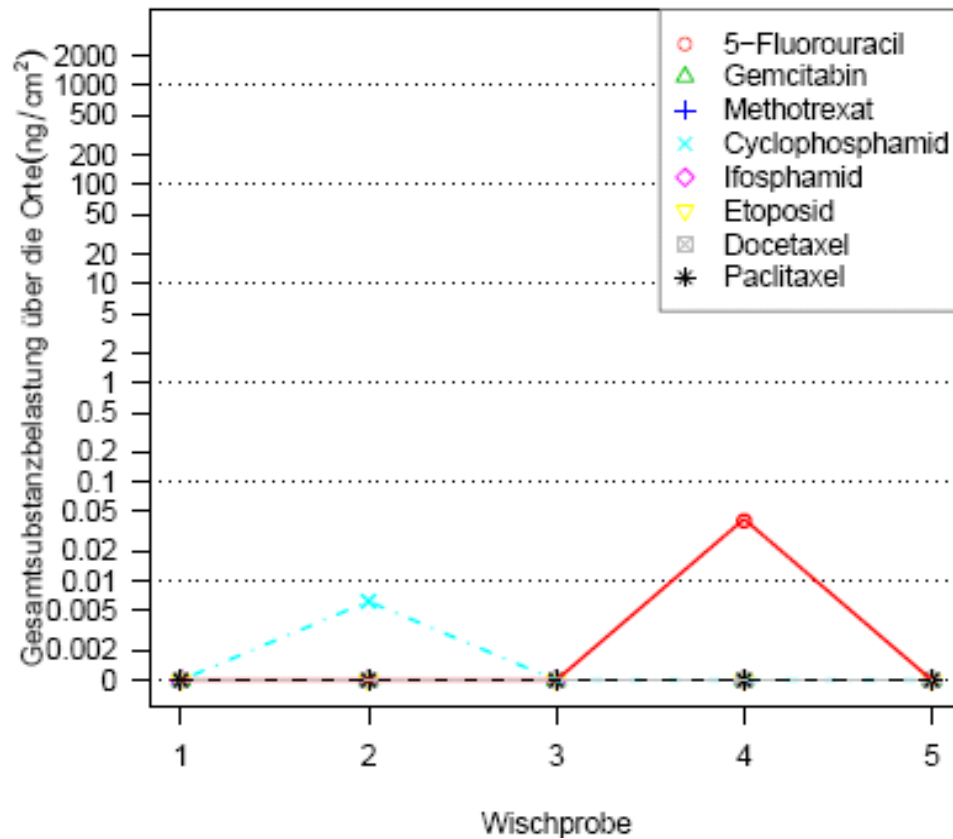
# Tag der letzten Reinigung (hier: Kühlschrank)



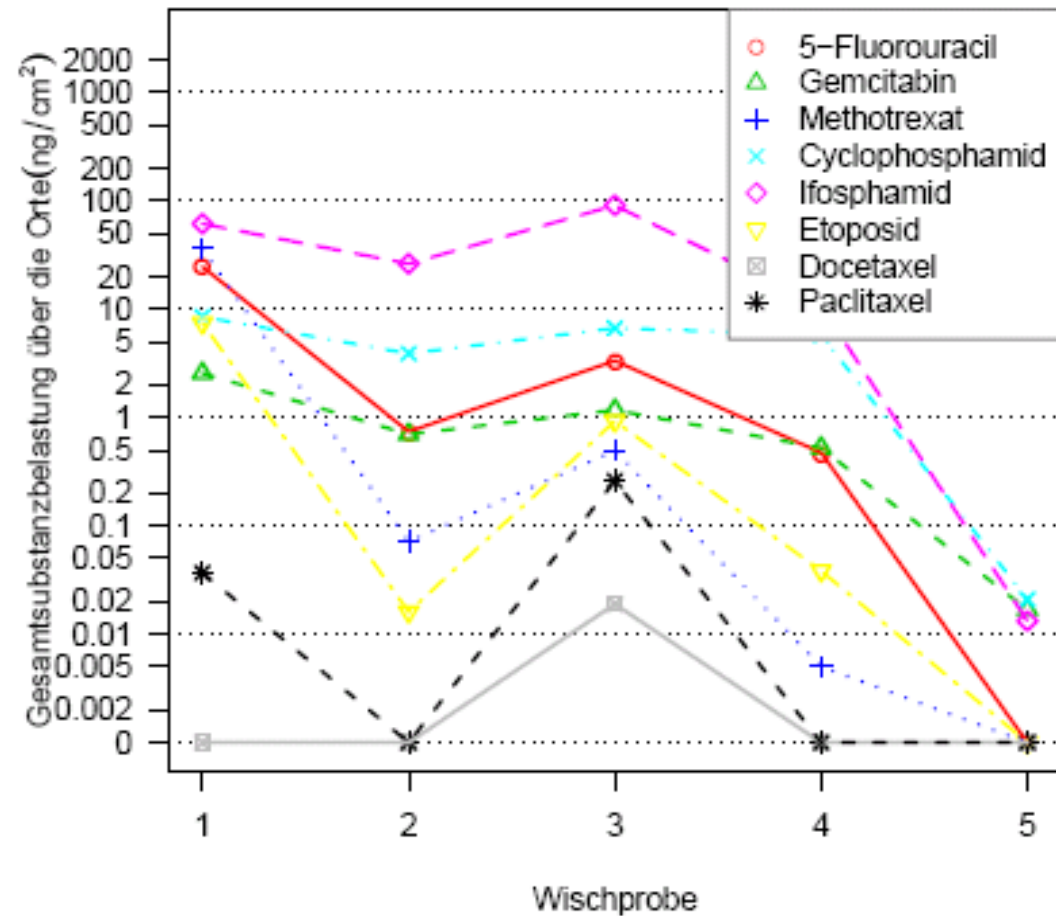
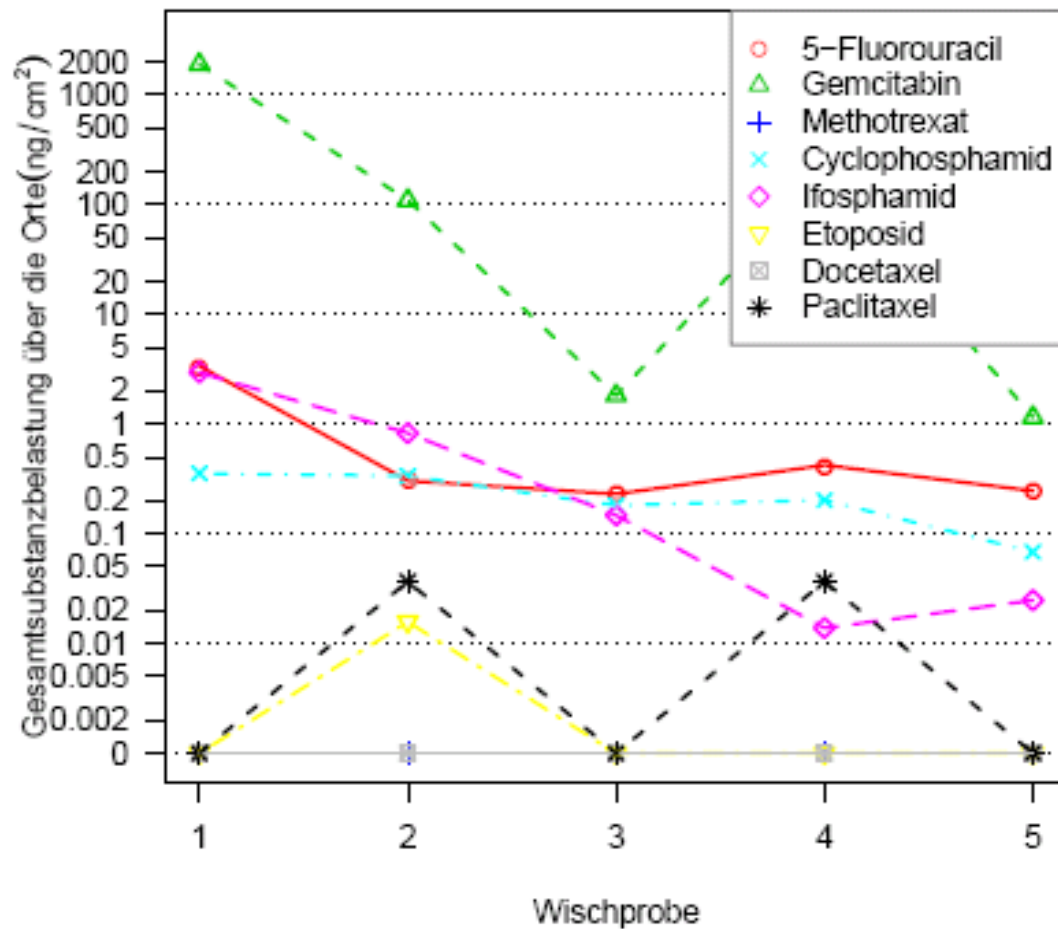
# Erwarteter Verlauf der Belastung



## „gute“ und „schlechte“ Apotheken

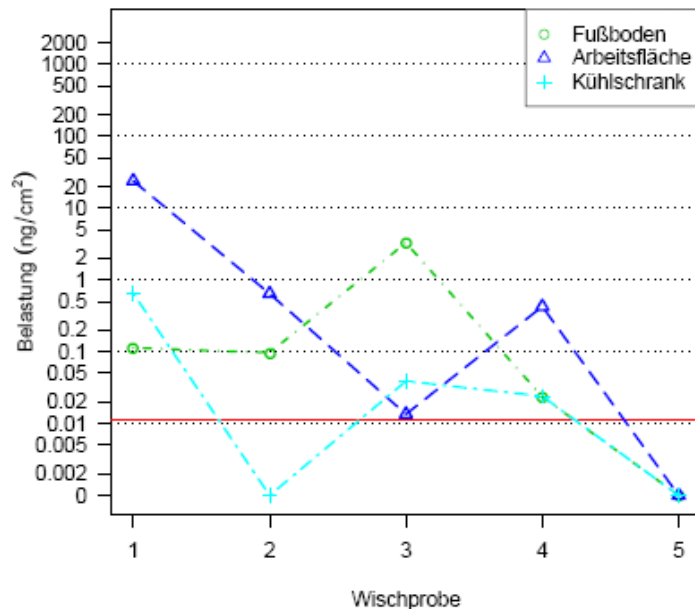


## Unterschiedlich „schlechte“ Apotheken

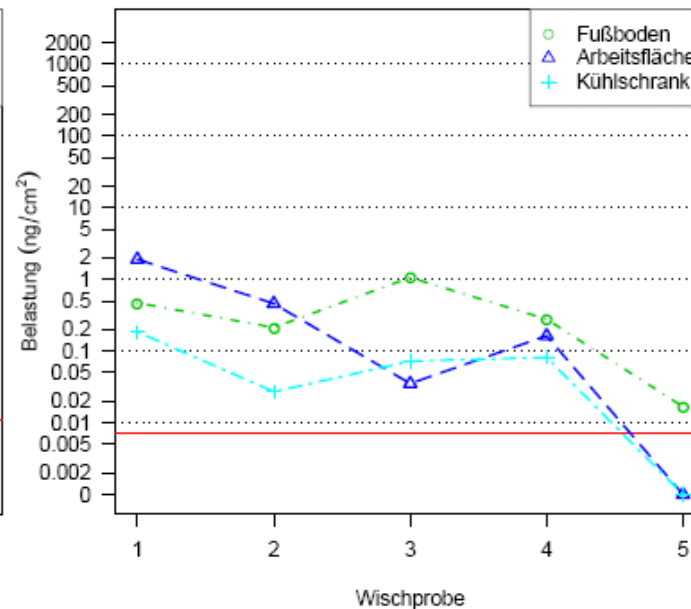


## Einzelverläufe für verschiedene Substanzen in einer Apotheke

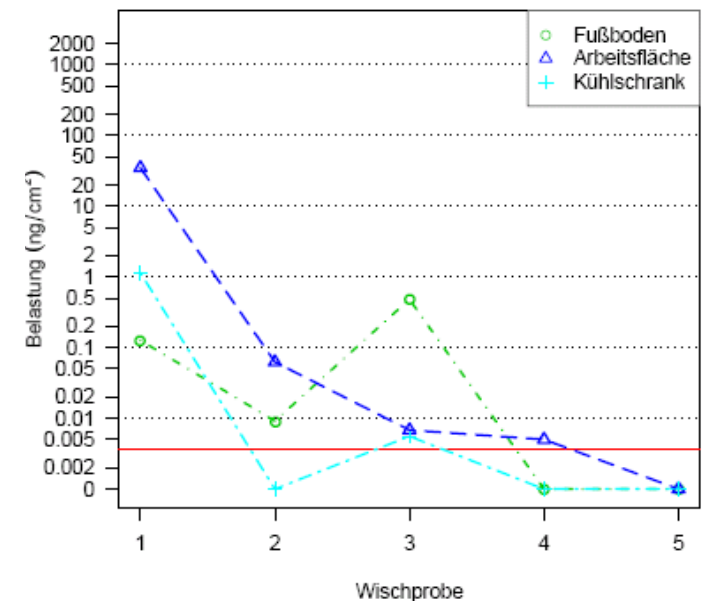
### 5-Fluorouracil



### Gemcitabin



### Methotrexat

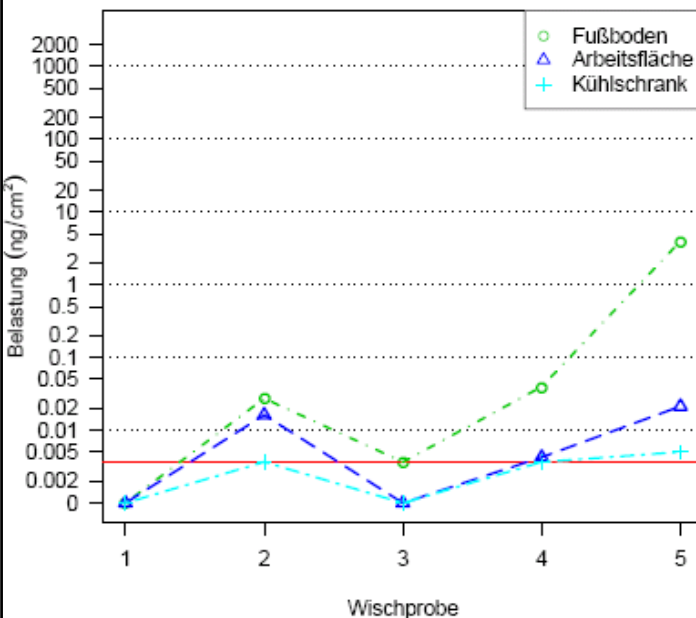


→ abnehmende Belastung = Bestätigung der Erwartung

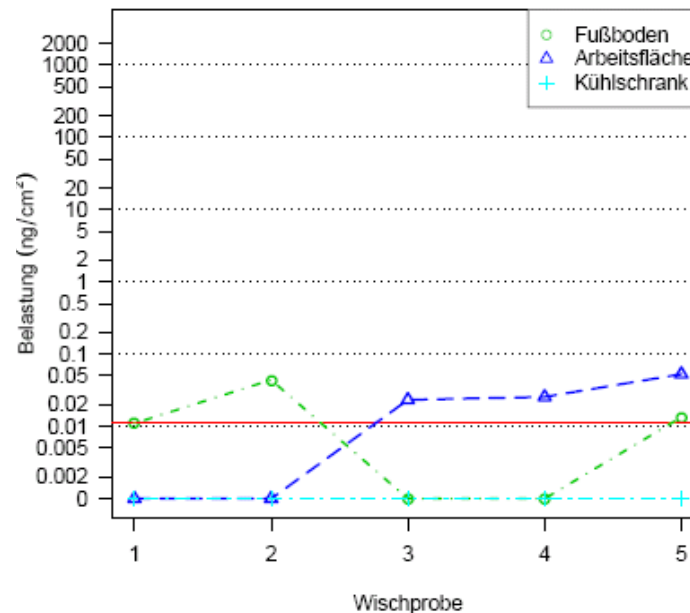


## Einzelverläufe in drei Apotheken

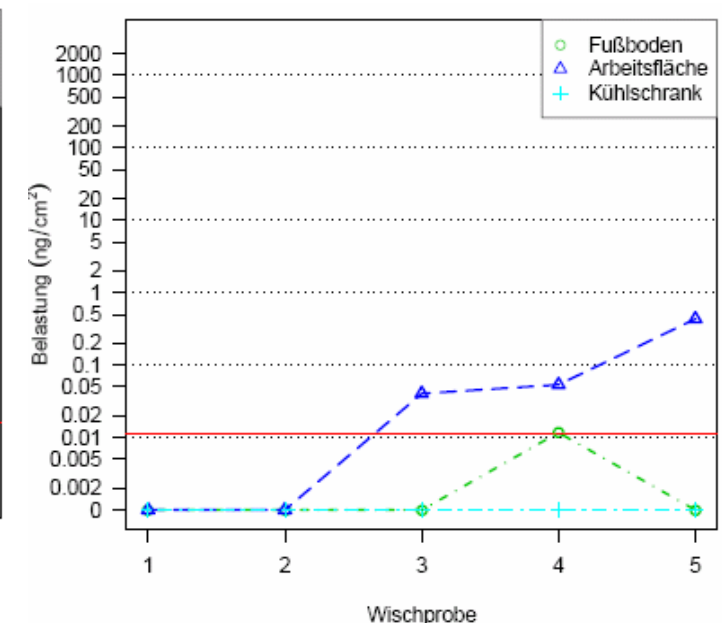
### Cyclophosphamid



### 5-Fluorouracil

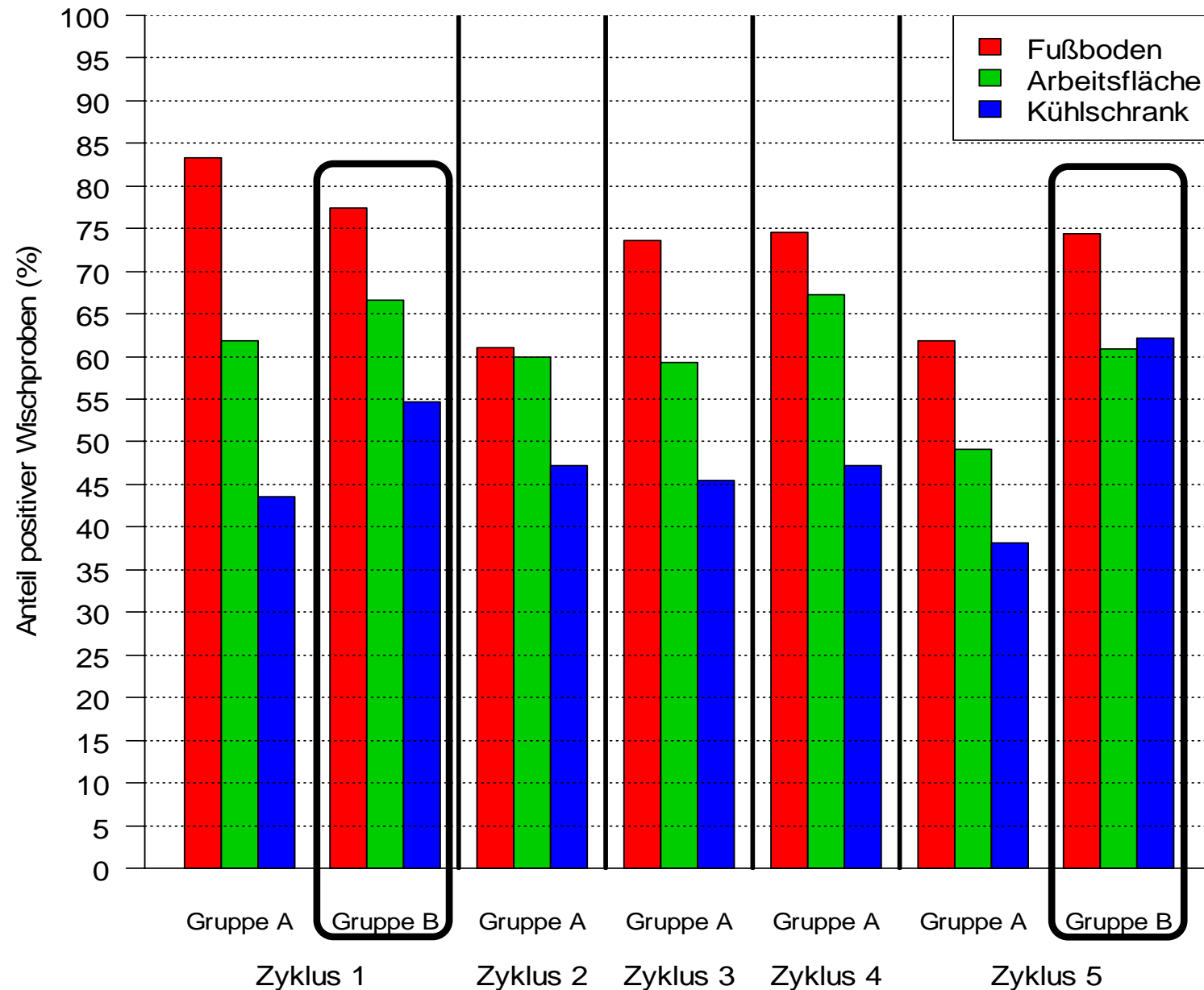


### 5-Fluorouracil

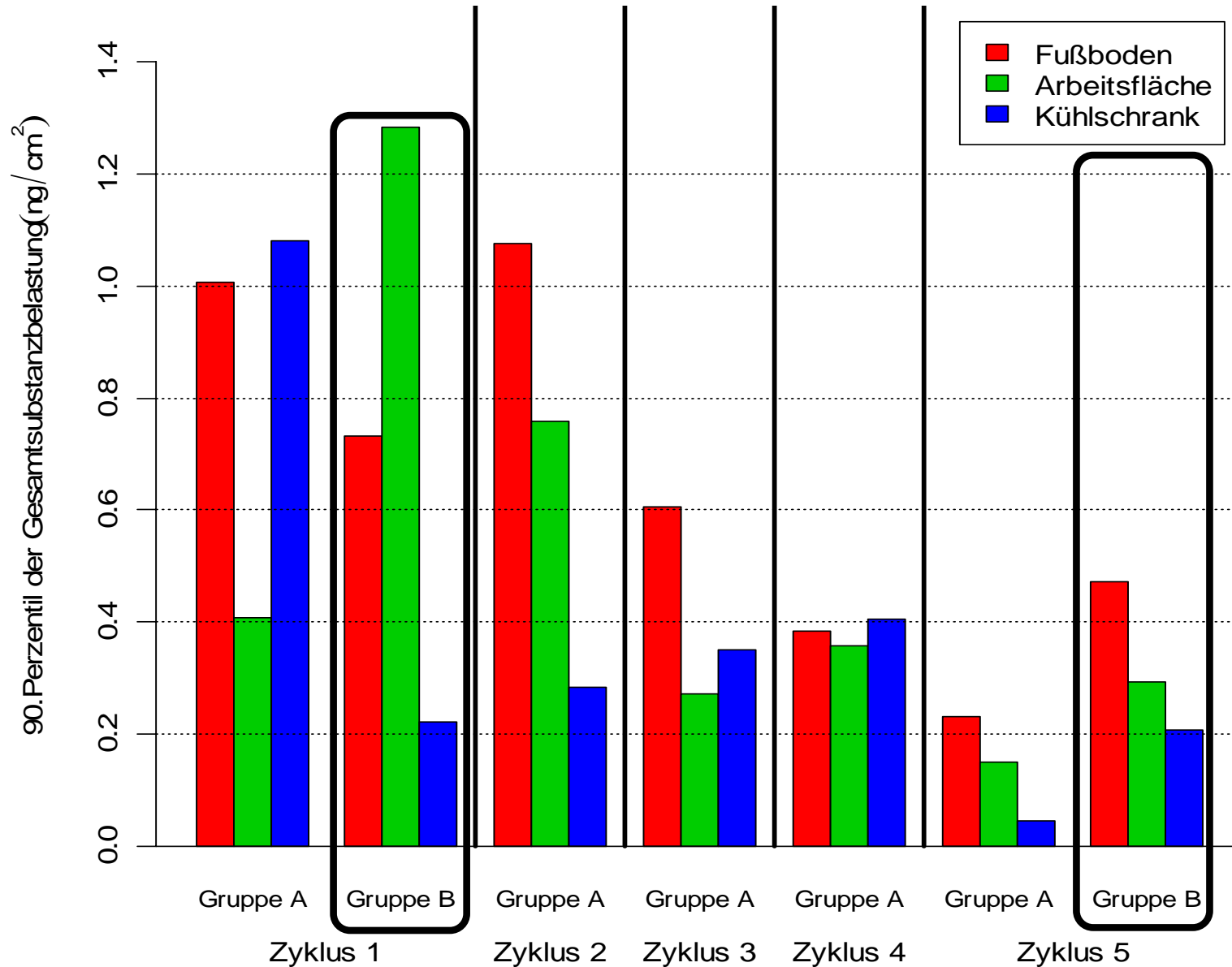


→ zunehmende Belastung entspricht nicht der Erwartung!

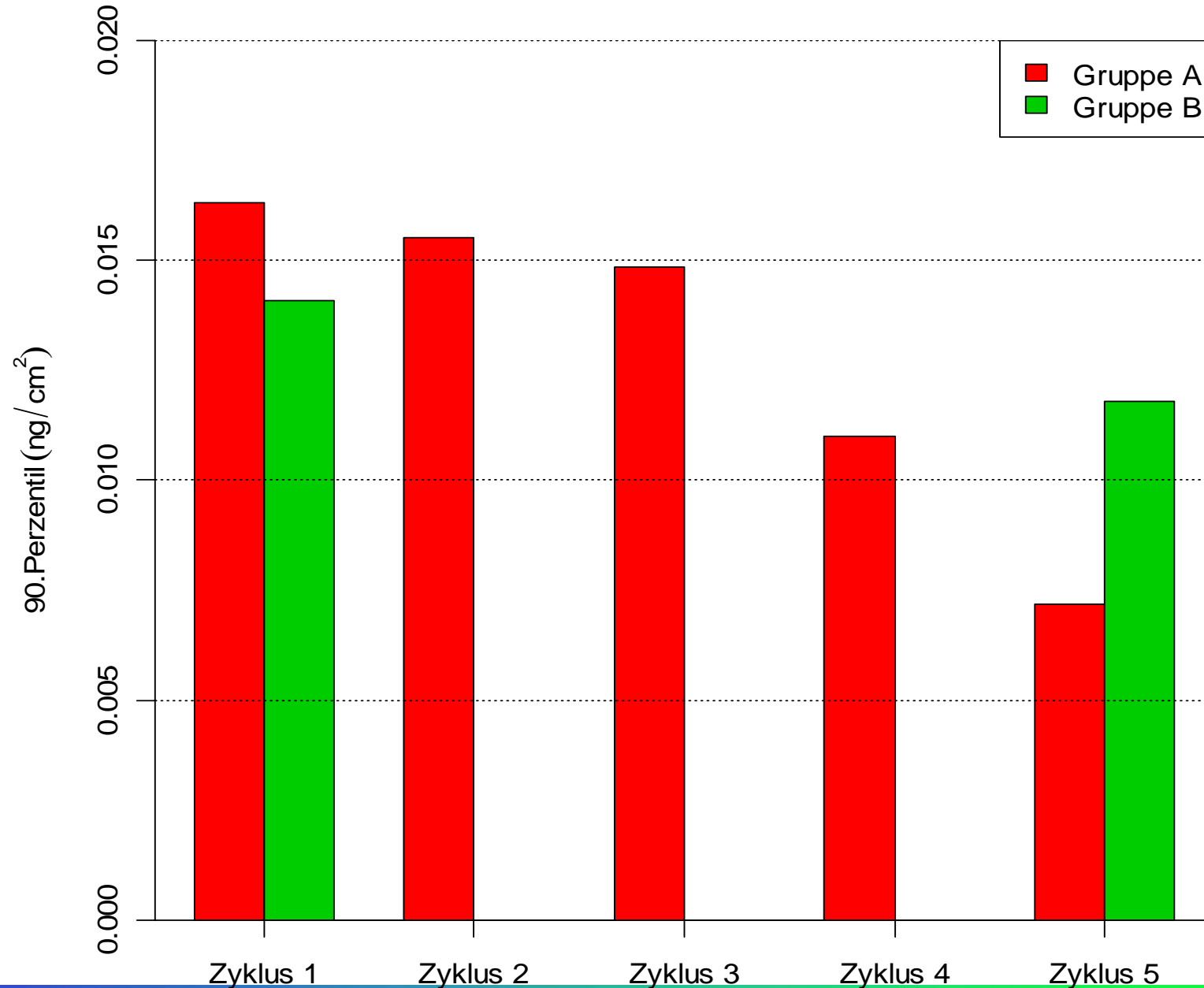
# Anteil positiver Wischproben nach Zyklus und Orten



# 90. Perzentil nach Zyklus, Gruppen und Orten



# 90. Perzentil nach Zyklus über alle Orte und Substanzen



- „Gute“ und „schlechte“ Apotheken **unterscheidbar**; gute Apotheken blieben meist während der gesamten Studie „sauber“
- 84 % (= 8.483) der **Messwerte** unterhalb der Nachweisgrenze, max. 1.880 ng/cm<sup>2</sup> Gemcitabin
- Verteilung der **positiven Proben**:  
Boden > Arbeitsflächen > Kühlschrank  
5-FU/CP/Gemcitabin > Ifosphamid > Etop./MTX > Paclitaxel ≈ Docetaxel
- **kein Unterschied** zwischen Krankenhaus- und Offizinapotheken
- Messwerte < 0,1 ng/cm<sup>2</sup> sind erreichbar („**Stand der Technik**“?!)
- Abnahme positiver Messwerte vom 1. zum 5. Zyklus in Gruppe A bei 5-FU und CP („**Monitoring-Effekt**“)

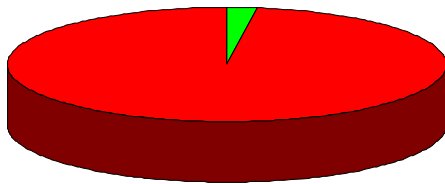
- **keine Korrelation** zur gemessenen Umgebungsbelastung:
  - Zubereitungsmenge
  - Anzahl Zubereitungen
  - Tag der letzten Reinigung
- eine gewisse **Korrelation** ist zu erkennen bei:

Merkmal	positiver Einfluss
Desinfektionsart	Wischdesinfektion (CP in B-Gruppe, explorativ signifikant)
Desinfektionsgrad	Desinfektion (CP in B-Gruppe explorativ signifikant)
Abluftsystem	Fortluftbetrieb (Tendenz erkennbar; aber nicht statistisch signifikant)

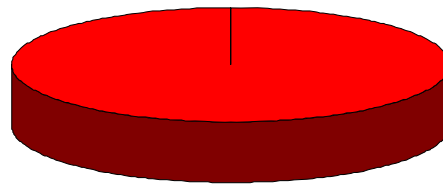


- **Entwicklung von neuen LC-MS/MS - Methoden zur Bestimmung von Arzneimitteln im Arbeitsschutz**
  - Einzelmethoden für Zytostatika
  - Multimethoden für Zytostatika und Antibiotika
  - Höhere Aussagekraft durch Multimethoden  
→ Integration der Pt-Species-Analytik
- **Wischproben sind als Monitoringverfahren im Sinne der GefStoffV (§11, Abs. 2) geeignet**
- **Bildung von Orientierungswerten auf Basis statistischer Auswertungen wie z.B. dem 90. Perzentil möglich**

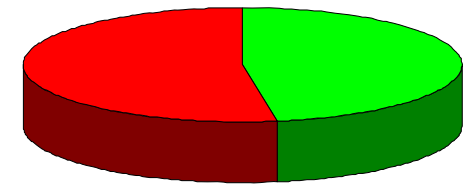
- **Erstmaligen Untersuchung der Belastungssituation beim Umgang mit Antibiotika**



**98 % Flächen**



**100 % Textilien**



**52 % Mitarbeiter**

- **Korrelationen zur Exposition feststellbar!**
  - Weitere Studien und Entwicklung von Minderungsmaßnahmen notwendig
  - Langzeiteffekte durch subtherapeutische Belastungen?
  - Bildung von Antibiotikaresistenzen?

- **Etablierung des vorgeschlagenen Orientierungswertes von 0,1 ng/cm<sup>2</sup>**
- **Europäische Vergleichsuntersuchungen**
- **Routinemessungen zur Qualitätssicherung und Prozessvalidierung**
- **Ausweitung der Messungen**
  - Ambulanzen, Pharmaindustrie, Stationen, Veterinärmedizin etc.
  - weitere Substanzen (CMR-Stoffe, Antibiotika etc.)
- **Wirkungsbezogene Untersuchungen**
  - Korrelation zwischen Bio- und Umgebungsmonitoring
  - Toxikologische Betrachtungen

Vielen Dank für Ihre  
Aufmerksamkeit!!!

Weitere Informationen:

E-Mail: [tuerk@iuta.de](mailto:tuerk@iuta.de)

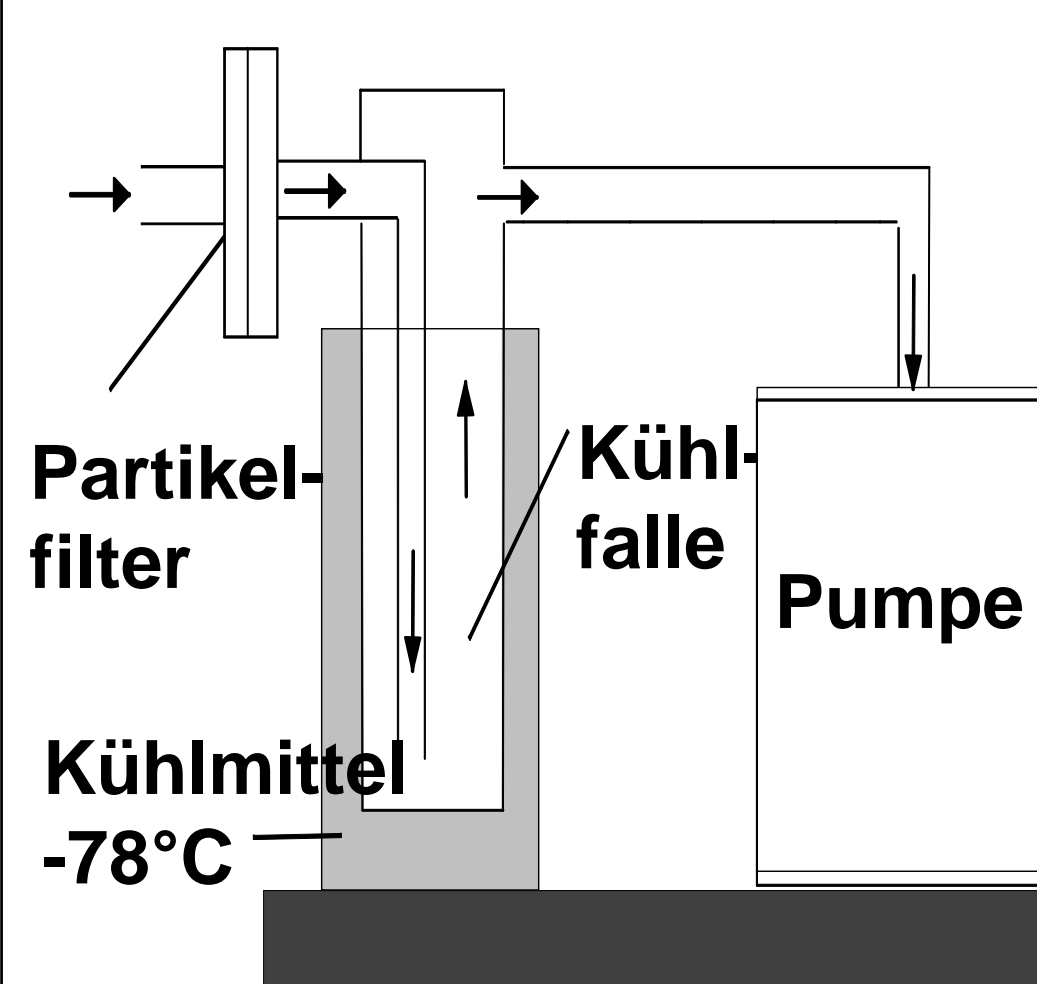
[www.iuta.de](http://www.iuta.de)

[www.Pharma-Monitor.de](http://www.Pharma-Monitor.de)



Arzneimittelgruppe	krebserzeugend	fruchtschädigend	fortpflanzungs- gefährdend
Anabolika	X	X	X
Antibiotika	X		X
Glukocorticoide		X	X
Monoklonale Antikörper		X	
Steinkohlenteerdestillate	X		
Steroidhormone, Andro- gene, Estrogene etc.	X	X	X
Virustatika			X
Zytostatika	X	X	X

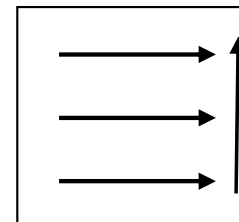
➡ Nicht alle Arzneimittel einer Gruppe haben die angegebenen Eigenschaften!



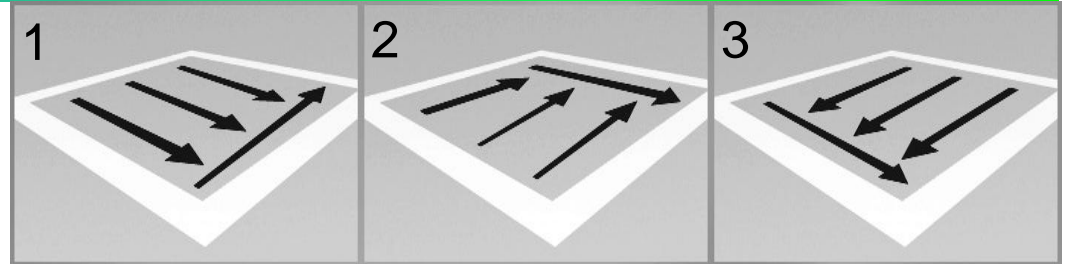


# Probenahme I

1. Probenahme-Set auspacken
2. Dokumentationsblätter ausfüllen
3. Fläche markieren, Dokumentation
4. (Probengefäße beschriften)
5. Wischtücher aus dem PE-Gefäß entnehmen
6. 1 mL der Probenahmelösung (pH 3) auf **ein** Wischtuch geben
7. Fläche gleichmäßig in eine Richtung abwischen
8. Tuch in das Probenahmegefäß zurückgeben



9. Wischvorgang mit den beiden anderen Tüchern wiederholen, dabei Wischrichtung variieren!



10. Handschuhe nach jeder Probenahme wechseln
11. Nächste Probenahme durchführen (s. Punkte 4-9)
12. Gefrorenen Kühlakku zusammen mit den Proben und den Dokumentationsblättern in die Transportbox geben
13. Proben sicher verpackt und **gekühlt am selben Tag** per Kurierdienst an IUTA senden  
(ggf. über Nacht einfrieren und dann gekühlt versenden)