



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
**D U I S B U R G
E S S E N**

- **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

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 ²
Technikumsfläche	4.000 m ²
Umsatz	ca. 6,4 Mio €

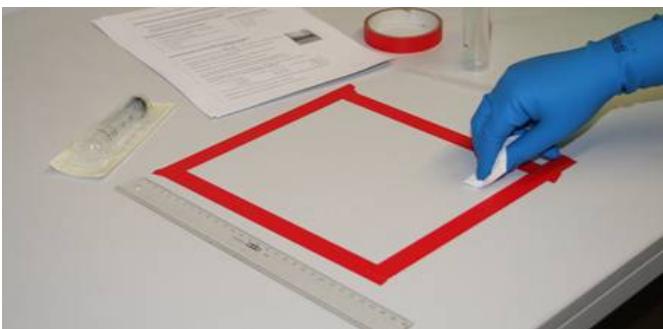
UT 4: Umwelthygiene & Analysentechnik

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



S2: Forschungs-Analytik

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, reproductionstoxisch
 - **Eingruppierung in Schutzstufe 3 und 4 der GefStoffV**
- **Antibiotika**
 - teilweise auch toxisch
 - (z.B. Chloramphenicol, Ciprofloxacin)
 - sensibilisierend und allergieauslösend
 - **Resistenzproblematik**

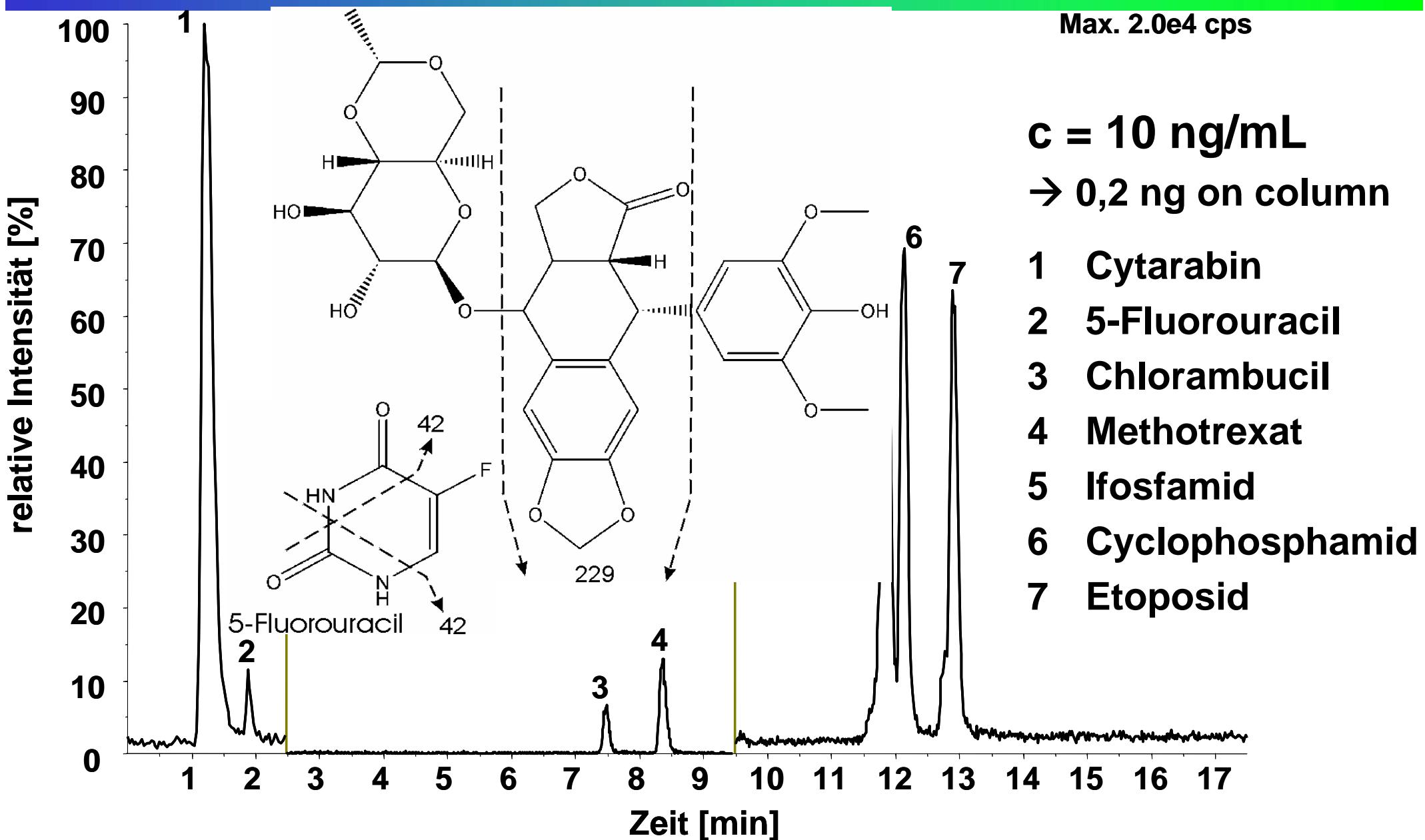
Monitoringverfahren

- **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

Analysenverfahren

- **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)



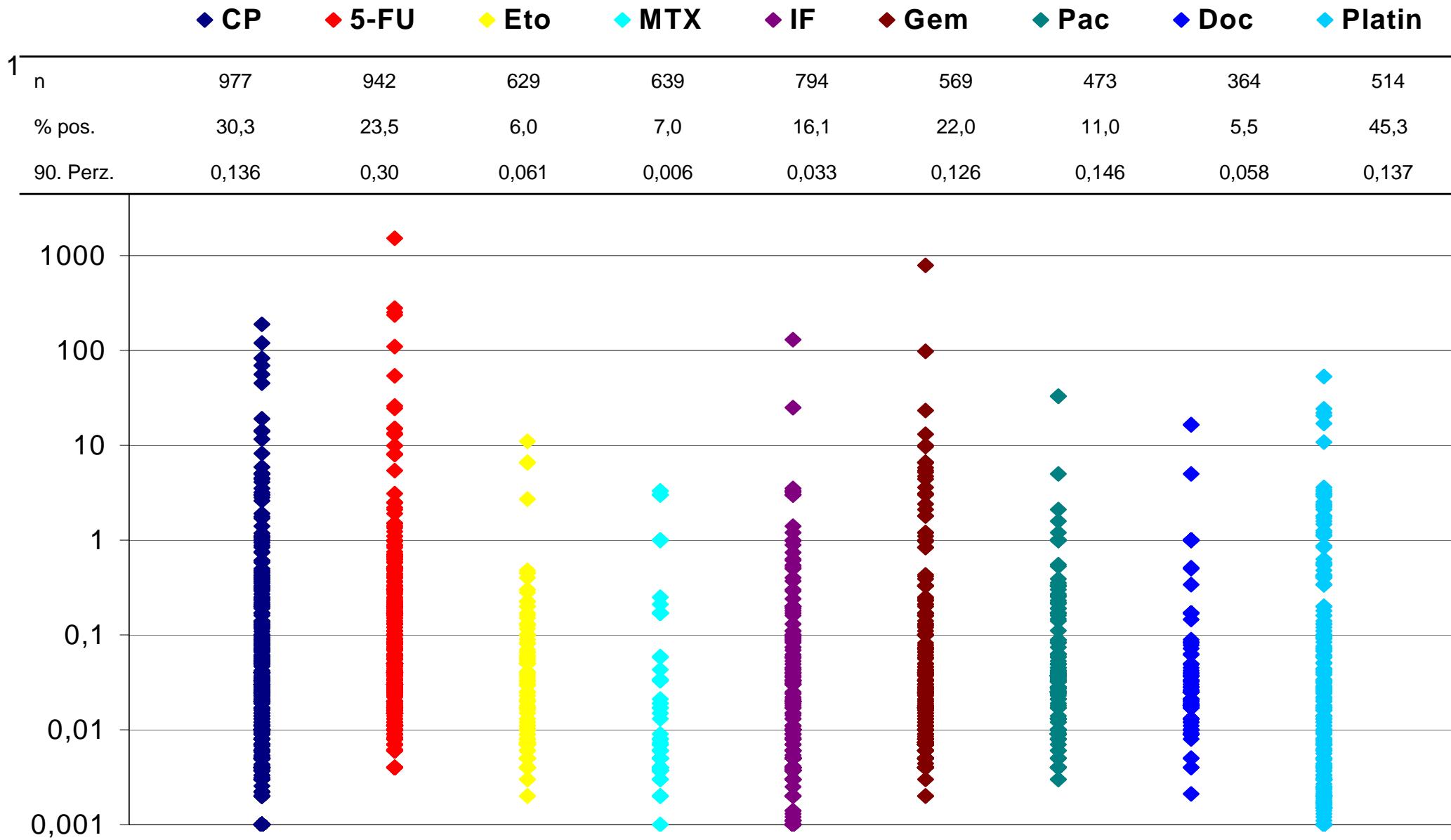
Nachweisgrenzen

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

Annahme für WP-NWG: 900 cm² Wischfläche, 30 mL Extraktion

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

Einzelmessungen (ohne MEWIP), Stand 31.12.07



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-H₂O

2. Biomonitoring (Inkorporation)

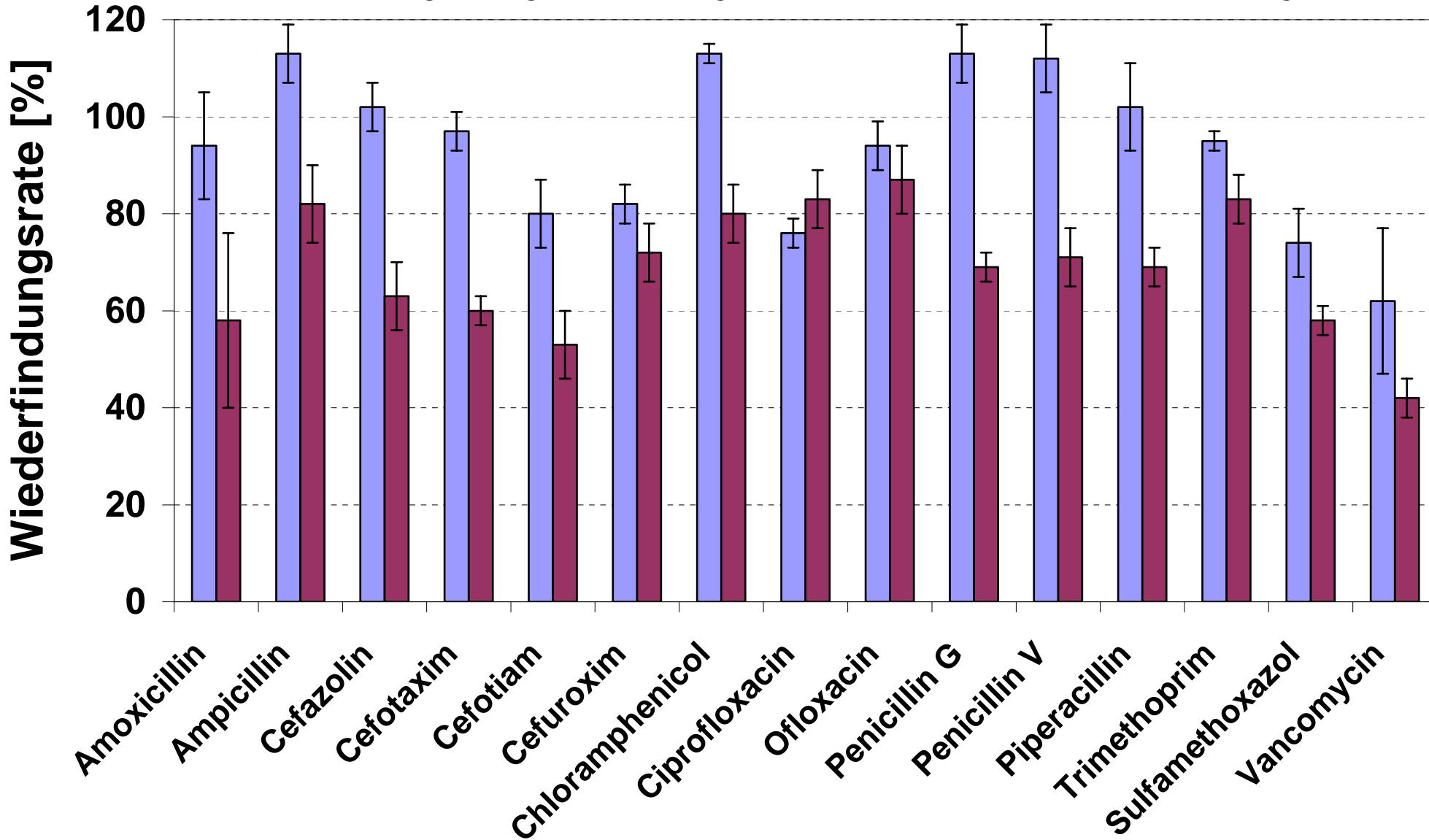
→ Festphasenextraktion von Urinproben

Laborwiederfindungsraten

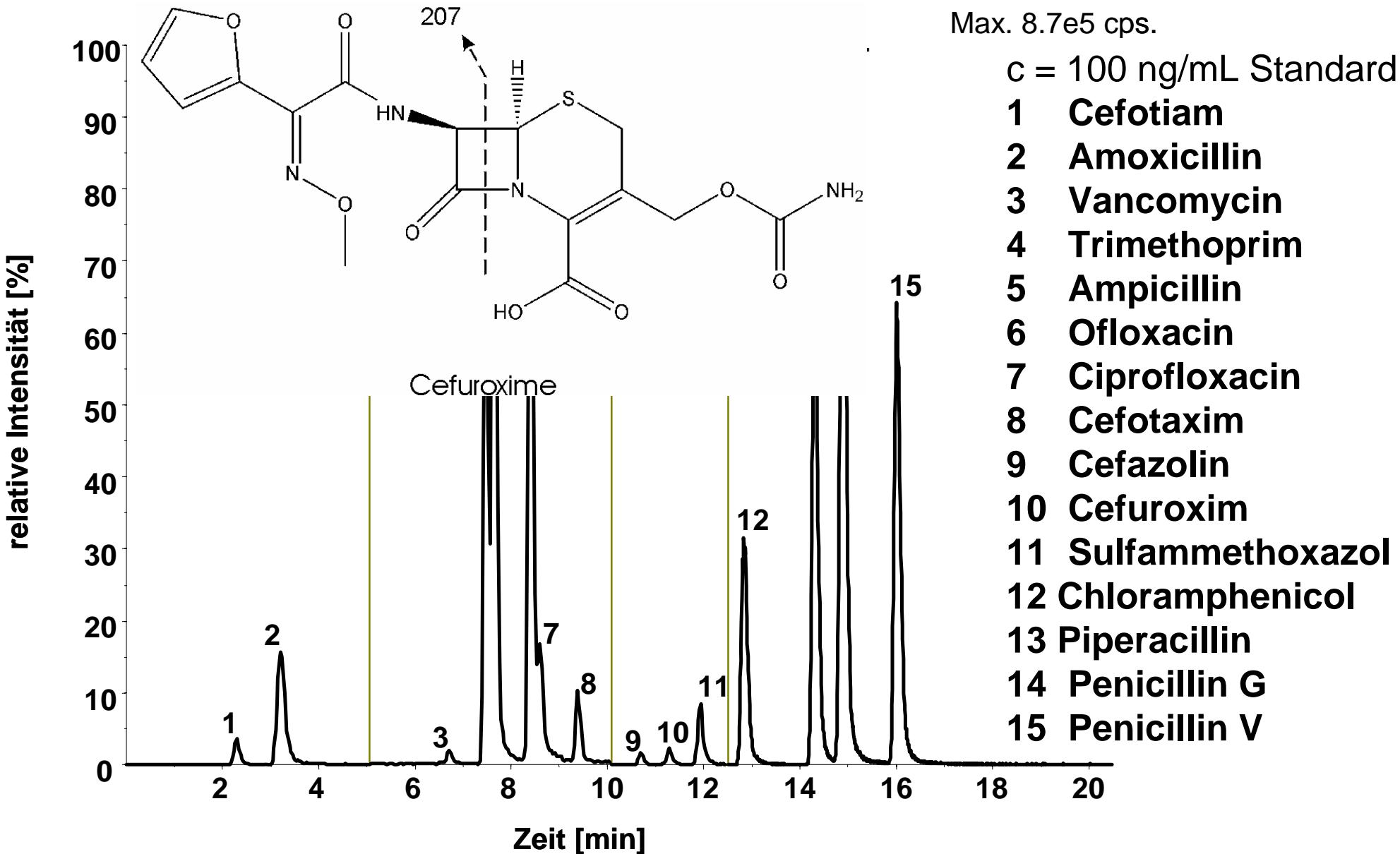
n = 3, c = 100 ng/mL

■ Umgebungsmonitoring

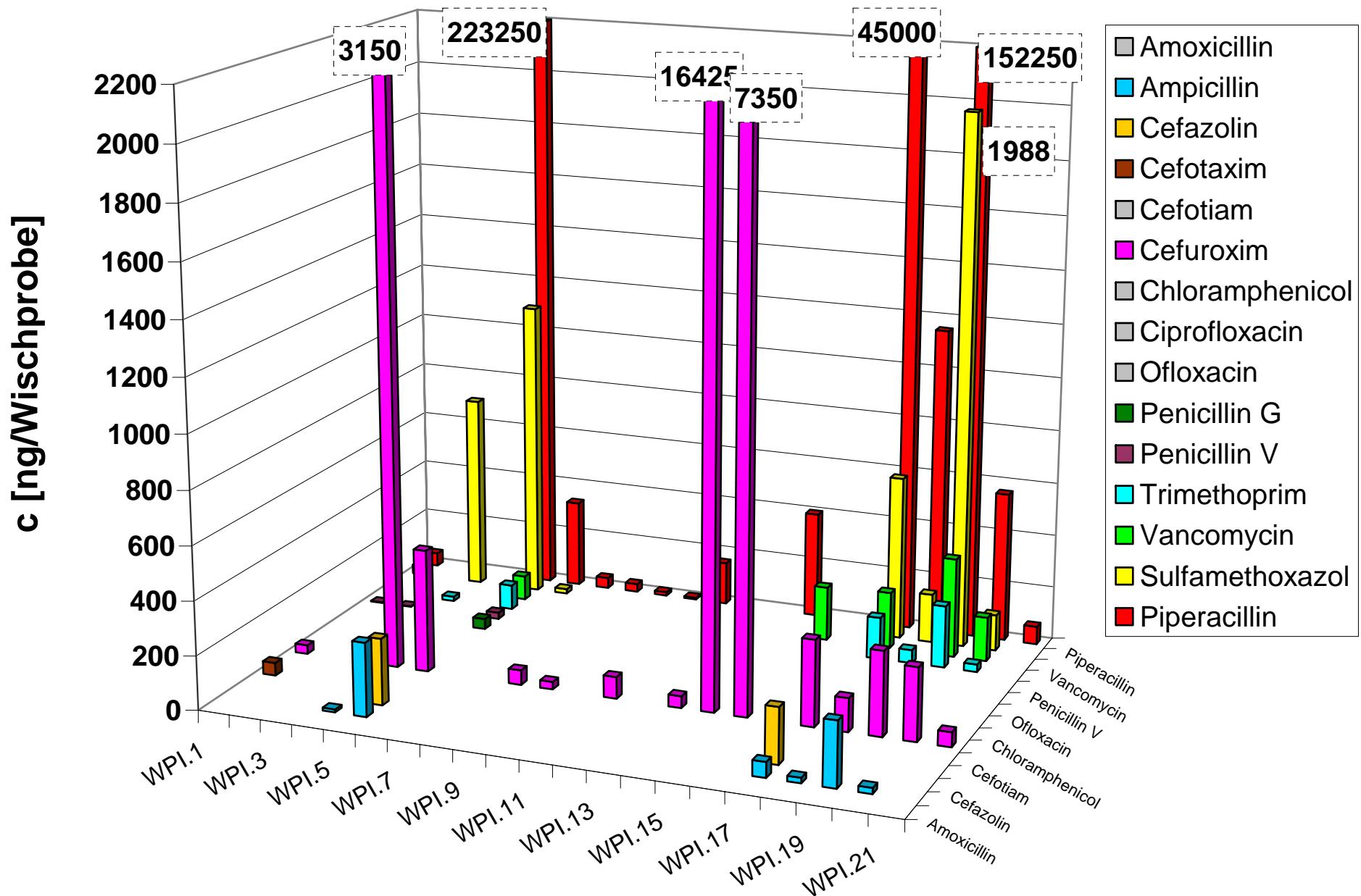
■ Biomonitoring



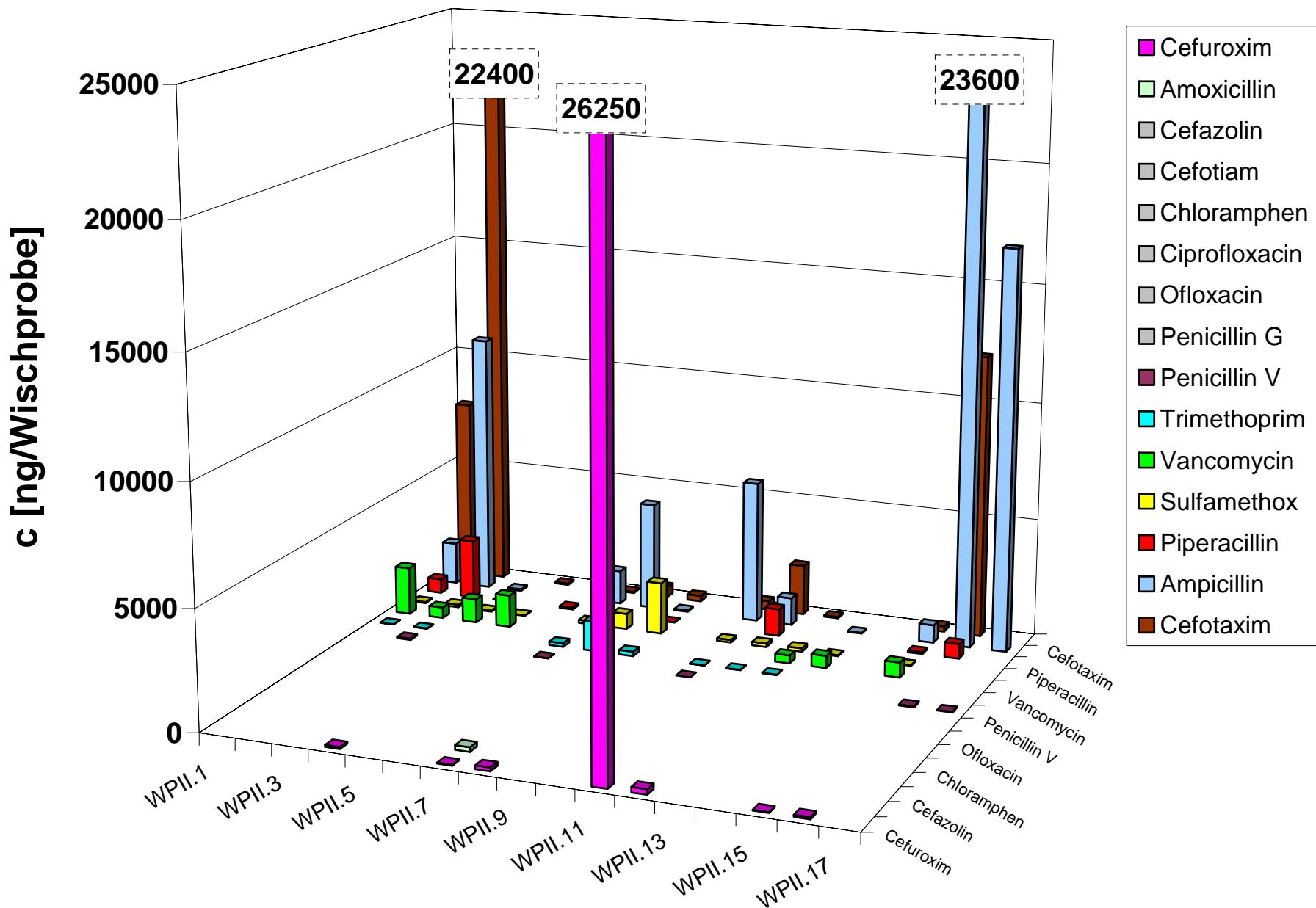
Antibiotika – Standard (TIC)



Flächenbelastung Intensivstation



Flächenbelastung Normalstation



Ergebnisse Antibiotika - Studie

- **37 von 38 Oberflächen belastet**
 - bis 223 µg/WP = 248 ng/cm²
 - 10 von 15 Antibiotika nachweisbar
 - oft Mehrfachbelastungen
(bis zu 9 Substanzen pro Wischprobe)
- **21 von 21 Textilproben belastet**
 - bis zu 288 µg/Textilprobe = 960 ng/cm²
 - fast immer Mehrfachbelastungen
(bis zu 5 Substanzen pro Probe)
- Korrelationen zur Exposition feststellbar!
- **10 von 40 Urinproben (10 von 21 MA) positiv**
 - niedriger ng/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**

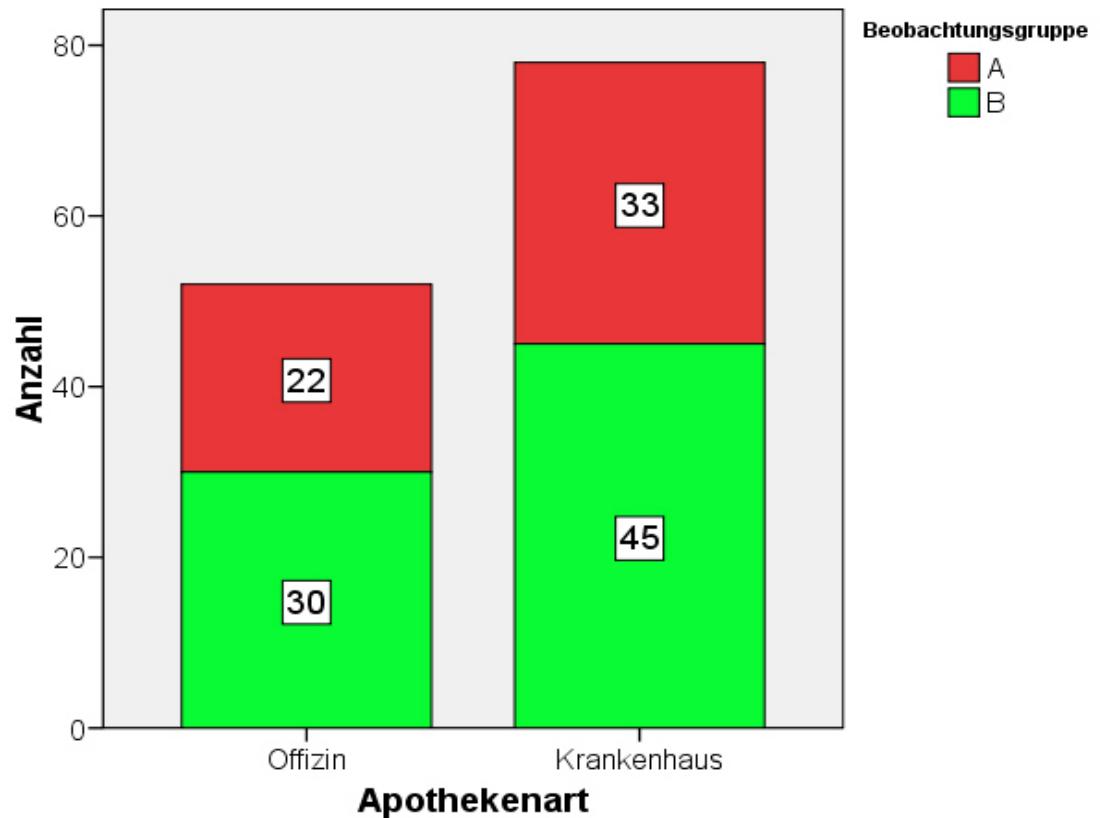
- **201 Anmeldungen**

- 10 Apotheken ausgeschlossen

- < 500 Zubereitungen
 - Isolatoren
 - (Um-)Baumaßnahmen
 - geografische Lage

- **130 Teilnehmer gelöst**

- **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

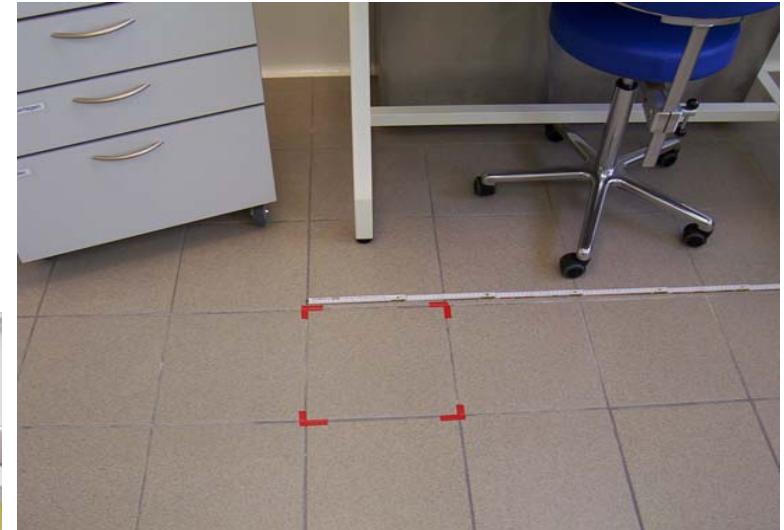
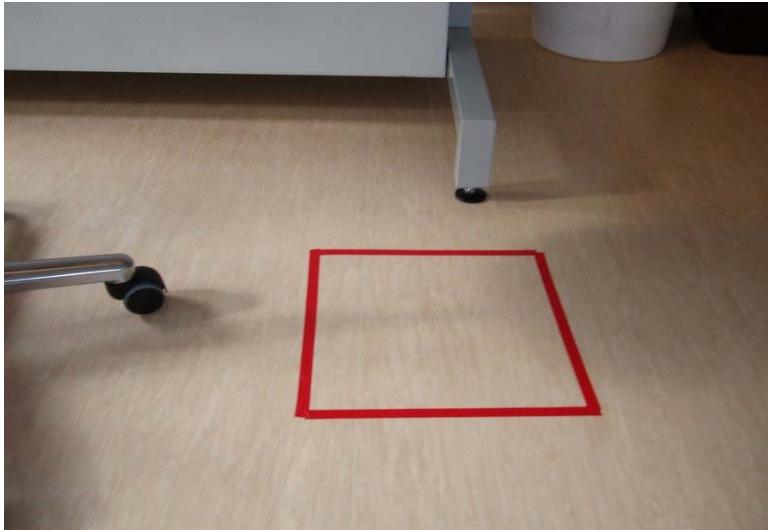


Probenahmeort 1: Arbeitsfläche



Vorgabe: Am häufigsten benutzte Arbeitsfläche auswählen!

Probenahmeort 2: Fußboden



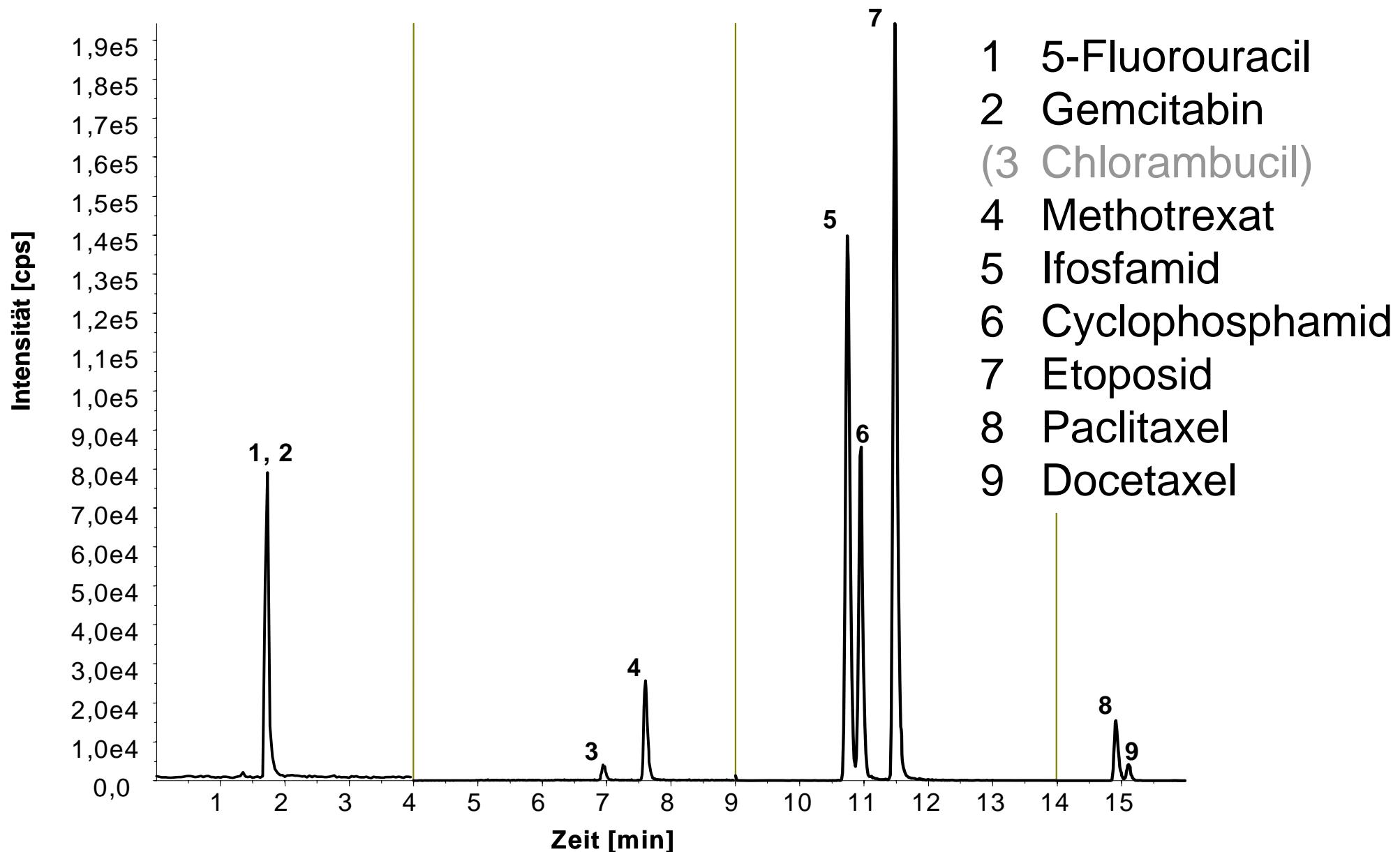
Vorgabe: Fußboden vor der Zytostatikawerkbank auswählen!

Probenahmeort 3: Kühlschranktür



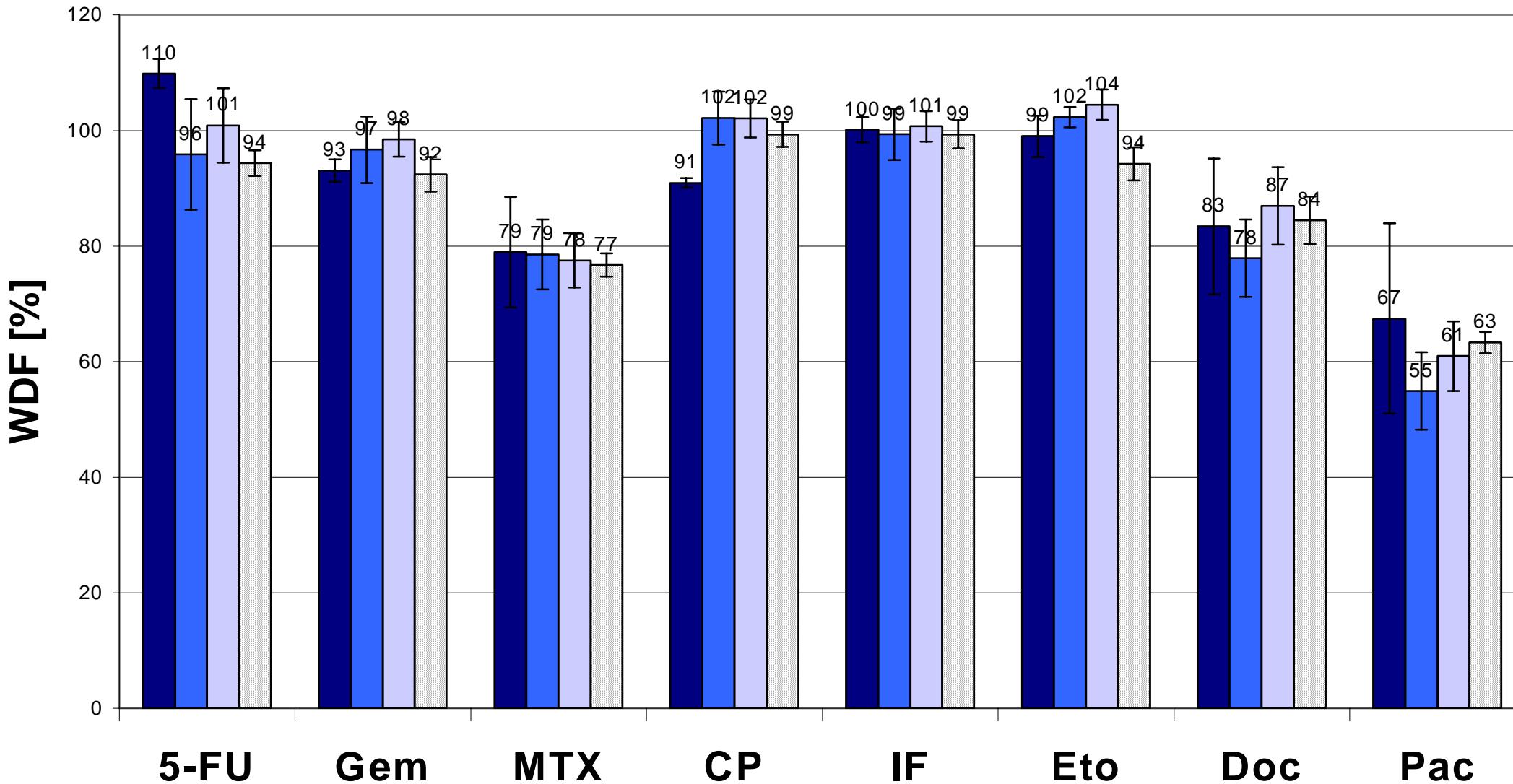
Vorgabe: Vorderseite des Kühlschranks (inkl. Türgriff) auswählen!

Analytische Bestimmung: MEWIP-Methode

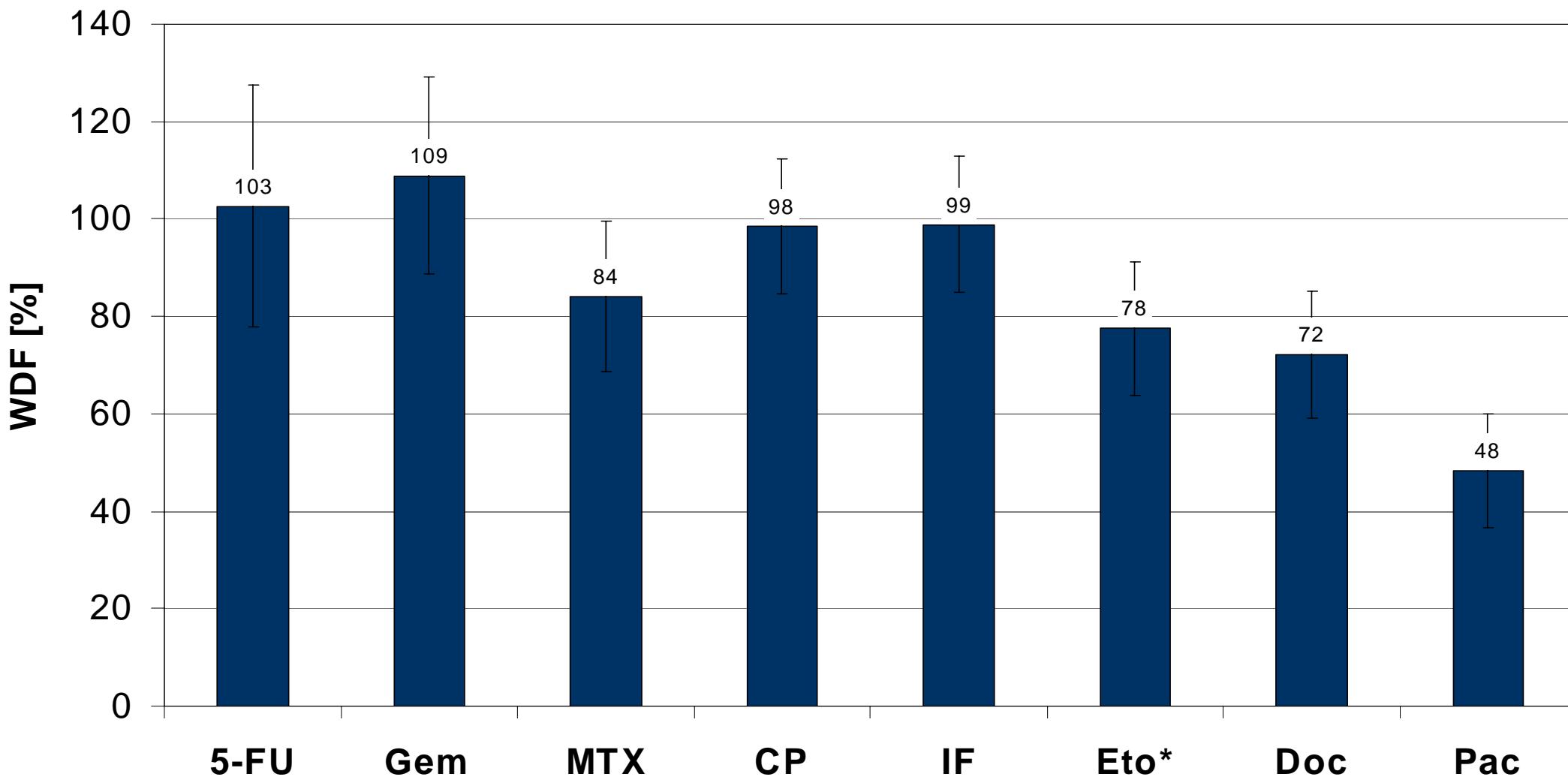


Laborwiederfindungsraten

■ 50 ng/Probe ■ 500 ng/Probe ■ 2000 ng/Probe ■ 5000 ng/Probe



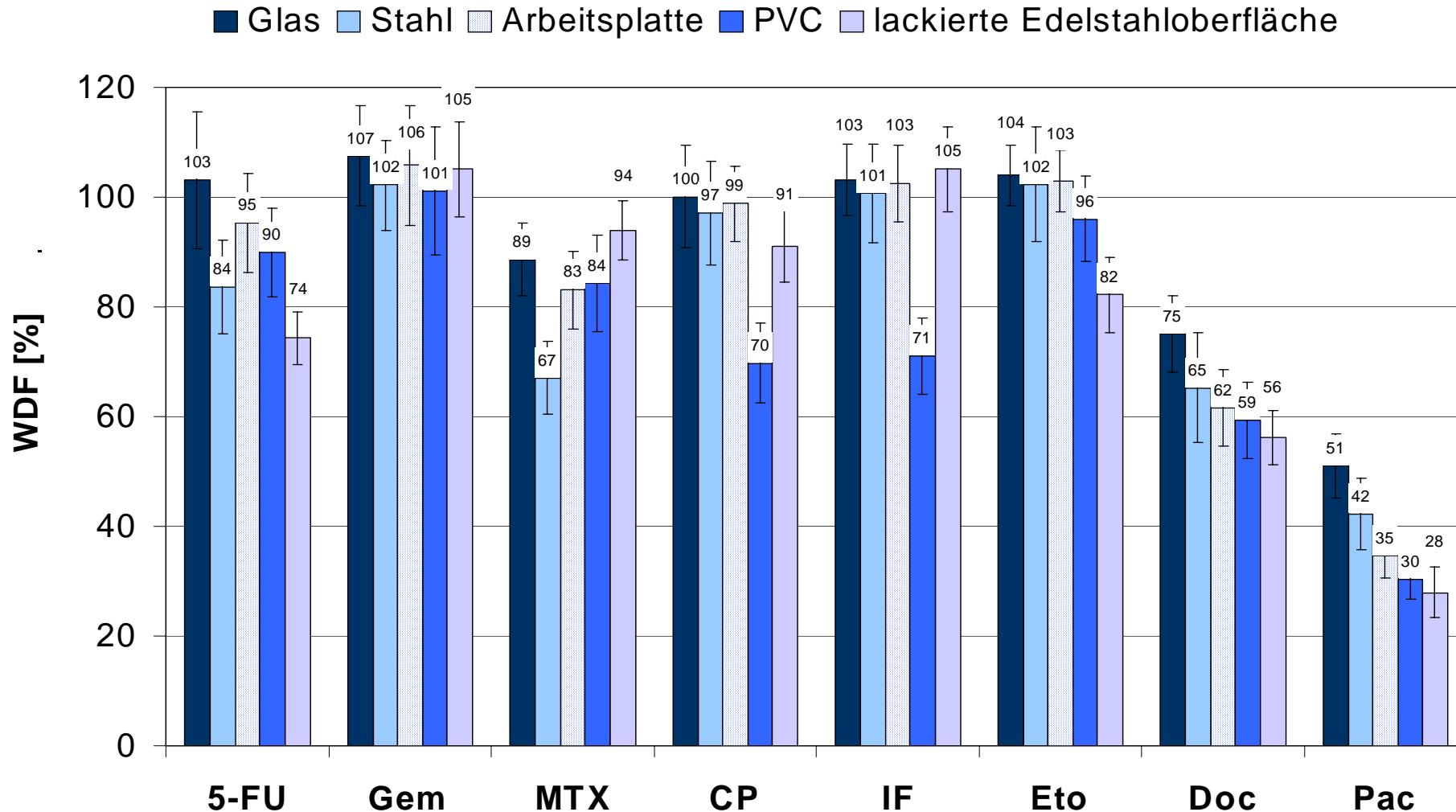
Probenehmereinfluss (n = 28)



Wiederfindungsraten: Probenahme durch 28 verschiedene Personen (n=112, c= 10 ng/cm²)

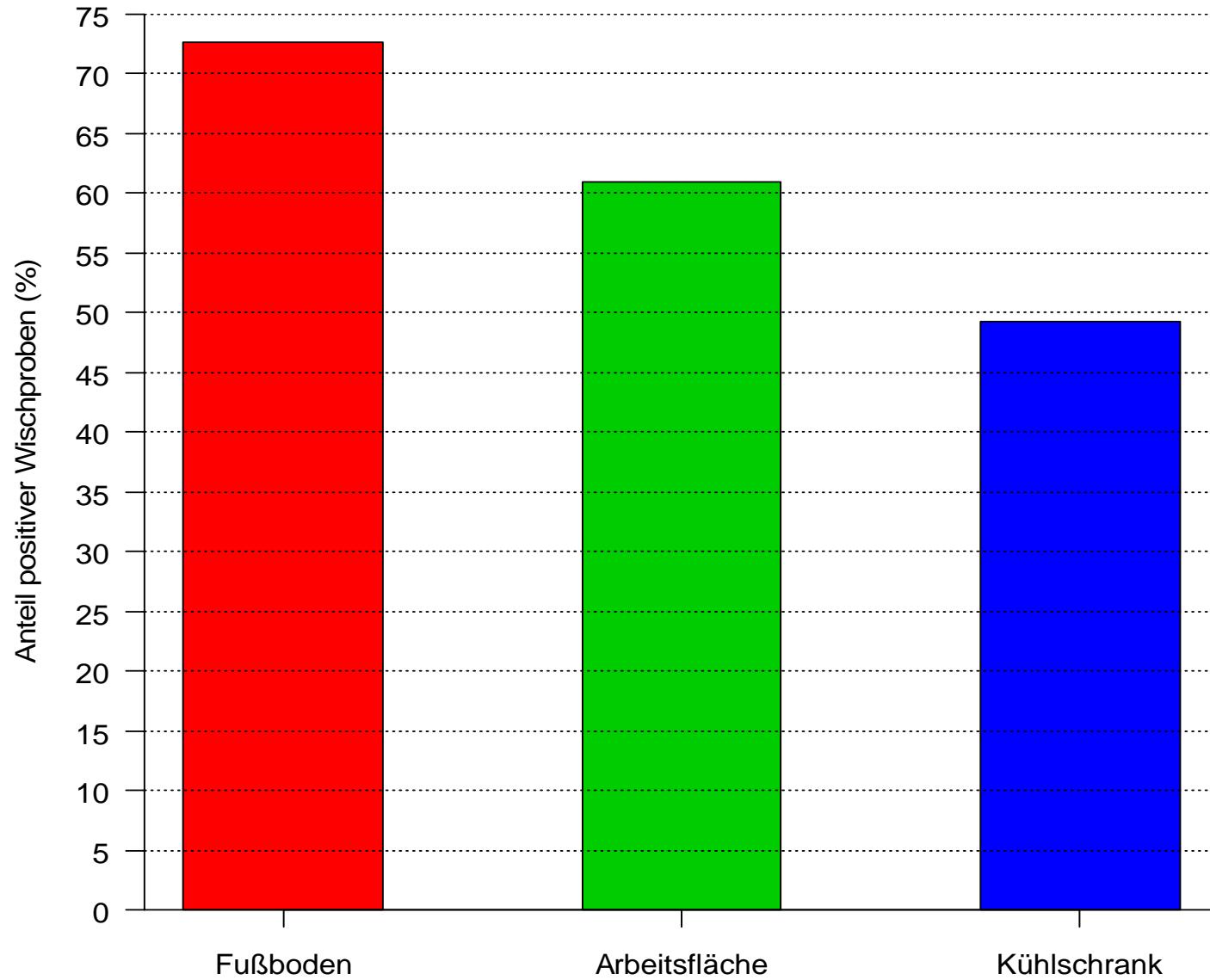
*Etoposid: Messwerte von 13 Personen (n=50)

Materialeinfluss (n=9, c= 10 ng/cm²)

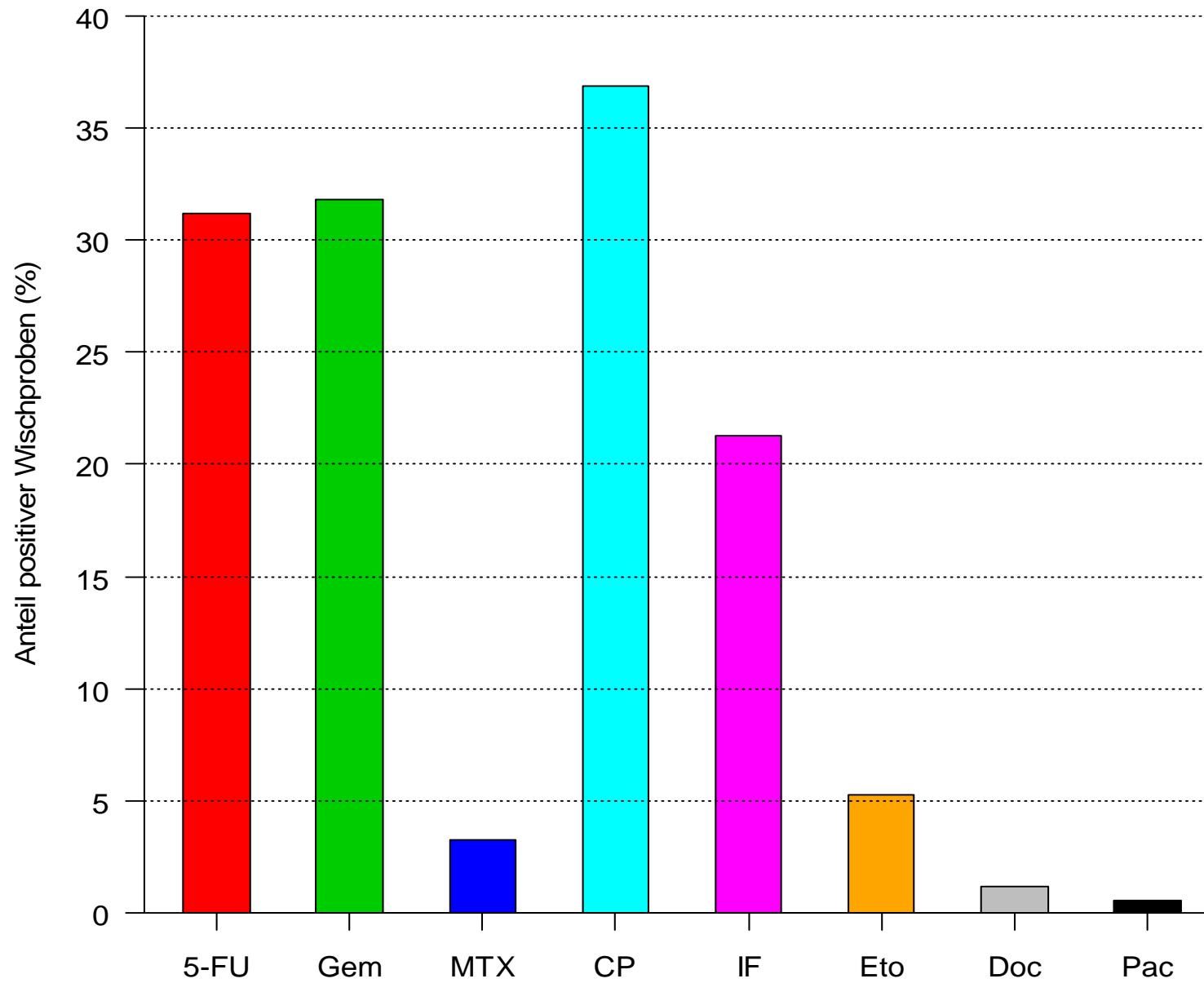


Ergebnisse aus den Wischproben

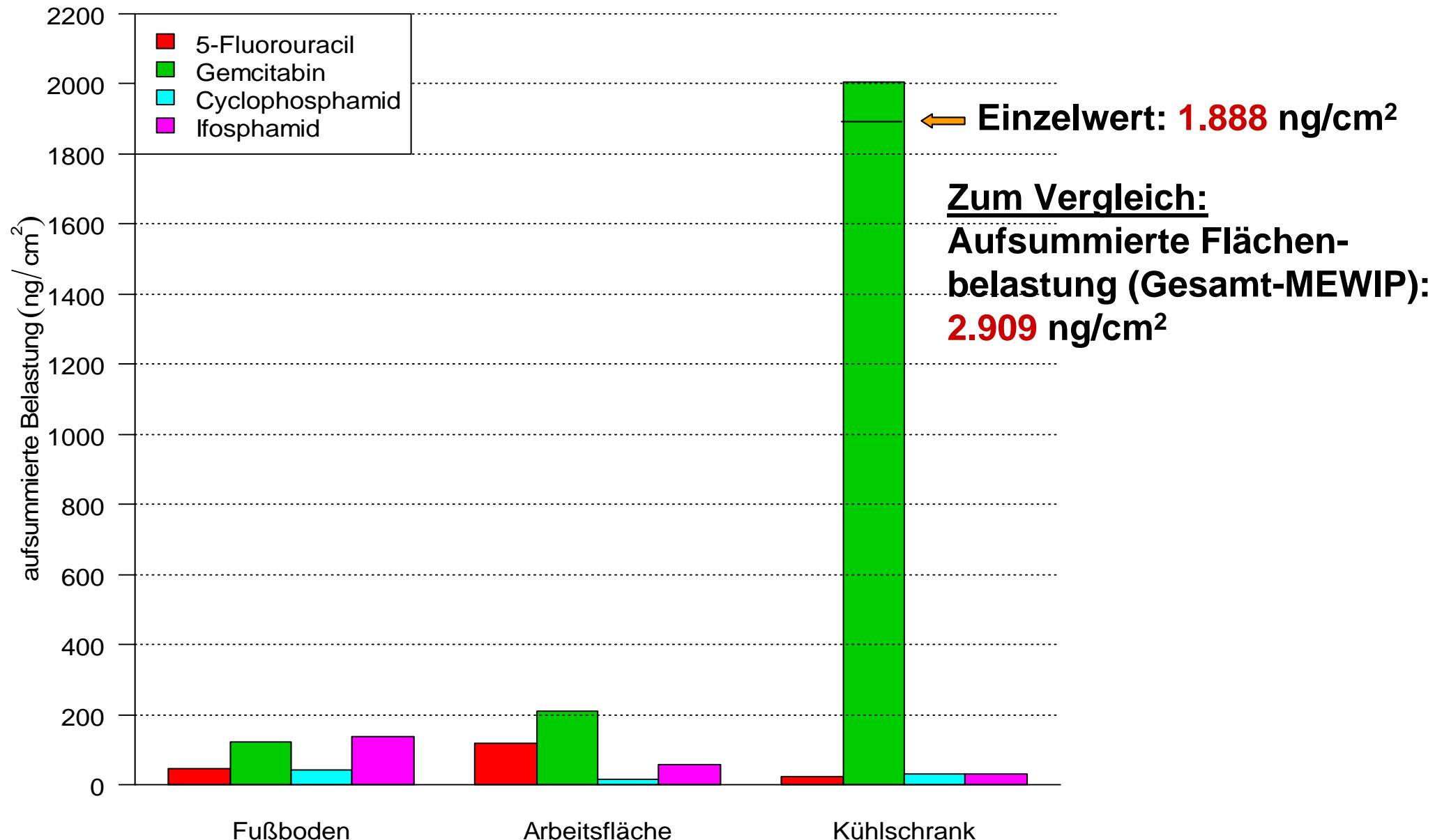
Anteil positiver Proben nach Probenahmeort



Anteil positiver Wischproben nach Substanzen

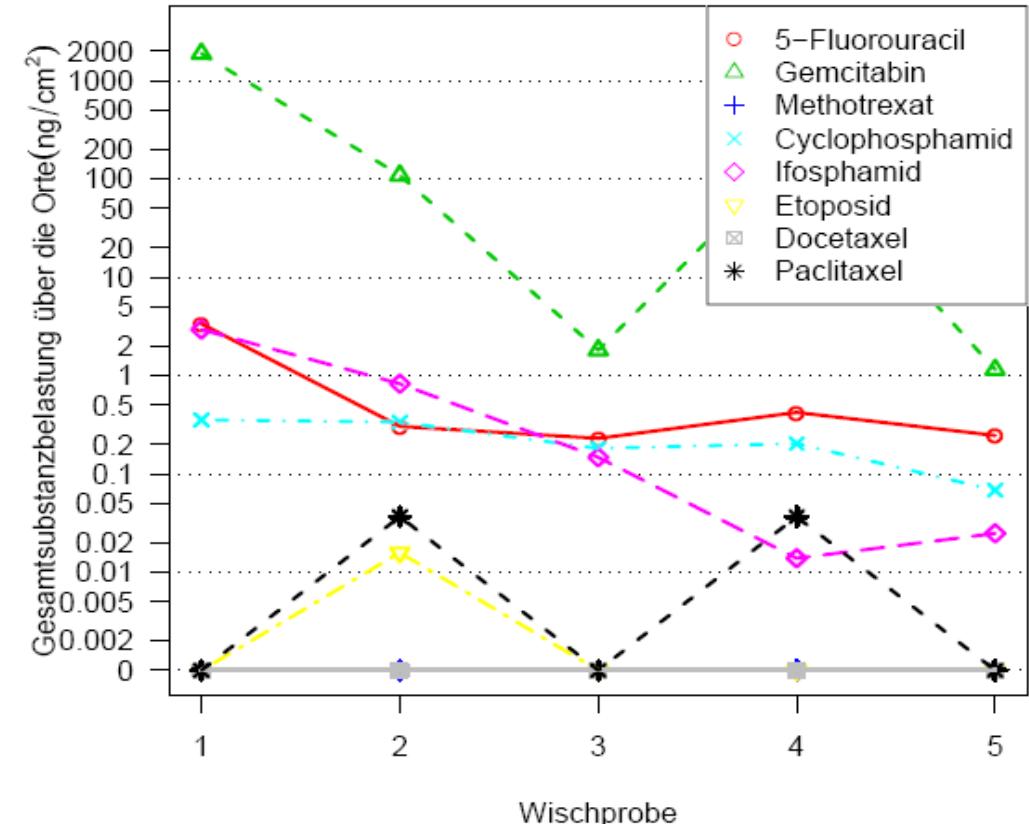
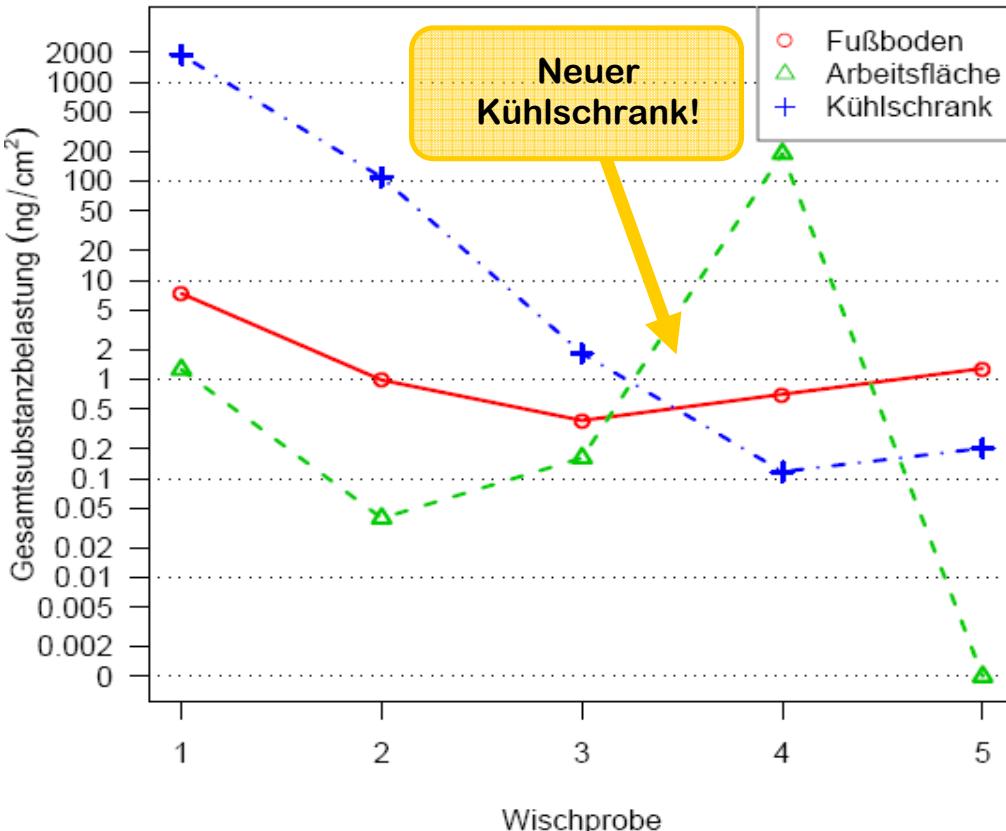


Substanzspezifische Belastung n. Probenahmeort

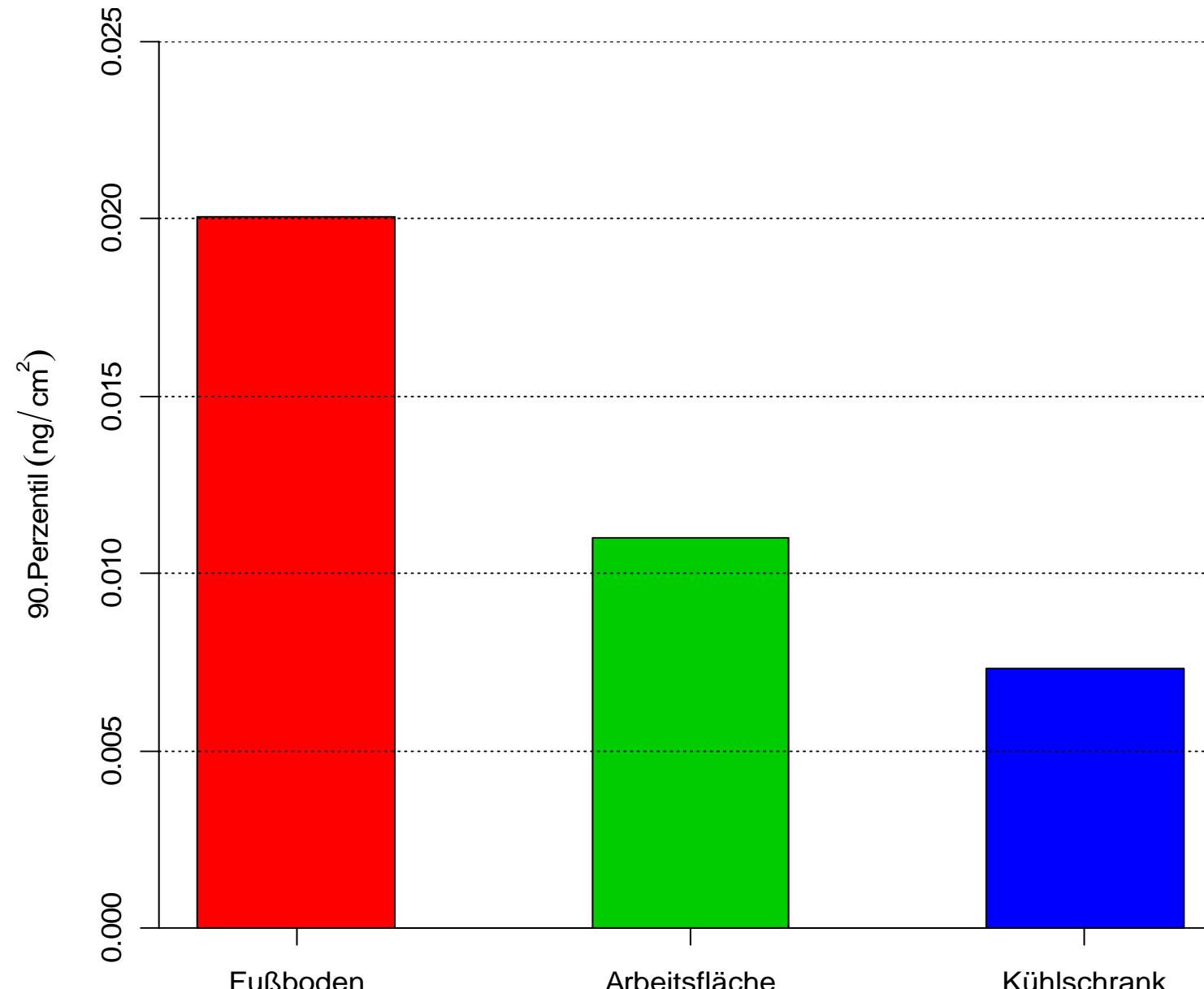


Fallbeispiel 1

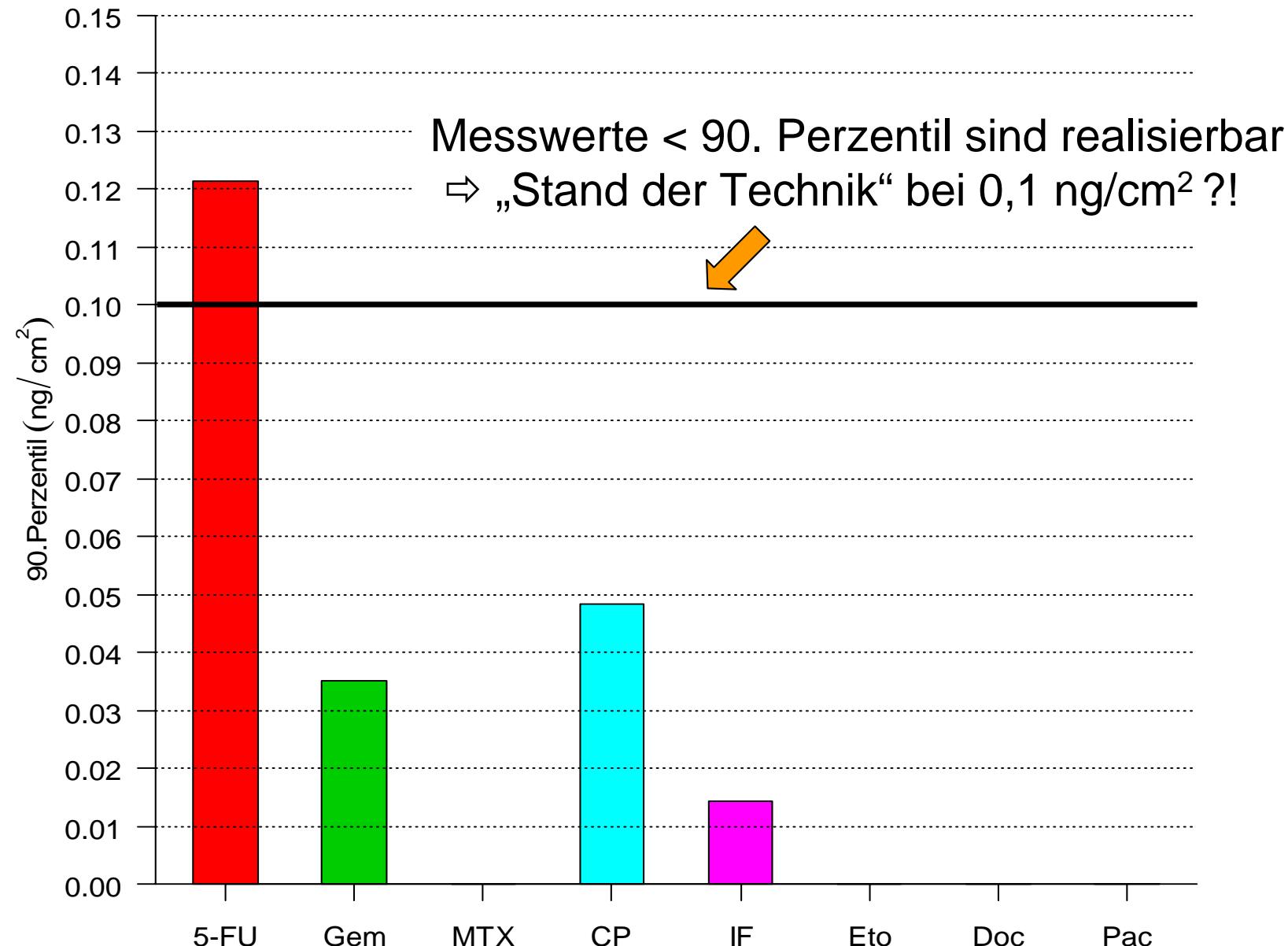
Was beeinflusst das Kontaminationslevel?



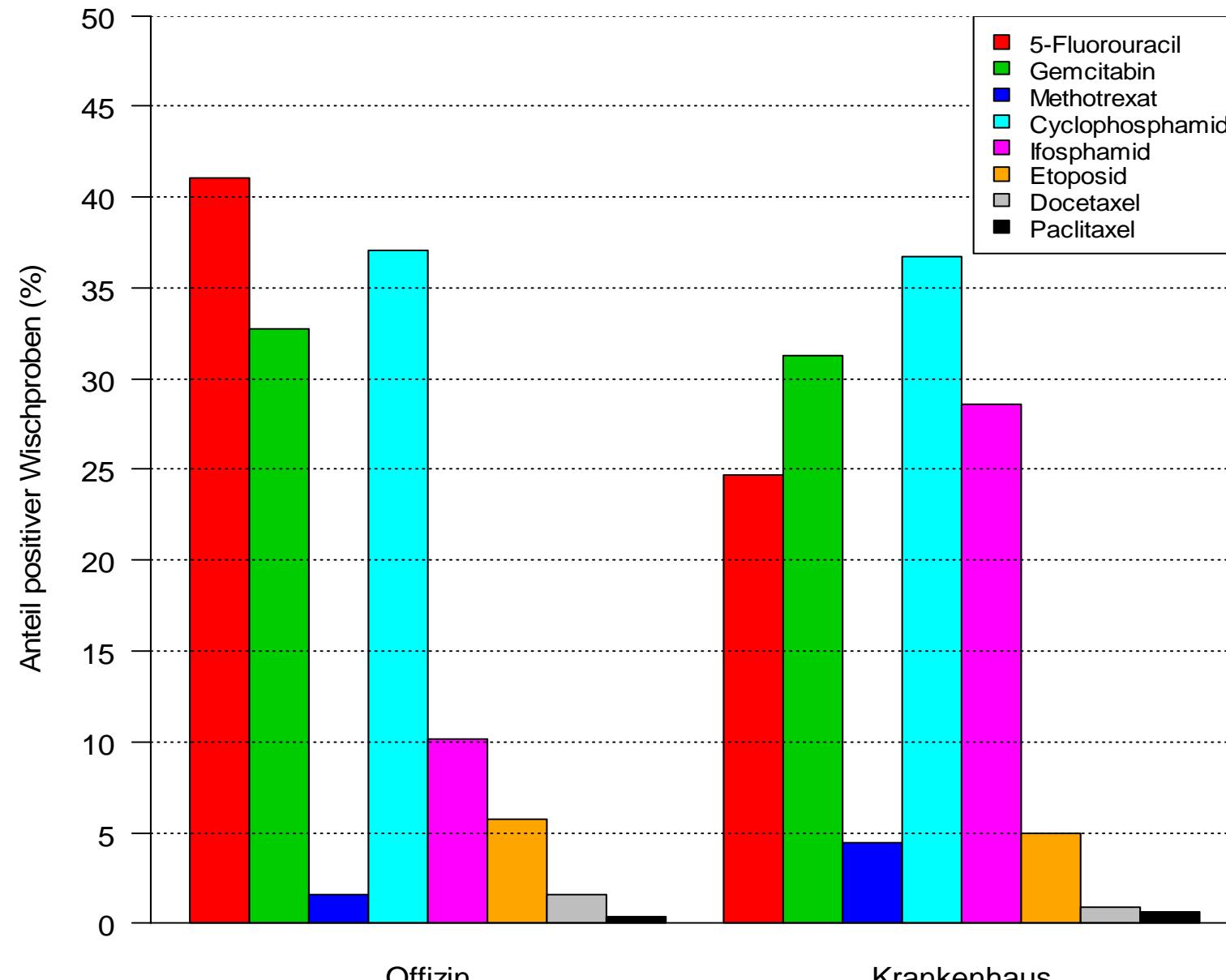
90. Perzentile nach Probenahmeort



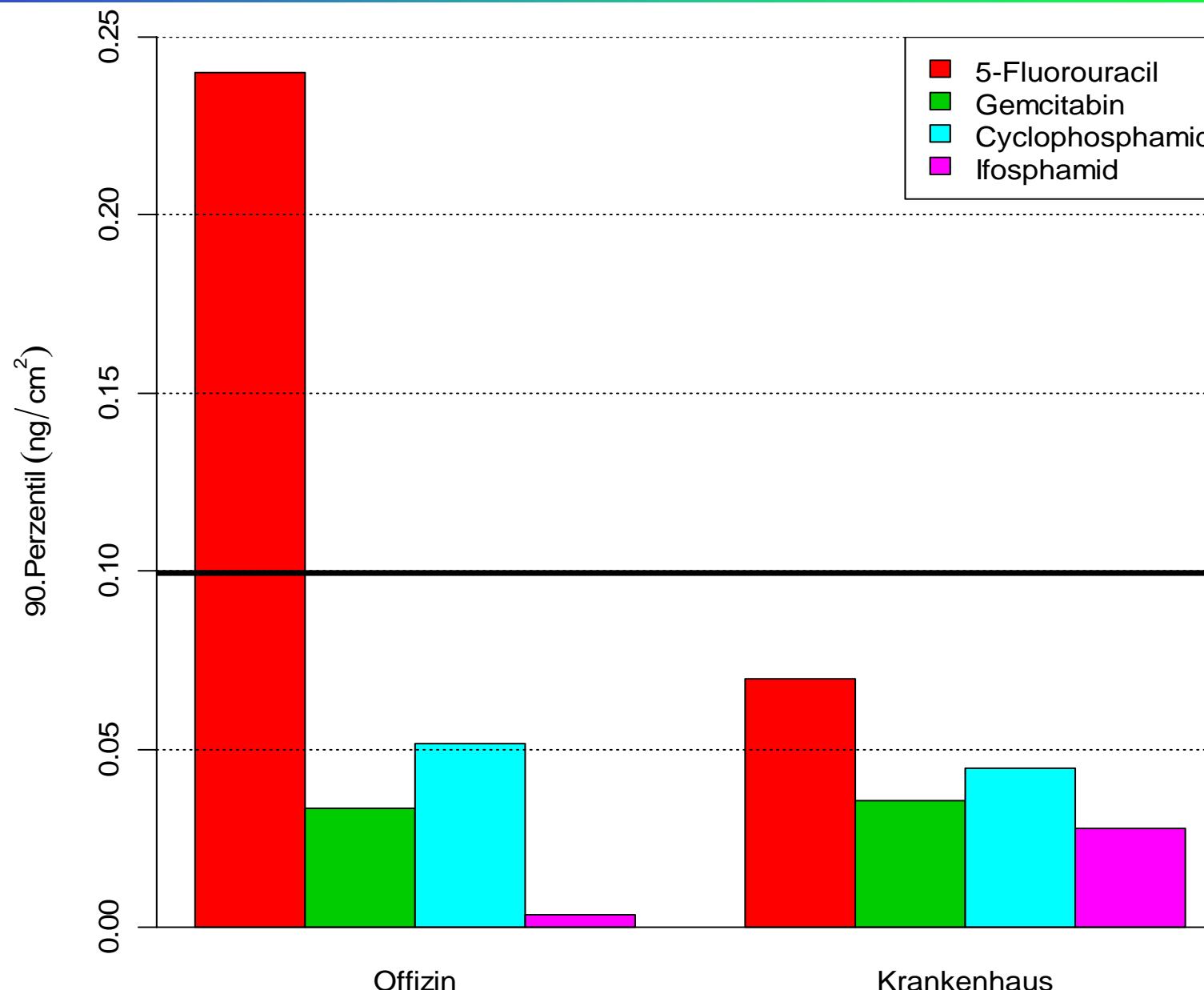
90. Perzentil nach Substanzen



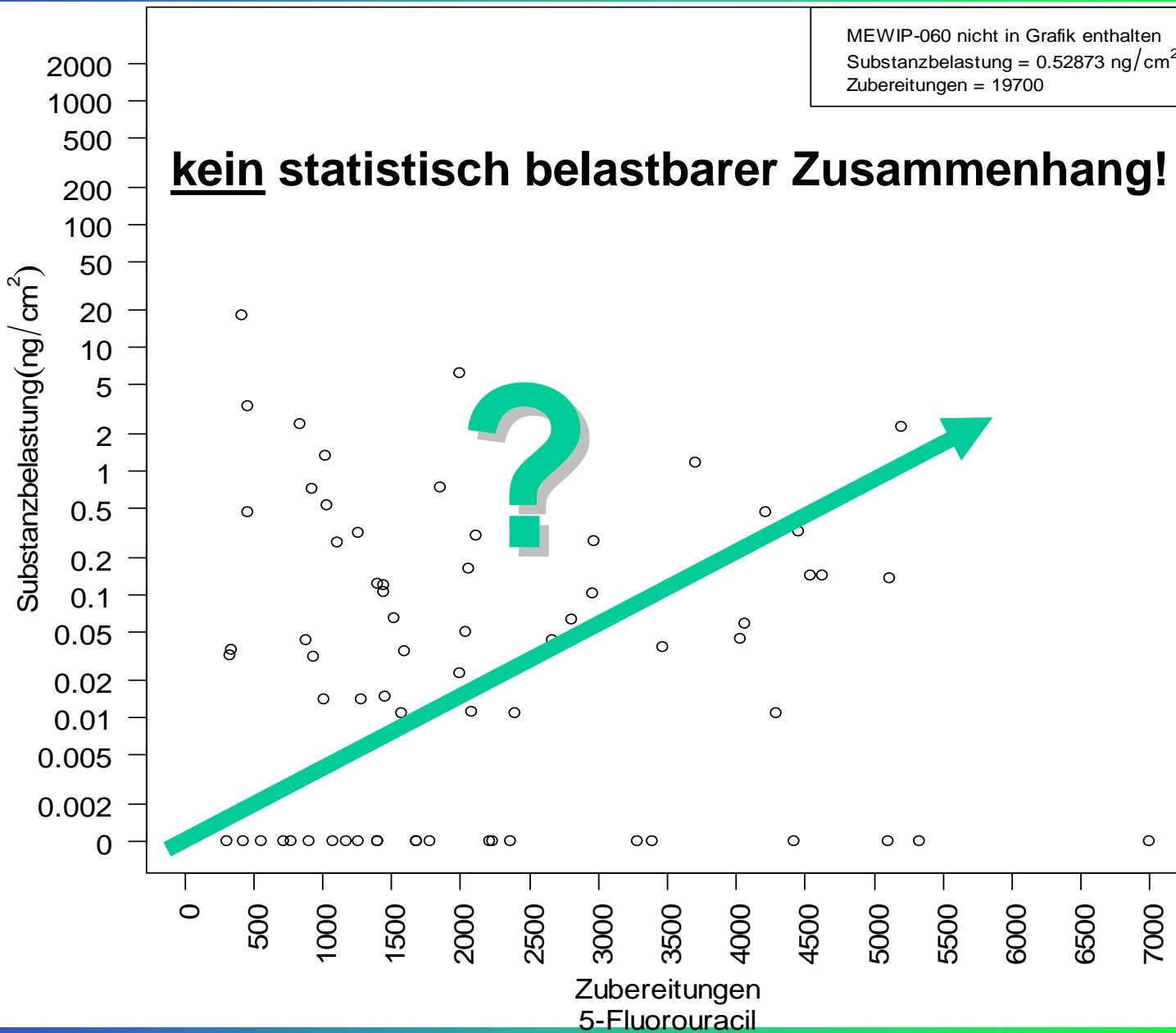
Anteil positiver Wischproben nach Apothekenart



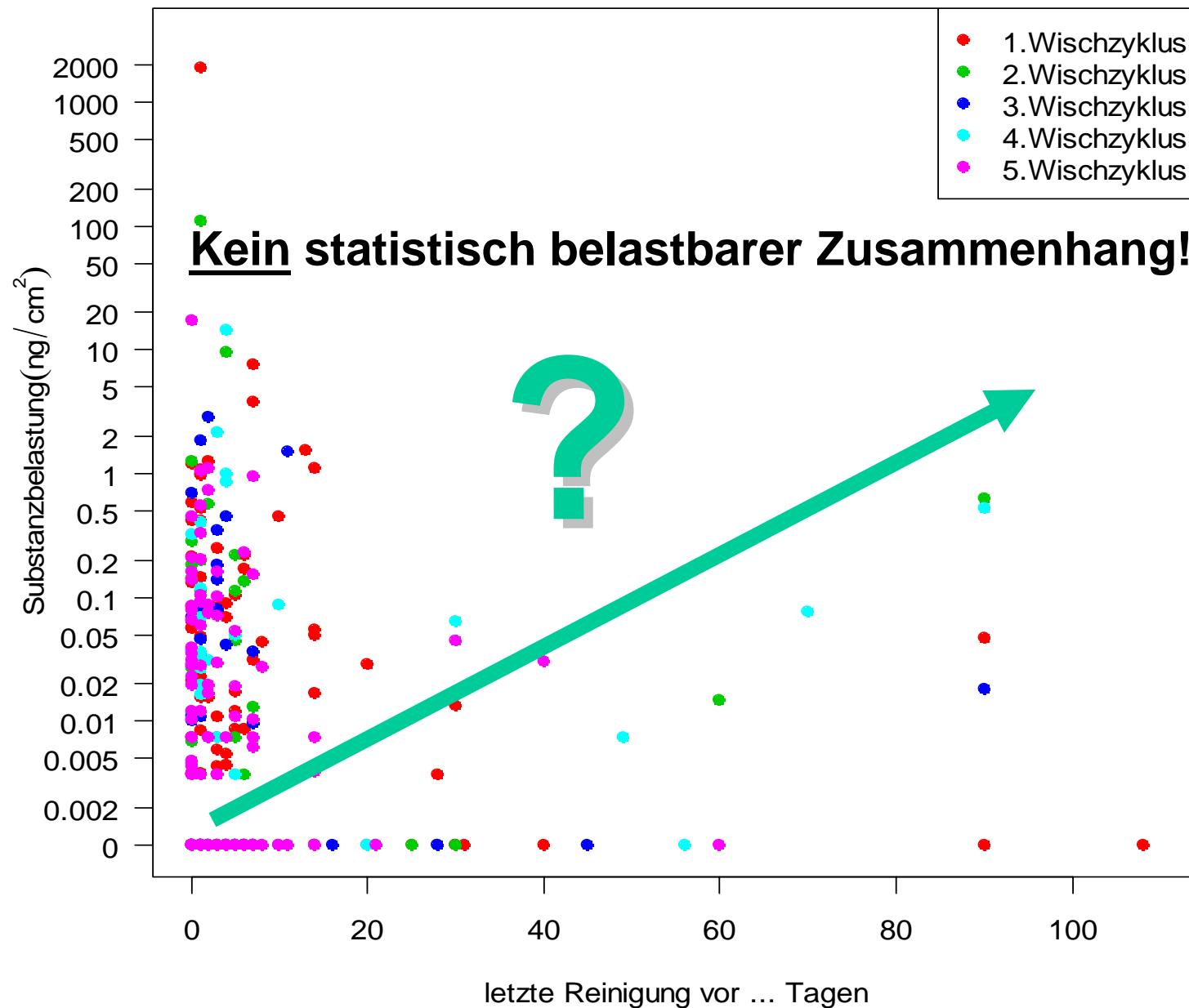
90. Perzentil nach Apothekenart



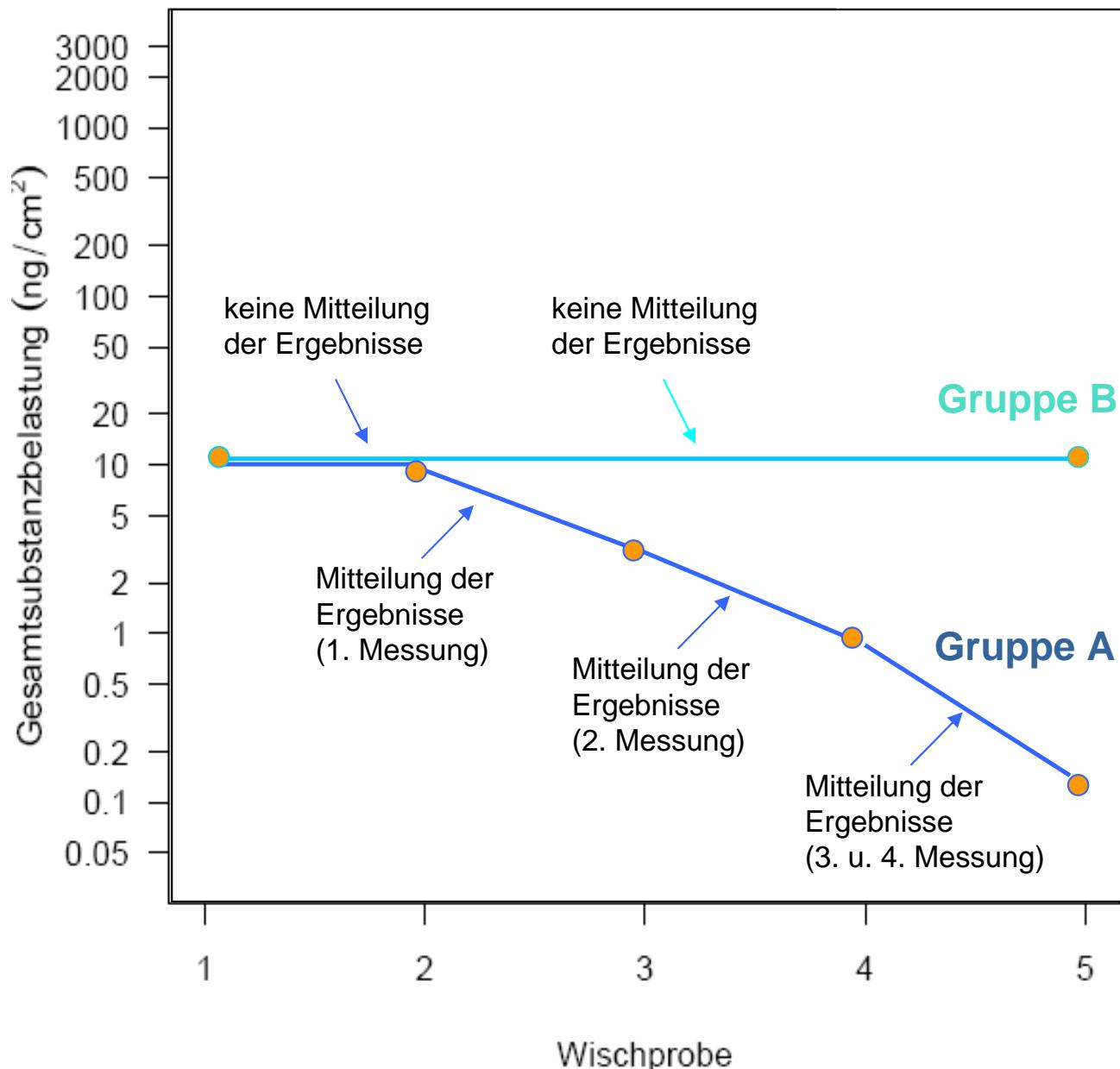
Korrelation zur Zubereitungsanzahl (5-FU, 2006)?



Tag der letzten Reinigung (hier: Kühlschrank)

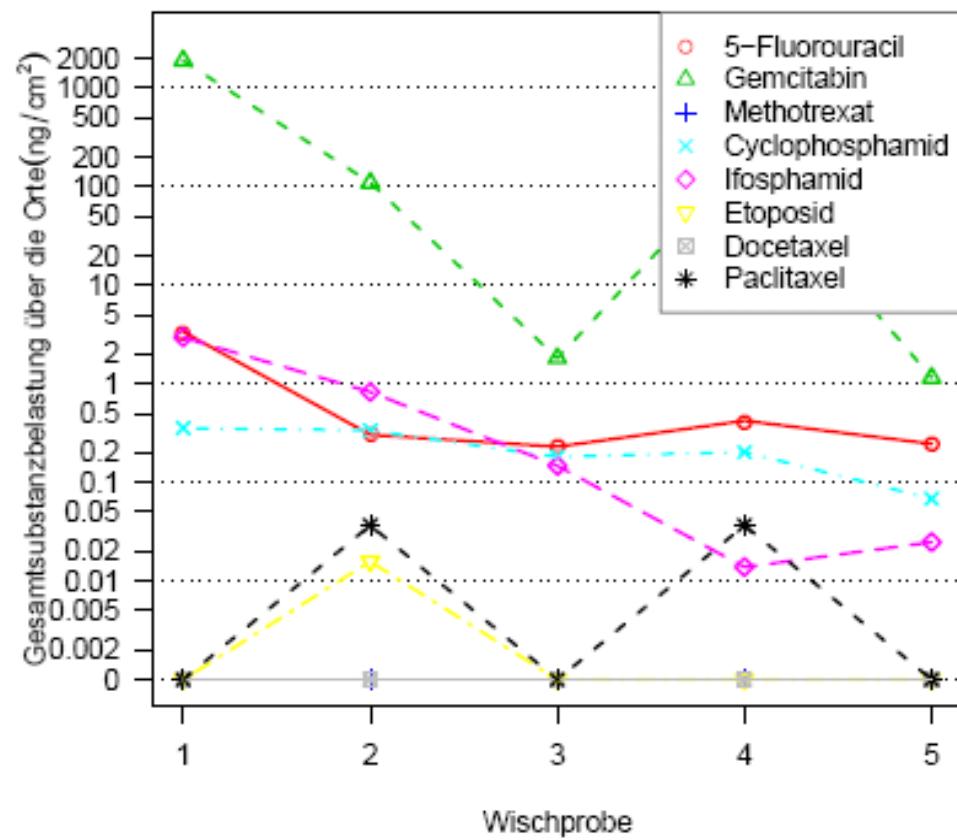
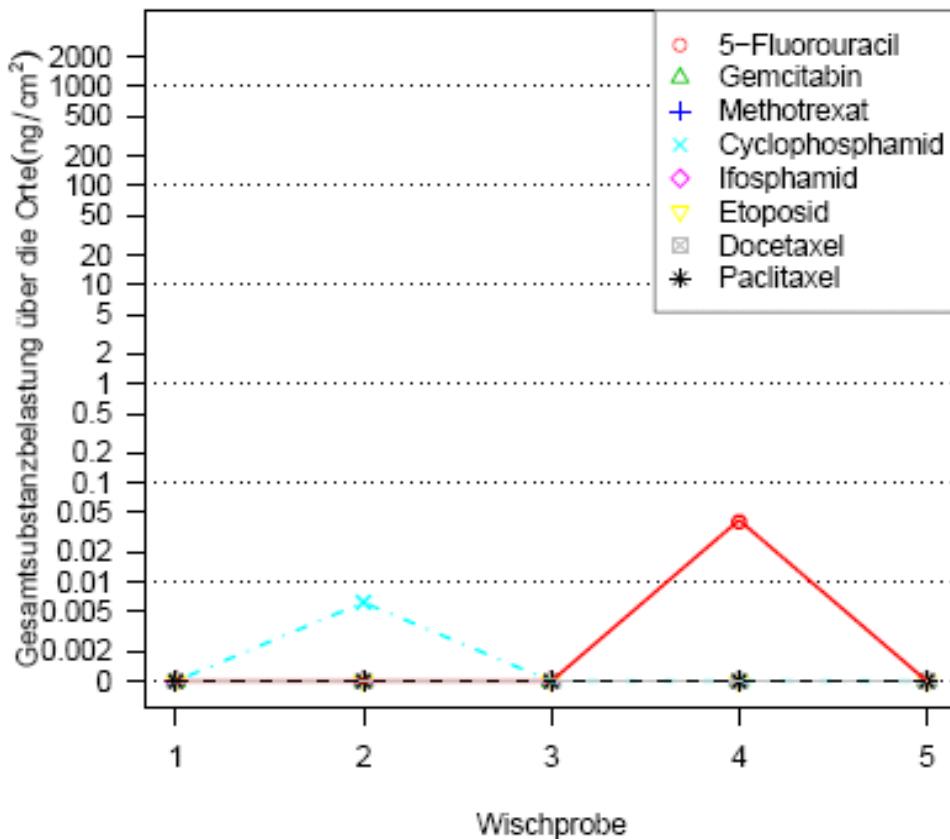


Erwarteter Verlauf der Belastung



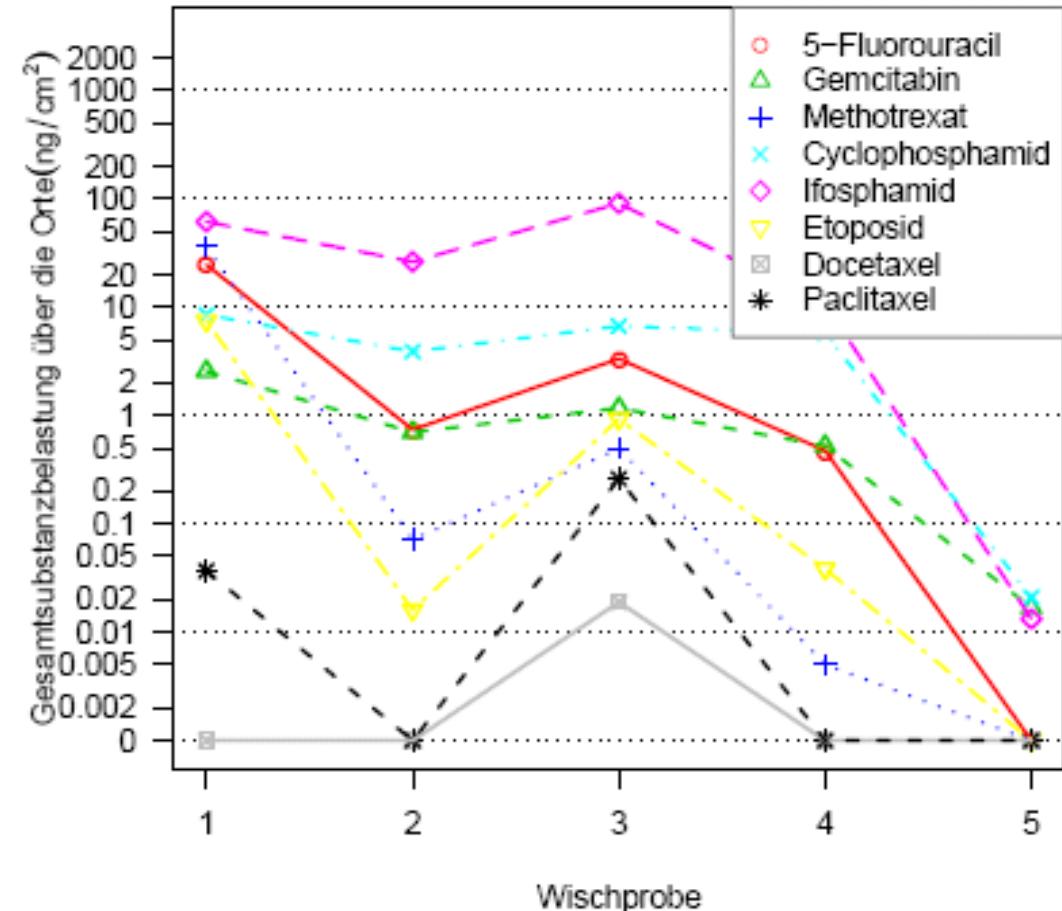
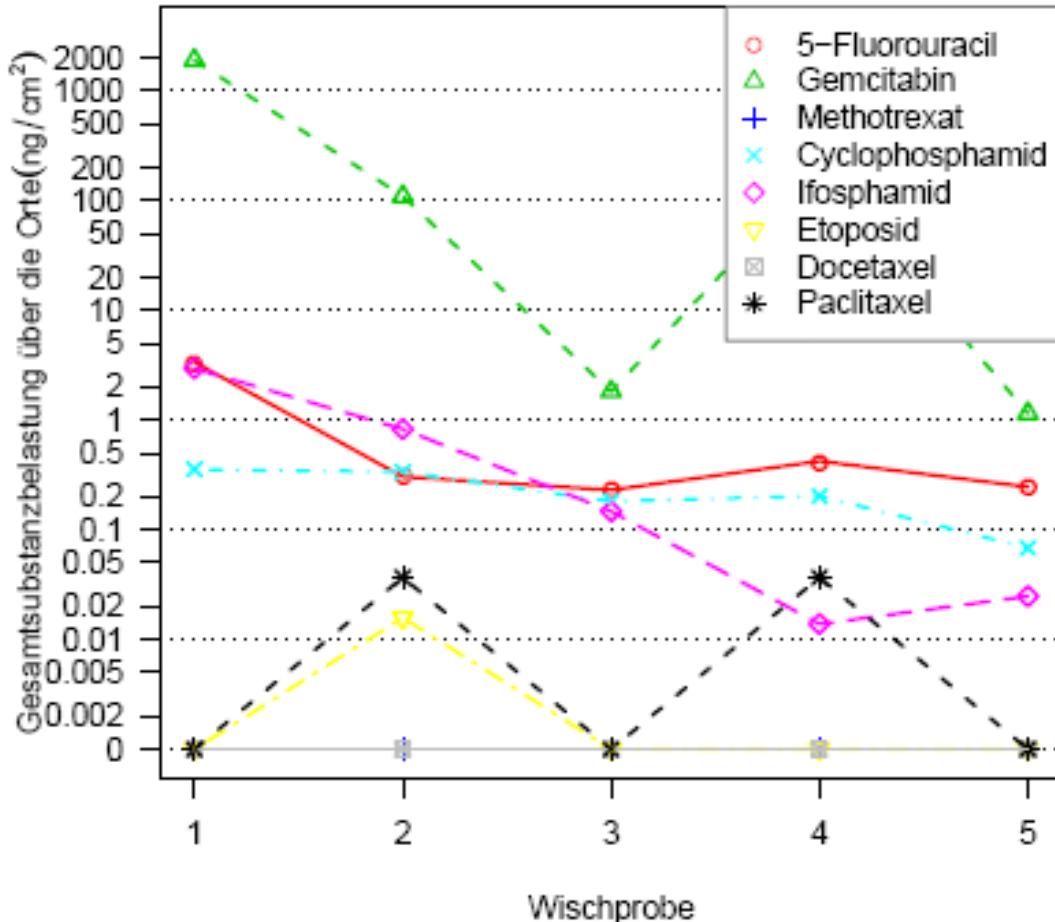
Fallbeispiel 2

„gute“ und „schlechte“ Apotheken



Ergebnisse aus den Wischproben

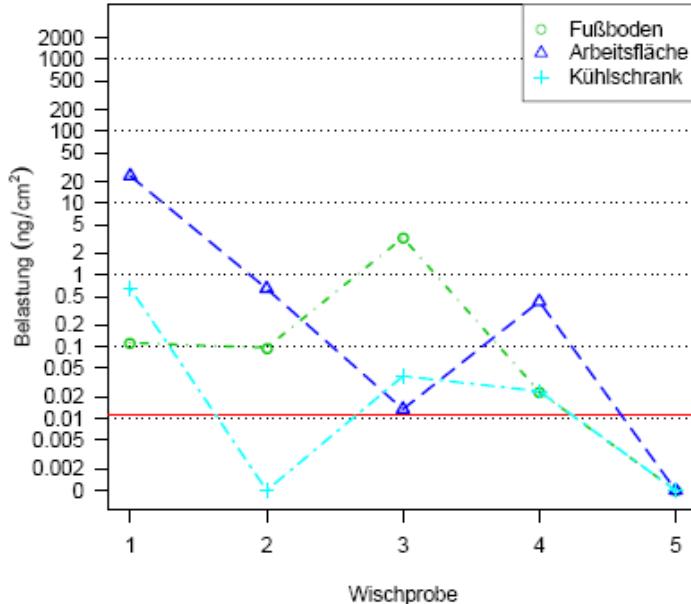
Unterschiedlich „schlechte“ Apotheken



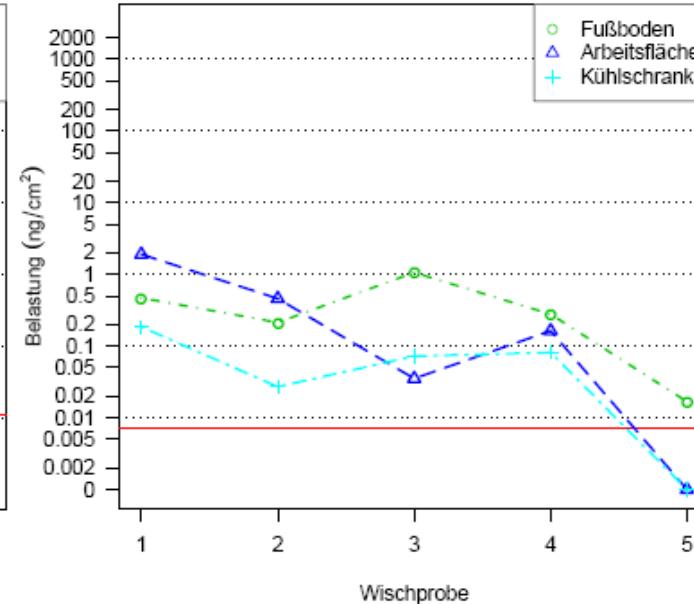
Ergebnisse aus den Wischproben (Gruppe A)

Einzelverläufe für verschiedene Substanzen in einer Apotheke

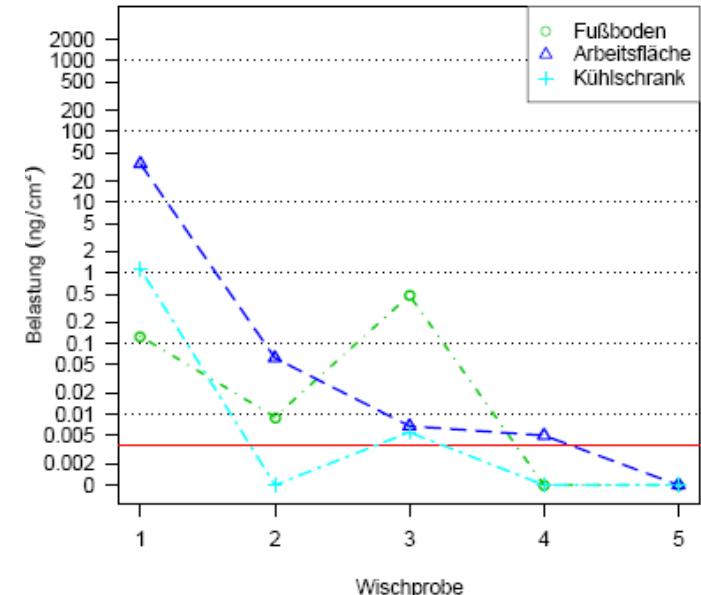
5-Fluorouracil



Gemcitabin



Methotrexat

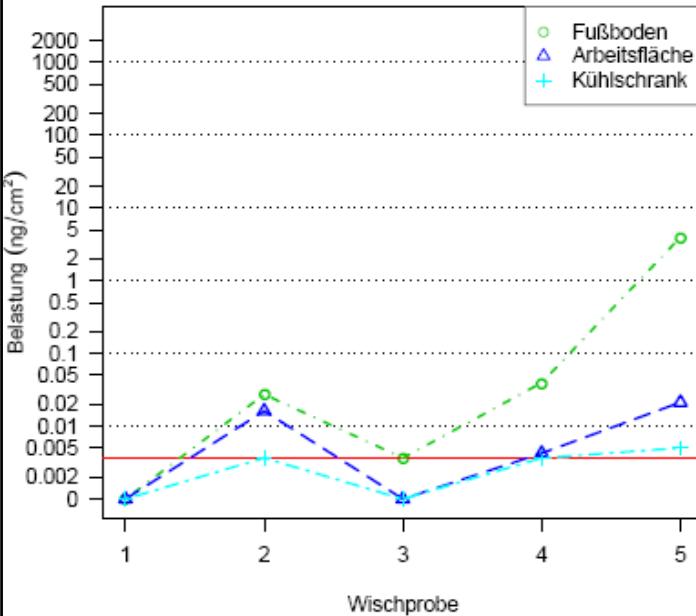


→ abnehmende Belastung = Bestätigung der Erwartung

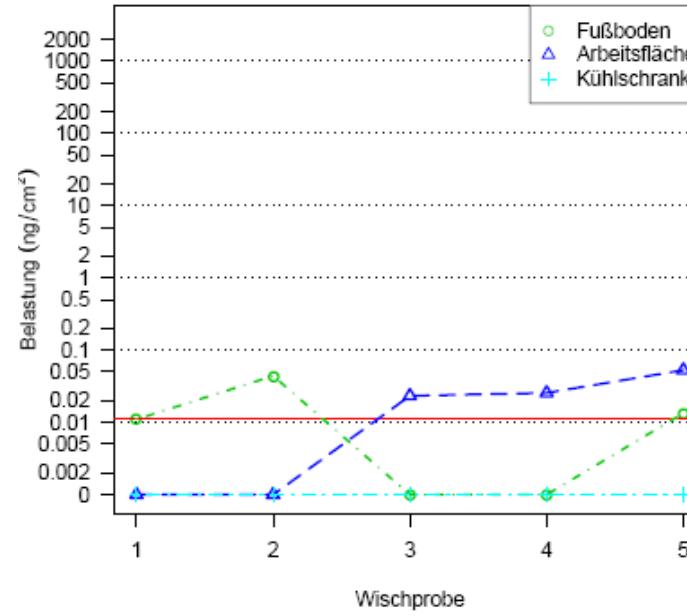
Ergebnisse aus den Wischproben (Gruppe A)

Einzelverläufe in drei Apotheken

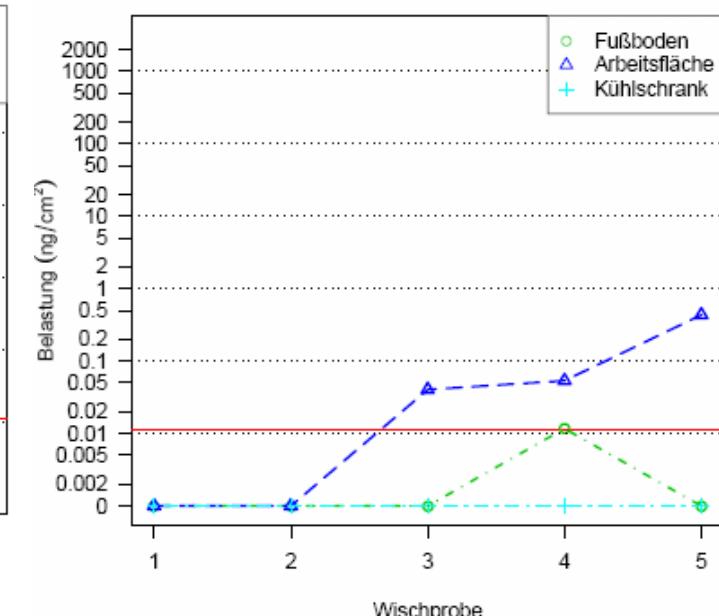
Cyclophosphamid



5-Fluorouracil

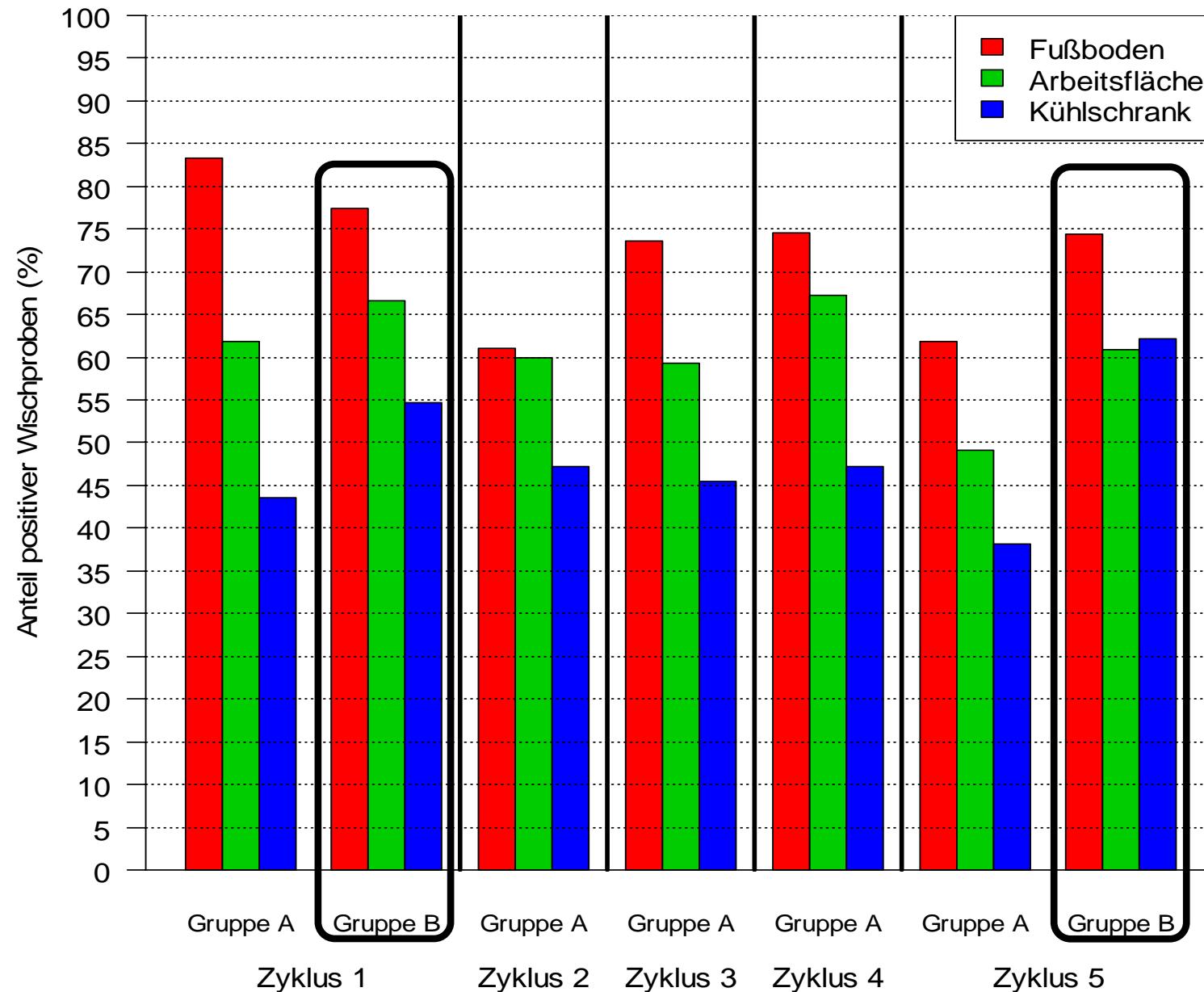


5-Fluorouracil

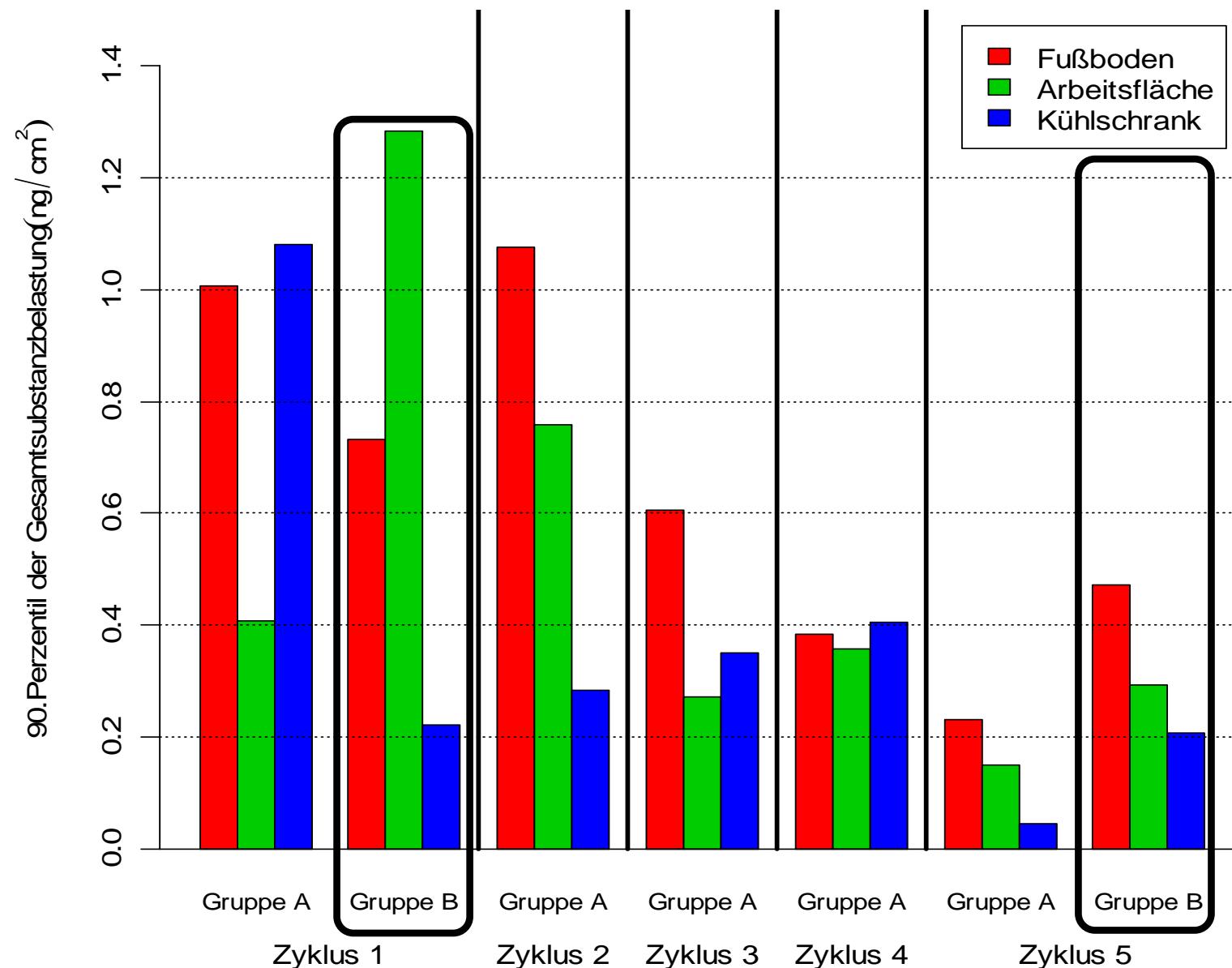


→ zunehmende Belastung entspricht nicht der Erwartung!

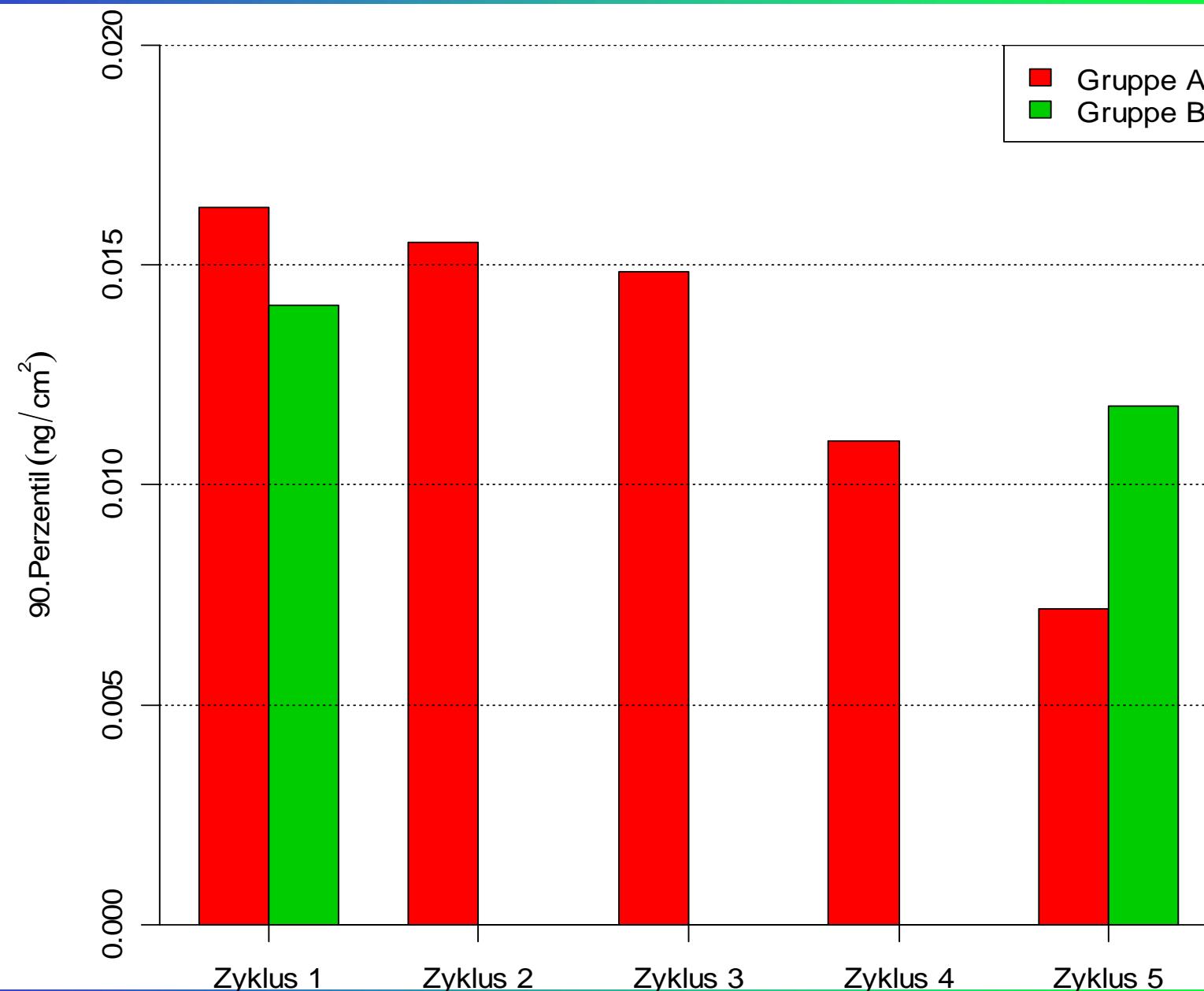
Anteil positiver Wischproben nach Zyklus und Orten



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 Nachweigrenze, max. 1.880 ng/cm² Gemcitabin
- Verteilung der **positiven Proben**:
Boden > Arbeitsflächen > Kühlschrank
5-FU/CP/Gemcitabin > Ifosfamid > Etop./MTX > Paclitaxel ≈ Docetaxel
- **kein Unterschied** zwischen Krankenhaus- und Offizinapotheken
- Messwerte < 0,1 ng/cm² 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

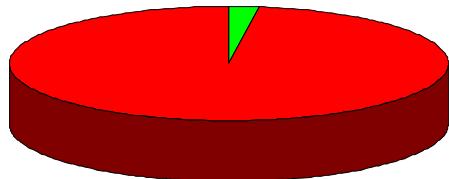
*(Tendenz erkennbar;
aber nicht statistisch signifikant)*

Zusammenfassung

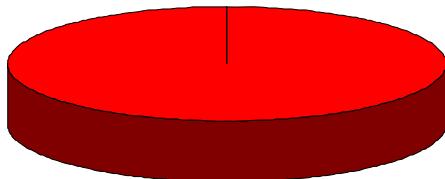
- **Entwicklung von neuen LC-MS/MS - Methoden zur Bestimmung von Arzneimitteln im Arbeitsschutz**
 - Einzelmethoden für Zytostatika
 - Multimethoden für Zytostatika und Antibiotika
 - Höhere Aussagekraft durch Multimethoden
→ Integration der Pt-Species-Analytik
- **Wischproben sind als Monitoringverfahren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

Zusammenfassung II

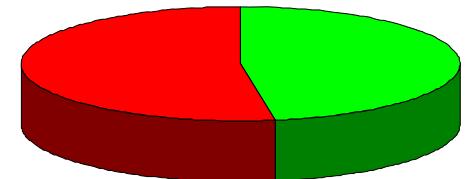
- Erstmaligen Untersuchung der Belastungssituation beim Umgang mit Antibiotika



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/cm²**
- **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
www.iuta.de
www.Pharma-Monitor.de

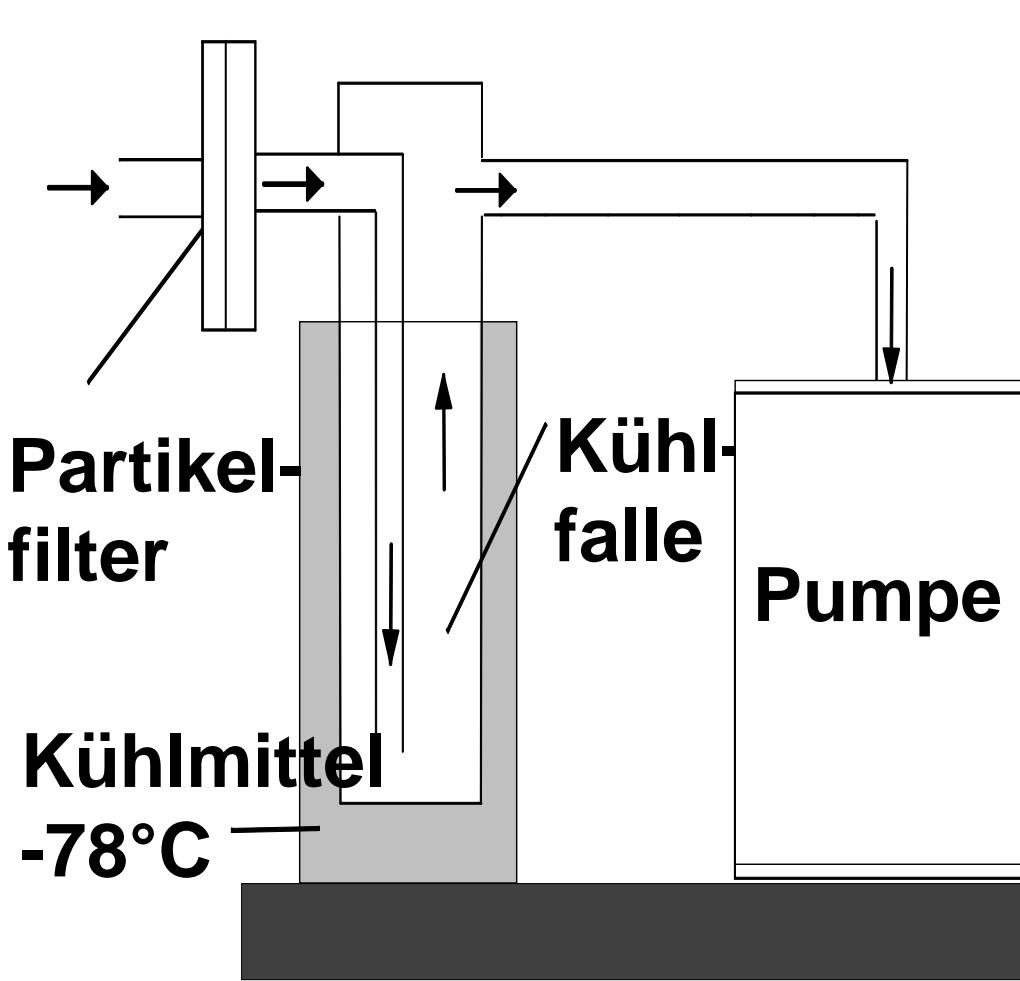


Weitere CMR-Stoffe

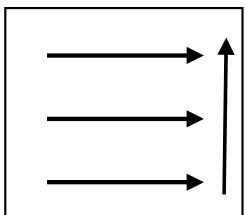
Arzneimittelgruppe	krebszeugend	fruchtschädigend	fortpflanzungs-gefährdend
Anabolika	X	X	X
Antibiotika	X		X
Glukocorticoide		X	X
Monoklonale Antikörper		X	
Steinkohlenteerdestillate	X		
Steroidhormone, Androgene, Estrogene etc.	X	X	X
Virustatika			X
Zytostatika	X	X	X

→ Nicht alle Arzneimittel einer Gruppe haben die angegebenen Eigenschaften!

Luftprobenahme



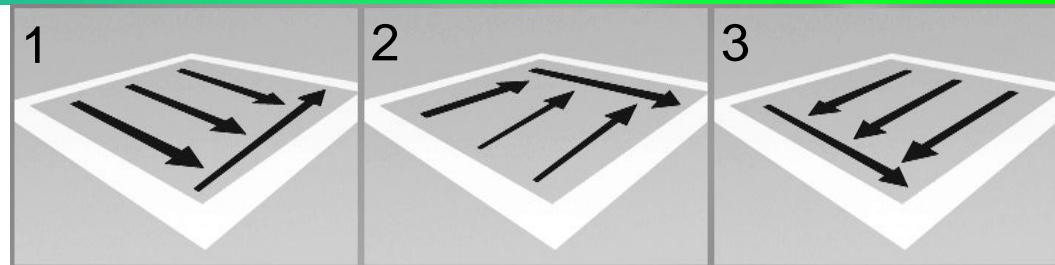
Probenahme I

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 Probenahmegeräß zurückgeben



Probenahme II

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)**