

**Entwicklung und Anwendung von LC-MS/MS
Multimethoden zur Bestimmung von Antibiotika und
Zytostatika bei Arbeitsschutz- und Umweltuntersuchungen**

Vom Fachbereich Chemie
der Universität Duisburg-Essen

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat)

genehmigte Dissertation

von
Dipl.-Chem. Jochen Türk
aus
Dachau

Referent: Prof. Dr. Heinz-Martin Kuß

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Kai Bester

Datum der mündlichen Prüfung: 10.08.2007

Für Ivett,

Markus und Viktoria

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Heinz-Martin Kuß danke ich recht herzlich für die Betreuung, die Geduld und Freiheiten bei der Durchführung sowie die von ihm gewährte Unterstützung bei dieser Arbeit.

Für die Übernahme des Korreferats, die ständige Diskussionsbereitschaft und die wertvollen Ratschläge danke ich Herrn PD Dr. Kai Bester recht herzlich.

Bei Frau Dr. Thekla K. Kiffmeyer und Herrn Dipl.-Volksw. Günter Schöppe möchte ich mich für die Überlassung des interessanten Themas, die ständige Diskussionsbereitschaft und die vielen Freiräume, die letztlich in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Plegge und Herrn Dr. Teutenberg zum Aufbau einer tollen Arbeitsgruppe geführt haben, bedanken.

Speziell bei Herrn Marius Reinders möchte ich für die vielen gemeinsamen Stunden in unserem alten Büro, im Labor und insbesondere beim Einfahren der LC-MS/MS bedanken.

Für Ihr Engagement und die Durchführung einiger AOP-Versuche möchte ich mich bei Jörg Plöger und Kimmo Koivisto bedanken. Das Antibiotika-Monitoring wäre ohne die tatkräftige Unterstützung von Nadine Stellwag und insbesondere Victoria Radnai nicht möglich gewesen. Dennis Dreyer und Helmut Gräwe haben ebenfalls einen großen Anteil am Gelingen dieser Arbeit. Darüber hinaus möchte ich mich für die Mitarbeit bei folgenden Studenten bedanken: Andrea Börgers, Simon Gerstenhöfer, René Götte, Xolelwa Lamani, Marco Neumann, Wolfgang Schneider und Jennifer Schmeier.

Für das gute Arbeitsklima und die Unterstützung bei allen aufgetretenen Problemen und Fragen danke ich allen Studenten und Mitarbeitern des Institutes für Energie- und Umwelttechnik e.V. (IUTA).

Nochmals besonders erwähnen möchte ich Christiane Balden, Bärbel Derricks, Sascha Giegold, Dr. Stefan Haep, Margret Heckmann, Maren Holzhauser, Dr. Christine Kube, Yvonne Lamboy, Sabine Loibingdorfer, Christoph Portner, Georg Reinders, Yvonne Reinders, Prof. Dr. Klaus Gerhard Schmidt, Uwe Schrock, Steffen Wiese, Maria Windeler, Ralf Worsseg, Marco Zedda und Johanna Zurawski – **Herzlichen Dank!**

Frau Bettina Becker und Herrn Dr. Stephan Kabasci von Fraunhofer UMSICHT möchte ich für die gute Zusammenarbeit, intensive Unterstützung und viele hilfreiche Diskussionen bei den AiF Krankenhausabwasserprojekten danken.

Herrn Dr. Thorsten Teutenberg danke ich für die immer zeitnahe Erstkorrektur aller Texte und die vielen inspirierenden Diskussionen bei der Entwicklung neuer Ideen. Herrn Dr. Volker Plegge bin ich nicht nur für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung und fürs Korrigieren dieser Arbeit dankbar, sondern auch für die gute Zusammenarbeit bei der Weiterentwicklung unseres Bereiches in den letzten Jahren.

Frau Claudia Hadtstein danke ich für die Korrektur des pharmazeutischen Teils und die stets interessanten Diskussionen zwischen einer Apothekerin und einem Chemiker.

Herrn Dr. Paul J.M. Sessink danke ich für die Bereitstellung der ersten Antibiotika-Wischproben sowie die Inspiration zu Beginn dieser Arbeit. Allen teilnehmenden Mitarbeitern sowie dem nordrhein-westfälischen Krankenhaus danke ich für die Kooperationsbereitschaft und Unterstützung bei der Durchführung der Monitoring-Studie. Allen beteiligten Apotheken gilt der Dank für die anonymisierte Verwendung Ihrer Messdaten.

Für die finanzielle Unterstützung danke ich der Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege (bgw) sowie der Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen (AiF), die aus Mitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie (BMWi), viele Arbeiten unterstützt hat. Ein besonderer Dank gilt auch an das Ministerium für Innovation, Wissenschaft, Forschung und Technologie des Landes Nordrhein-Westfalen (MIWFT), dessen finanzielle und apparative Unterstützung viele Arbeiten erst ermöglicht haben.

Abseits des Laboralltags haben die intensiven Diskussionen mit der „Dortmunder“ Doppelkopfrunde auch zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Ein herzlicher Dank an Dr. Michael Schlüsener, Dr. Jens Andresen, Dr. Jörn Sickerling, Dr. Klaus Sielex und PD Dr. Kai Bester.

Allen, die in irgendeiner Weise am Gelingen dieser Arbeit beteiligt waren, danke ich herzlich für die gute Zusammenarbeit. Jeder Einzelne hat mir mit seinen Erfahrungen, Wissen und Ratschlägen sehr weitergeholfen.

Zu guter Letzt möchte ich meinen herzlichsten Dank meiner Familie und insbesondere meiner Frau Ivett aussprechen, die mir während des Studiums und der Promotion mit viel Geduld immer hilfreich zur Seite stand und für die notwendige Abwechslung gesorgt hat.

ZUSAMMENFASSUNG

Beim Umgang mit hochwirksamen Arzneimitteln, wie z. B. Antibiotika und Zytostatika, muss neben dem Patientenwohl auch das gesundheitsschädliche Potential für die damit in Berührung kommenden Personen sowie der Umweltschutz beachtet werden.

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Anwendung flüssigchromatographischer Multianalyse- und Detektionsmethoden zur Bestimmung von arbeitsschutz- und umweltschutzrelevanten Antibiotika und Zytostatika in Apotheken und Krankenhäusern.

Für die Anwendung bei Antibiotika - Arbeitsschutzuntersuchungen wurde eine Multimethode zur Bestimmung von acht strukturell unterschiedlichen Wirkstoffen mittels HPLC-UV, -MS und -MS/MS entwickelt. Der Vergleich der verschiedenen Detektionsarten hat gezeigt, dass HPLC-UV und -MS zur Messung von Wischproben mit hohen Konzentrationen, z. B. zur Reinigungsvalidierung oder Untersuchungen nach unbeabsichtigten Substanzfreisetzungen, geeignet sind. Beim Umgebungs- und Biomonitoring sollte aufgrund der zu erwartenden Konzentrationen im unteren ng/mL-Bereich und der Matrixeffekte bei Urinproben die Tandemmassenspektrometrie eingesetzt werden. Die Auswertung von ersten Wischproben aus vier europäischen Kliniken zeigte, dass bei der Zubereitung von Cefuroxim 89 % der Arbeitsflächen belastet waren.

Zur erstmaligen Erfassung der Arbeitsplatzbelastung sowie der inneren und äußeren Exposition der Mitarbeiter gegenüber Antibiotika wurde die LC-MS/MS-Methode um sieben Wirkstoffe erweitert und ein kombiniertes Umgebungs- und Biomonitoring auf die Substanzen Amoxicillin, Ampicillin, Cefazolin, Cefotaxim, Cefotiam, Cefuroxim, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Ofloxacin, Penicillin G, Penicillin V, Piperacillin, Trimethoprim, Sulfamethoxazol und Vancomycin durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass 98 % der Arbeitsflächen und 100 % der Arbeitskleidung unter den untersuchten Arbeitsbedingungen mit Antibiotika belastet waren. Eine Korrelation zwischen den gefundenen Belastungen und den Angaben zu Art und Menge der verarbeiteten Substanzen und der Tätigkeit der einzelnen Beschäftigten ist

erkennbar. Die im Untersuchungszeitraum zubereiteten bzw. applizierten Substanzen wurden häufig und in vergleichsweise hohen Konzentrationen von bis zu 248 ng/cm² gefunden. Zusätzlich zu den am gleichen Tag verarbeiteten Substanzen konnten insbesondere auf Flächen und Textilien eine Vielzahl weiterer Antibiotika bestimmt werden. Untersuchungen von Urinproben haben eine innere Exposition im unteren ng/mL-Bereich bei 48 % der Beschäftigten nachgewiesen. Neben der geringeren Anzahl verschiedener Antibiotika konnte im Gegensatz zu den Flächen- und Textilbelastungen beim Biomonitoring keine Belastung mit mehreren Substanzen festgestellt werden. Abbildung 0-1 zeigt zusammenfassend die anteilig belasteten Proben der verschiedenen Untersuchungen.

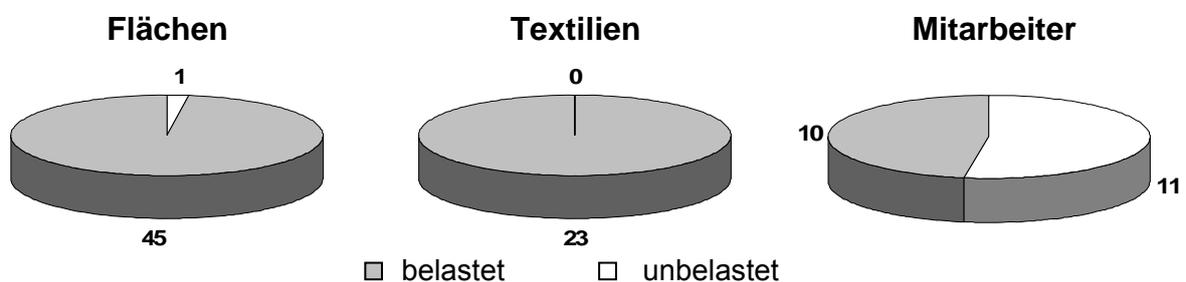


Abbildung 0-1: Zusammenfassung der Antibiotika-Belastungssituation beim Umgebungs- und Biomonitoring in einem Nordrhein-Westfälischen Krankenhaus.

Neben den in dieser Arbeit nachgewiesenen direkten Kontaminationspfaden sollten zukünftig auch indirekte Kontaminationspfade und –mechanismen, aber auch die Effektivität der derzeitigen Flächenreinigungsverfahren untersucht werden. Eine toxikologische Bewertung dieser Ergebnisse im Sinne einer Abschätzung eventueller gesundheitlicher Risiken ist derzeit allerdings noch nicht möglich. Aus diesem Grund ist eine arbeitsbedingte Belastung der Mitarbeiter zu vermeiden. Beim Umgang mit Antibiotika stellen neben der Resistenzproblematik insbesondere Allergien ein erhebliches Gefährdungspotential für die Mitarbeiter im Gesundheitswesen dar.

Für den Einsatz beim Zytostatika – Monitoring wurde als Ersatz für die bisher durchgeführten substanzspezifischen Probenahme- und GC-MS-Einzelstoffanalysemethoden im Rahmen dieser Arbeit eine wesentlich einfachere LC-MS/MS-Multimethode zur simultanen Probenahme und Analyse der Zytostatika 5-Fluorouracil, Chlorambucil, Cyclophosphamid, Cytarabin, Etoposid, Ifosfamid und Methotrexat entwickelt. Die Validierungsuntersuchungen haben gezeigt, dass

insbesondere die Probenahme auf unterschiedlichen Oberflächen einen großen Einfluss auf die Wiederfindungsrate hat.

Die Ergebnisse der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten LC-MS/MS-Analysen zeigen das aus der Literatur bekannte Bild für Zytostatika-Einzelanalysen. Die Belastungssituation an verschiedenen Probenahmestellen innerhalb als auch außerhalb der Apotheke unterscheidet sich über mehrere Dekaden ($< 0,001 \text{ ng/cm}^2$ bis 796 ng/cm^2). Bei der Gesamtbewertung der Analyseergebnisse einer Apotheke, einer onkologischen Ambulanz oder einer Krankenhausstation ist aufgrund der großen Unterschiede zwischen sauberen und belasteten Oberflächen die durch den Flächeneinfluss entstehende Messunsicherheit zu vernachlässigen. Problematisch bei der Bewertung von Einzelergebnissen ist, dass entsprechend der GefStoffV beim Umgang mit CMR-Stoffen die Forderung nach einer Nullexposition besteht und aufgrund fehlender Daten bisher keine Schwellen- oder Richtkonzentration festgesetzt werden kann. Insgesamt kann bei konsequenter Umsetzung des Stands der Technik bei Zubereitung und Umgang mit Zytostatika durch den Einsatz technischer und persönlicher Schutzausrüstung sowie durch intensive Schulung der Mitarbeiter die Exposition minimiert werden, so dass das Risiko beim Umgang mit CMR-Stoffen erheblich gesenkt wird. Sowohl zur Überprüfung der Arbeitsplatzbelastung und des Erfolgs der getroffenen Maßnahmen ist mit dem in dieser Arbeit entwickelte LC-MS/MS-Multianalyseverfahren sehr einfach und kostengünstig möglich. Im Fall von unbeabsichtigten Substanzfreisetzungen ist zur Untersuchung von Substanzaufnahmen bei den betroffenen Mitarbeitern ein Biomonitoring und zur Kontrolle der Reinigungsmaßnahmen ein Umgebungsmonitoring zu empfehlen.

Eine substanzunabhängige statistische Betrachtung von insgesamt 2644 Messwerten dieser Arbeit liegt das 90. Perzentil bei $0,028 \text{ ng/cm}^2$. Zur Bildung eines deutschen Orientierungswertes auf Basis einer statistischen Datenanalyse müssen die in dieser Arbeit gemessenen Werte um weitere Messwerte wie Platinmessungen und GC-MS Daten des IUTA, den Analyseergebnissen der LMU München sowie die im Rahmen der MEWIP-Studie zu erwartenden Messwerte erweitert werden. Auf Grundlage dieser breiten Datenbasis kann durch Diskussion mit den Landesorganisationen und Berufsgenossenschaften die Bildung von Orientierungswerten erfolgen.

Neben dem Arbeitsschutz wurde im Rahmen dieser Arbeit auch der Umweltschutzaspekt beim Umgang mit hochwirksamen Arzneimitteln betrachtet. Über die Patientenausscheidungen gelangen die Wirkstoffe und deren Metaboliten in den Wasserkreislauf. Da viele der Wirkstoffe nicht biologisch abbaubar sind, erfolgt ein Eintrag dieser Substanzen aus den Kläranlagenabläufen in die Oberflächengewässer. Eine möglichst frühzeitige Eliminierung am Eintragsort kann einen Beitrag zur Reduzierung von Umwelteinträgen leisten. Hierzu wurde im Labormaßstab ein erweitertes Oxidationsverfahren (AOP – advanced oxidation process) zur Behandlung von hoch belasteten Abwasserteilströmen in Krankenhäusern entwickelt und im halbtechnischen Maßstab evaluiert. Die substanzspezifische Verfahrensanalytik zur Kontrolle und Optimierung des AOP-Verfahrens erfolgte mit einer neu entwickelten LC-MS/MS-Multimethode. Die Nachweisgrenzen für acht Antibiotika und sieben Zytostatika liegen zwischen 0,1 und 5 µg/L. Zur exakten Quantifizierung ist wie bei der Bestimmung von Urinproben beim Biomonitoring eine gewichtete Matrix-Kalibration notwendig. Neben der direkten Analyse von Krankenhausabwasser-Teilströmen ist durch Ergänzung einer geeigneten Probenvorbereitung (clean-up und Aufkonzentrierung) mittels Festphasenextraktion auch die Analyse von wesentlich niedriger belasteten Kläranlagenabläufen oder Oberflächengewässern möglich.

In den AOP - Laborversuchen wurden für die ausgewählten Zytostatika und Antibiotika die Effektivität des Abbaus in Abhängigkeit von der verwendeten UV-Strahlung, Art und Menge des Oxidationsmittels, Behandlungsdauer und Temperatur sowie der Einfluss verschiedener Reaktionsvolumina untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass ein Abbau (> 99 %) sowie eine effektive Reduktion der ökotoxikologischen Eigenschaften (> 95 %) sowohl mittels Ozonisierung als auch mittels UV-Oxidation erreichbar ist. Je nach Art des eingesetzten Oxidationsmittels (Ozon oder Wasserstoffperoxid) und dem verwendeten UV-Strahler sind Behandlungszeiten zwischen 10 und 90 Minuten erforderlich. Die im Rahmen dieser Arbeit im Labormaßstab durchgeführte Verfahrensentwicklung stellt die Grundlage für den Bau der in Abbildung 5-34 skizzierten Pilotanlage sowie weiterer Untersuchungen in Hinblick auf Effektivität und Wirtschaftlichkeit des Verfahrens dar. Als Fazit der Untersuchungen ist festzuhalten, dass die drei Verfahrensvarianten (Hg-Nd-Strahler + H₂O₂, Hg-Md-Strahler + H₂O₂ und Ozonisierung) zum Abbau von Antibiotika und Zytostatika aus Krankenhausabwasser-Teilströmen geeignet sind.

SUMMARY

Apart from patient's wellbeing, the potential health risk for persons coming into contact with highly effective drugs such as antibiotics and antineoplastics as well as the environmental protection while handling these drugs must be considered.

The aim of this thesis is to develop and apply liquid chromatographic multi methods for analysis of occupational exposure and environmental protection-relevant antibiotics and cytostatic drugs in pharmacies and hospitals.

For analysis of occupational exposure, a multi method was developed for eight structurally different antibiotics by means of HPLC-UV, -MS and -MS/MS. The comparison of different types of detection showed that HPLC-UV and -MS were suitable for measurements of wipe samples with high concentrations, e. g. for validation of cleaning procedures or analysis after unintentional substance release. For environmental and biological monitoring purposes, tandem mass spectrometry should be used due to low concentrations in the ng/mL range and matrix effects from urine samples. The results of first wipe samples from four European hospitals showed that 89 % of the surfaces were contaminated during the preparation of cefuroxime.

In the first investigation of surface contaminations as well as internal and outside human exposure to antibiotics, the developed LC-MS/MS method was further extended to seven active substances. A combined environmental and biological monitoring of amoxicillin, ampicillin, cefazoline, cefotaxime, cefotiam, cefuroxime, chloramphenicol, ciprofloxacin, ofloxacin, penicillin G, penicillin V, piperacillin, trimethoprim, sulfamethoxazole and vancomycin was conducted. It was found that 98 % of the work surfaces and 100 % of the work clothes were contaminated with antibiotics under the examined conditions. A correlation between contaminations and preparation of the antibiotics was observed. During the investigation period, used substances were detected frequently and found in relatively high concentrations of up to 248 ng/cm². In addition to the prepared compounds, a variety of other antibiotics in particular on surfaces and textiles could also be determined.

An internal exposition was detected at 48 % of the total number of employees. However, the detected concentrations were in the lower ng/mL range and thus

substantially lower than the surfaces and textile samples. Beside the smaller number of different antibiotics no exposure with several substances could be determined contrary to the surface and textile contaminations when biological monitoring was performed. Figure 0-2 gives a summary of the contaminated samples.

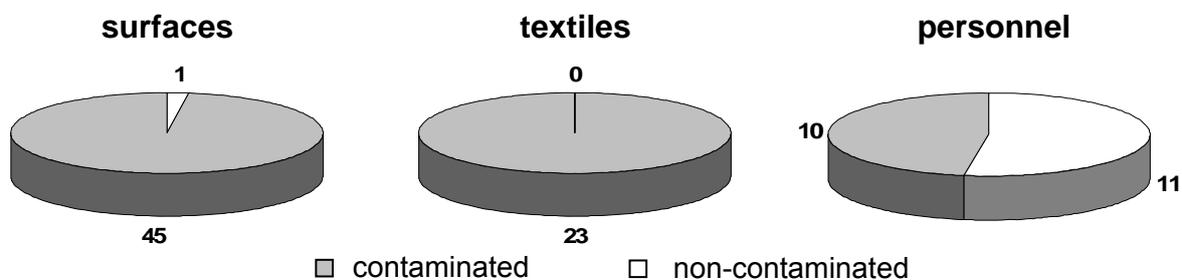


Figure 0-2: Summary of the antibiotic contaminations with the environmental and biological monitoring in a North Rhine-Westphalian hospital.

In addition to the direct contamination pathways, indirect contamination sources and mechanisms should be investigated in the future work. Moreover, the effectiveness of the current surface cleaning procedures should be analysed. However, a toxicological evaluation of these results and estimation of possible health risks is not possible. For this reason occupational exposure of the personnel has to be prevented. Apart from the resistance problem while handling antibiotics, in particular allergies represent a substantial hazard potential for the employees in the health care system.

As a replacement for the substance specific cytostatic drug sampling and GC-MS single compound analysis methods accomplished so far in the context of this thesis a substantially simpler LC-MS/MS multi method was developed for the simultaneous sampling and analysis of the cytostatic drugs 5-fluorouracil, chlorambucil, cyclophosphamide, cytarabin, etoposide, ifosfamide and methotrexate. The validation data obtained confirmed that sampling on different surfaces had a large influence on the recovery rates.

Results obtained from the novel LC-MS/MS multi compound analysis in this thesis were comparable to those of antineoplastic analysis from the literature. Contamination levels at different sampling points within and outside of the pharmacy differ over several orders of magnitude (ranges from $< 0.001 \text{ ng/cm}^2$ to 796 ng/cm^2). During total evaluation of a pharmacy or ward, measurement uncertainty resulting

from surface influence can be neglected due to a large difference between clean and contaminated surfaces. During evaluation of single results, however, it is problematic that according to the German regulations for handling hazardous substances (GefStoffV) for CMR compounds it is a requirement for no occupational exposure. Therefore, limit values for handling of these substances do not exist. Due to missing toxicological and statistical data, there are also no threshold values. Altogether exposure can be minimized by consistent application of the state-of-the-art preparation and handling of cytostatic drugs using technical and personal protection equipment, as well as intensive training of the personnel. Therefore, the risk during handling of CMR substances could be substantially lowered. Analysis of the working situation and success of the met measures can be achieved in a simple and economic way by using the LC-MS/MS multi methods developed in this thesis. In case of unintentional substance release or accident, biological monitoring of the affected employee to evaluate the substance uptake and environmental monitoring to control the cleaning procedures are recommended.

Substance independent statistic calculations of 2644 measured cytostatic drugs gave a value of 0.028 ng/cm² for the 90th percentile. For the formation of an orientation value on the basis of a statistic data analysis the values in this thesis must be extended by the other German values like platinum and GC-MS data from IUTA, results from the LMU Munich as well as the expected results from the MEWIP study. On the basis of this broad database, the formation of orientation values can be made possible via discussion between pharmacy associations and government safety organizations.

Next to occupational safety in this thesis, aspects of environmental protection were also considered while handling highly effective medicaments in hospitals. Pharmaceuticals and their metabolites excreted by patients may reach the sewage system and wastewater treatment plants. Since many of these highly effective and toxic compounds are not biologically degradable, these substances are released directly into surface waters. Immediate elimination of these substances at the inlet points could contribute to the reduction of environmental loads of highly active ingredients. Advanced oxidation processes (AOP) were developed for the treatment of highly loaded part streams of hospitals and evaluated in a semiworks. For substance specific process analysis for control and optimisation of the AOP

procedure a LC-MS/MS multi method was developed and applied. Limits of detection for eight antibiotics and seven cytostatic drugs were between 0.1 and 5 µg/L. A weighted matrix calibration for accurate quantification was necessary for this purpose as well as for the analysis of urine samples from biological monitoring. In addition to direct analysis of hospital part streams, analysis of substantially lower concentration of sewage treatment plant effluents and surface waters is also possible by adding a suitable sample preparation (clean up and enrichment) by means of solid phase extraction.

Elimination efficiency of selected cytostatic drugs and antibiotics were investigated in dependence of UV radiation, type and quantity of the oxidation agent, period of treatment and temperature as well as the influence of different reaction volumes in laboratory experiments. The results showed that degradation of the compounds (> 99 %) as well as a reduction of ecotoxicological characteristics (> 95 %) can be achieved with ozone and also UV oxidation processes. Treatment periods between 10 and 90 minutes per litre for primary compound degradation were necessary depending on the type of oxidation agent (ozone or hydrogen peroxide) and on whether low or medium pressure mercury lamps were used. Therefore, AOPs are possible for direct elimination of antibiotics and cytostatic drugs from part streams of hospital wastewaters. Experiments conducted in this thesis are the basis for the construction of the pilot plant as shown in Figures 5-34. Further investigations for process optimisation in terms of efficiency and economy will be conducted in the future work.

INHALTSVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG	VI
SUMMARY	X
INHALTSVERZEICHNIS	XIV
TABELLENVERZEICHNIS	XVIII
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	XX
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	XXIII
1 Einleitung	1
2 Theoretischer Teil	3
2.1 Arzneimittel und Arbeitsschutz	3
2.1.1 Allgemeines	3
2.1.2 Antibiotika	8
2.1.2.1 Einleitung	8
2.1.2.2 Hemmung der Zellwandsynthese	9
2.1.2.3 Hemmung der Proteinsynthese	11
2.1.2.4 Unterdrückung der DNS- und RNS-Synthese	13
2.1.2.5 Gefährdungspotential im Arbeitsschutz	16
2.1.3 Zytostatika	17
2.1.3.1 Einleitung	17
2.1.3.2 Schädigung der DNS	18
2.1.3.3 Interferenz mit der DNS-Synthese	20
2.1.3.4 Hemmung der Mikrotubuli-Funktion	21
2.1.3.5 Hemmung des hormonabhängigen Wachstums	22
2.1.3.6 Sonstige Zytostatika	22
2.1.3.7 Gefährdungspotential im Arbeitsschutz	23
2.2 Analytik von Arzneimitteln	25
2.2.1 Einleitung	25
2.2.2 Antibiotika	26
2.2.3 Zytostatika	29

2.3	Arzneimittelkontaminationen im Gesundheitswesen.....	31
2.3.1	Einleitung.....	31
2.3.2	Umgebungsmonitoring	32
2.3.3	Biomonitoring	34
2.4	Pharmaka in der Umwelt	36
2.4.1	Vorkommen und Bewertung	36
2.4.2	Minimierungskonzepte.....	40
3	Problemstellung.....	44
4	Materialien und Methoden.....	46
4.1	Chemikalien und Lösungsmittel.....	46
4.2	Geräte und sonstige Materialien	48
4.2.1	Kleingeräte und Verbrauchsmaterialien.....	48
4.2.2	AOP-Versuchsanlagen	50
4.2.3	Analysensystem 1: HPLC-UV-MS	51
4.2.4	Analysensystem 2: LC-MS/MS.....	52
4.2.5	Externe Analytik	52
5	Ergebnisse und Diskussion.....	53
5.1	Ermittlung von Zytostatika - Verbrauchsmengen	53
5.2	Substanzauswahl.....	59
5.3	Methodenentwicklung zur Bestimmung von Antibiotika im Arbeitsschutz.....	61
5.3.1	Einleitung.....	61
5.3.2	Bestimmung von Cefuroxim in Wischproben.....	61
5.3.3	Bestimmung von acht Antibiotika in Wisch- und Urinproben	66
5.3.3.1	Umgebungsmonitoring	66
5.3.3.2	Biomonitoring	67
5.3.3.3	LC-MS- und LC-MS/MS - Methodenentwicklung	71
5.3.3.4	Empfindlichkeit und Matrixeffekte	75
5.3.4	Zusammenfassende Bewertung und Fazit	76

5.4	Antibiotika - Monitoring auf zwei Stationen eines Krankenhauses.....	78
5.4.1	Einleitung.....	78
5.4.2	Methodenadaptierung und Revalidierung.....	79
5.4.3	Ergebnisse und Diskussion	82
5.4.3.1	Allgemeine Anmerkungen	82
5.4.3.2	Wischprobenuntersuchungen	83
5.4.3.2.1	Flächenbelastung auf der Intensivstation	83
5.4.3.2.2	Flächenbelastung auf der Normalstation.....	86
	Beschreibung	86
5.4.3.3	Belastung der Arbeitskleidung	88
5.4.3.3.1	Intensivstation	88
5.4.3.3.2	Normalstation	90
5.4.3.4	Biomonitoring.....	91
5.4.3.4.1	Intensivstation	91
5.4.3.4.2	Normalstation	92
5.4.4	Zusammenfassende Bewertung und Fazit	94
5.5	Umgebungsmonitoring zum Nachweis von Zytostatika auf unterschiedlichen Oberflächen	98
5.5.1	Einleitung.....	98
5.5.2	Materialauswahl zur Probenahme	98
5.5.3	Auswahl des Probenahmelösungsmittels	100
5.5.4	Flächenvergleich	101
5.5.5	Validierung des Extraktionsverfahrens	103
5.5.6	LC-MS/MS - Methode.....	106
5.5.7	Zytostatika – Kontaminationen in Apotheken und Kranken häusern	108
5.5.8	Zusammenfassende Bewertung und Ausblick.....	111
5.6	Entwicklung eines Verfahrens zur oxidativen Behandlung von Krankenhausabwasser-Teilströmen	114
5.6.1	Einleitung.....	114
5.6.2	Entwicklung einer LC-MS/MS-Multimethode zur AOP- Verfahrenskontrolle	115

5.6.3	Ergebnisse der Experimente im Labormaßstab	117
5.6.4	Verfahrensevaluierung im halbtechnischen Maßstab	120
5.6.5	Zusammenfassende Bewertung und Ausblick	124
5.7	Kapitelübergreifende Diskussion der analytischen Methoden	127
6	Anhang	131
6.1	Analysevorschriften und Messparameter.....	131
6.1.1	Bestimmung von Antibiotika in Wisch- und Textilproben mittels LC-MS/MS (Umgebungsmonitoring).....	131
6.1.2	Bestimmung von Antibiotika in Urinproben mittels LC-MS/MS (Biomonitoring)	133
6.1.3	Bestimmung von Zytostatika in Wischproben (Umgebungsmonitoring)	134
6.1.4	Bestimmung von Antibiotika und Zytostatika in Toilettenabwässern .	136
6.2	AOP - Versuche.....	138
6.2.1	Aufbau der Versuchsanlagen	138
6.2.2	Versuchsdurchführung	141
6.2.3	Kinetische Auswertung der AOP-Versuche	142
6.3	Sonstiges	144
6.3.1	Fragebogen zur Erfassung der Antibiotikaexposition	144
6.3.2	Standardarbeitsanweisung und Probenahmeprotokoll zur Untersuchung von Zytostatika - Flächenbelastungen	147
7	Literatur	151
8	Veröffentlichungen	186
8.1	Publikationen	186
8.2	Posterpräsentationen.....	188
8.3	Vorträge.....	192
9	CURRICULUM VITAE	195

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 2-1:	Zytostatika - Klassifizierung der internationalen Krebsforschungsbehörde (IARC) [102-105, 127-132].	24
Tabelle 2-2:	Cyclophosphamid (CP) in drei niederländischen Kliniken [356].	33
Tabelle 4-1:	Spezifikationen der eingesetzten UV-Apparaturen.	51
Tabelle 5-1:	Verbrauchsmengen von Antibiotika und Zytostatika in Krankenhäusern und Apotheken von 1992 bis 2002.	54
Tabelle 5-2:	Zytostatikaverbrauch in 128 Apotheken und Hochrechnung auf den Gesamtverbrauch in Deutschland für das Jahr 2005.	56
Tabelle 5-3:	Zytostatikaverbrauch in deutschen Apotheken zwischen 1992 und 2005.	57
Tabelle 5-4:	Wiederfindungsraten, Präzision und Richtigkeit bei der Bestimmung von dotierten Urinproben an einem Tag (intra-day).	69
Tabelle 5-5:	Wiederfindungsraten, Präzision und Richtigkeit bei der Bestimmung von dotierten Urinproben mittels LC-MS/MS (n=9) an drei unterschiedlichen Tagen (inter-day).	70
Tabelle 5-6:	Messparameter zur Bestimmung von acht Antibiotika mittels HPLC-UV-MS.	71
Tabelle 5-7:	Nachweisgrenzen von Wischproben- und Urinprobenextrakten bei einem Signal-zu-Rausch-Verhältnis von 3:1 mittels UV-, MS- und MS/MS-Detektion.	75
Tabelle 5-8:	Achsenabschnitt, Steigung und Bestimmtheitsmaß (R^2) der mit $1/x$ gewichteten Matrix- und Standardkalibrationen bei Messung mittels LC-MS/MS.	76
Tabelle 5-9:	Übersicht zum durchgeführten Bio- und Umgebungsmonitoring	79
Tabelle 5-10:	Wiederfindungsraten (n = 3, c = 100 µg/L), Nachweis- und Bestimmungsgrenzen von 15 Antibiotika beim Umgebungs- und Biomonitoring.	81
Tabelle 5-11:	Beschreibung der auf der Intensivstation genommenen Wischproben.	83
Tabelle 5-12:	Beschreibung der auf der Normalstation genommenen Wischproben.	86
Tabelle 5-13:	Gegenüberstellung der Expositions- und Belastungssituation der 24 Studienteilnehmer.	95
Tabelle 5-14:	Optimierte MS/MS-Messbedingungen zur Bestimmung von sieben Zytostatika.	106
Tabelle 5-15:	Statistische Auswertung der Zytostatikaanalysen.	108
Tabelle 5-16:	Leuchtbakterienhemmung und Genotoxizität dotierter Leitungswasserproben vor und nach oxidativer Behandlung.	118

Tabelle 5-17:	Summenparameter und Genotoxizität zu dem in Abbildung 5-29 dargestellten Versuch.....	120
Tabelle 5-18:	Summenparameter und Genotoxizität beim Abbau von Antibiotika und Zytostatika mit einem Vakuum-UV-Hg-Md-Strahler (V = 4 L, 1 g/L H ₂ O ₂).....	121
Tabelle 5-19:	Summenparameter und Genotoxizität zu dem in Abbildung 5-32 dargestellten Versuch.....	123
Tabelle 5-20:	Übersicht der MRM-Übergänge und instrumentellen Nachweisgrenzen der in dieser Arbeit untersuchten Substanzen.....	130
Tabelle 6-1:	HPLC-Gradient zur Bestimmung von Antibiotika.....	131
Tabelle 6-2:	MS/MS-Detektionsparameter zur Bestimmung von 15 Antibioika. ...	132
Tabelle 6-3:	HPLC-Gradient zur Bestimmung von sieben Zytostatika.....	134
Tabelle 6-4:	MS/MS-Einstellungen zur Bestimmung von sieben Zytostatika.....	135
Tabelle 6-5:	HPLC-Gradient zur Bestimmung von Antibiotika und Zytostatika.....	136
Tabelle 6-6:	MS/MS-Einstellungen und Nachweisgrenzen (s/n = 3:1) der Analyseverfahren für die Untersuchung von Zytostatika und Antibiotika.....	137

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 2-1:	Übersicht zum Schutzstufenkonzept gemäß GefStoffV.....	5
Abbildung 2-2:	Rechtliche Grundlagen für den Umgang mit Zytostatika im Apothekenbereich in Deutschland [93].	7
Abbildung 2-3:	Grundstruktur von Penicillinen (a) und Cephalosporinen (b)	10
Abbildung 2-4:	Struktur des Glykopeptids Vancomycin	10
Abbildung 2-5:	Wirkungsmechanismen verschiedener Antibiotika an der Zellwand und im Zellkern (30S- und 50S-Untereinheiten der Ribosomen) von Hemmstoffen der bakteriellen Proteinsynthese [100].	11
Abbildung 2-6:	Struktur von Chloramphenicol	13
Abbildung 2-7:	Strukturen der Fluorchinolone Ciprofloxacin (a) und Ofloxacin (b).	14
Abbildung 2-8:	Schema der Tetrahydrofolat-Synthese und Wirkungsmechanismus der Sulfonamide in Kombination mit Trimethoprim [101].	15
Abbildung 2-9:	Strukturen der Stickstofflost-Derivate Cyclophosphamid (a), Ifosfamid (b) und Chlorambucil (c).....	19
Abbildung 2-10:	Strukturen der Antimetabolite Methotrexat (a), 5-Fluorouracil (b), 6-Mercaptopurin (c) und Cytarabin (d).....	21
Abbildung 2-11:	Struktur von Paclitaxel.....	22
Abbildung 2-12:	Eintragspfade für Arzneimittel in die aquatische Umwelt.....	37
Abbildung 5-1:	HPLC-DAD – Chromatogramm zur Bestimmung von 8 Antibiotika. ...	62
Abbildung 5-2:	LC-MS und DAD – Chromatogramm einer positiven Wischprobe.	63
Abbildung 5-3:	Analysenergebnisse des Cefuroxim Umgebungsmonitorings.....	64
Abbildung 5-4:	Durchführung der Probenahme beim Umgebungsmonitoring.....	66
Abbildung 5-5:	Wiederfindungsraten des Umgebungsmonitorings für acht Antibiotika von dotierten Metalloberflächen.	67
Abbildung 5-6:	Wiederfindungsraten des Biomonitorings für acht Antibiotika aus dotierten Urinproben.	68
Abbildung 5-7:	HPLC-DAD- ($\lambda = 200$ bis 450 nm) und HPLC-ESI ⁺ -MS-Chromatogramme (SIM) einer gespikten Urinprobe (5 mg/L).....	72
Abbildung 5-8:	HPLC-DAD- ($\lambda = 200$ bis 450 nm) und HPLC-ESI ⁻ -MS-Chromatogramme (SIM) einer gespikten Urinprobe (5 mg/L).....	73
Abbildung 5-9:	LC-MS/MS Chromatogramm einer gespikten Urinprobe (100 μ g/L)...	74
Abbildung 5-10:	LC-MS/MS Chromatogramm (TIC) einer gespikten Wischprobe (c = 100 μ g/L) mit 15 Antibiotika.	80
Abbildung 5-11:	Flächenbelastung auf der Intensivstation.	84
Abbildung 5-12:	Flächenbelastung auf der Normalstation.	87
Abbildung 5-13:	Belastung der Stoffproben auf der Intensivstation.	89

Abbildung 5-14: Belastung der Stoffproben auf der Normalstation.....	90
Abbildung 5-15: Belastung der Urinproben auf der Intensivstation.....	91
Abbildung 5-16: Belastung der Urinproben auf der Normalstation.....	93
Abbildung 5-17: Zusammenfassung der Belastungssituation beim Umgebungs- und Biomonitoring in einem Nordrhein-Westfälischen Krankenhaus.	97
Abbildung 5-18: Wiederfindungsraten von Zytostatika auf dotierten Metalloberflächen bei der Probenahme mit unterschiedlichen Wischmaterialien.	99
Abbildung 5-19: Einfluss der Probenahmelösung.....	100
Abbildung 5-20: Einfluss der beprobten Fläche auf die Wiederfindungsrate bei der Zytostatika-Probenahme.	101
Abbildung 5-21: Optimierung des Extraktionsverfahrens in Urinbechern (a) und PE-Tubes (b).	103
Abbildung 5-22: Konzentrationsunabhängige Wiederfindungsraten des Extraktionsverfahrens im Bereich von 91 bis 455 ng/mL (n=12).	105
Abbildung 5-23: LC-MS/MS Chromatogramm (TIC) eines Zytostatika-Standards.....	107
Abbildung 5-24: Box-Whisker-Darstellung der Zytostatika-Messwerte (Wischproben).109	
Abbildung 5-25: LC-MS/MS Chromatogramm (TIC) der MEWIP-Methode.....	113
Abbildung 5-26: LC-MS/MS-Chromatogramm (TIC) eines dotierten Toilettenabwasers (100 µg/L).	116
Abbildung 5-27: Abbau von Zytostatika und Antibiotika in Leitungswasser mit einem Hg-Nd-Strahler im Labormaßstab.....	117
Abbildung 5-28: Temperaturabhängigkeit des Substanzabbaus mit einem Hg-Nd-Strahler und Wasserstoffperoxid.	118
Abbildung 5-29: Antibiotika- und Zytostatikaabbau in dotierten Toilettenabwasser mit dem optimierten Laborsystem.	119
Abbildung 5-30: Abbau von Antibiotika und Zytostatika mit einem VUV-Hg-Md-Strahler.	121
Abbildung 5-31: Photooxidativer Abbau von Antibiotika und Zytostatika in Toilettenabwasser mit einem VUV-Hg-Md-Strahler.	122
Abbildung 5-32: Abbau von Antibiotika und Zytostatika bei der Ozonisierung.....	123
Abbildung 5-33: Vergleich der verschiedenen AOP-Varianten anhand der auf das Abwasservolumen normierten Halbwertszeit τ von Cyclophosphamid bei der Behandlung von dotierten Toilettenabwässern.....	125
Abbildung 5-34: Ausblick - Schematischer Aufbau einer Demonstrationsanlage zur Eliminierung von Arzneimitteln aus Krankenhausabwasser-Teilströmen mittels erweiterter Oxidationsverfahren.....	126
Abbildung 5-35: Signalsuppression durch Matrixeffekte in Toilettenabwässern am Beispiel des zur Quantifizierung verwendeten MRM 261 → 140 amu von Cyclophosphamid (CP).	128
Abbildung 6-1: Strahler und Laborreaktor der Fa. Heraeus sowie Emissionsspektren der beiden Strahler.	138

Abbildung 6-2:	Schematische Darstellung der Laborversuchsanlage.....	139
Abbildung 6-3:	Halbtechnischer Versuchsanlage zur UV-Oxidation.	140
Abbildung 6-4:	Laborversuchsstand (Blasensäule) zur Ozonisierung der Fa. Wedeco.	140
Abbildung 6-5:	Auftragung von $\ln(c/c_0)$ gegen t zur Bestimmung der Halbwertzeit bei Annahme einer Abbaukinetik erster Ordnung.	143

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

θ	Temperatur
5-FU	5-Flourouracil
Ac	Acetyl
ACN	Acetonitril
AcSDZ	Acetylsulfadiazin
ADR	Europäisches Übereinkommen über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße (<i>Accord européen relatif au transport international des marchandises Dangereuses par Route</i>)
AGS	Ausschuss für Gefahrstoffe
AGW	Arbeitsplatzgrenzwerte
AMG	Arzneimittelgesetz
AMP	Amoxicillin
amu	Atomare Masseneinheit (<i>atomic mass unit</i>)
AMX	Ampicillin
AOP	Erweiterte Oxidationsverfahren (<i>advanced oxidation processes</i>)
APCI	Chemische Ionisation unter Atmosphärendruck (<i>atmospheric pressure chemical ionization</i>)
ara-C	Cytarabin
ArbSchG	Arbeitsschutzgesetz
ArbStättV	Arbeitsstättenverordnung
ASiG	Arbeitssicherheitsgesetz
ASR	Arbeitsstättenrichtlinien
ATV	Abwassertechnische Vereinigung (fortgeführt als ATV-DVGW bzw. DWA)
ATV-DVGW	Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft und Abfall (fortgeführt als DWA)
BCNU	Carmustin
BG	Berufsgenossenschaft
BG	Bestimmungsgrenze
BGG	Berufsgenossenschaftliche Grundsätze
BGI	Berufsgenossenschaftliche Informationen und Grundsätze für Sicherheit und Gesundheit am Arbeitsplatz

BGIA	Berufsgenossenschaftliche Institut für Arbeitsschutz
BGR	Berufsgenossenschaftliche Regeln für Sicherheit und Gesundheit bei der Arbeit
BGV	Verbindliche Vorschriften für Sicherheit und Gesundheit am Arbeitsplatz
bgw	Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege
BGW	Bundesverband der deutschen Gas- und Wasserwirtschaft
BLAC	Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Chemikaliensicherheit
BSB ₅	Biologischen Sauerstoffbedarf (in 5 Tagen)
c	Konzentration
CA	Celluloseacetat
CAB	Chlorambucil
CAP	Chloramphenicol
CCNU	Lomustin
CE	Kollisionsenergie (<i>collision energy</i>)
CE	Kapillarelektrophorese (<i>capillary electrophoresis</i>)
CEFA	Cefazolin
CEFO	Cefoperazon
CEM	kaskaden Elektronenmultiplier (<i>continuous electron multiplier</i>)
CFAZ	Cefazolin
CFTI	Cefotiam
CFTX	Cefotaxim
CFOX	Cefuroxim
ChemG	Chemikaliengesetz
Cipro	Ciprofloxacin
CLX	Cloxacillin
CMR	cancerogen, mutagen, reproduktionstoxisch
CP	Cyclphosphamid
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
CV	<i>Cone Voltage</i>
CXP	Zellausgangsspannung (<i>cell exit potential</i>)
DAB	Deutsches Arzneibuch
DAD	Diodenarraydetektor

DHFA	7,8-Dihydrofolsäure
DHPA	Dihydropterinsäuresynthetase
DIN	Deutsches Institut für Normung e. V.
DMT	Deutsche Montan Technologie GmbH
DNA	Desoxyribonukleinsäure (DNS) (<i>desoxyribonucleic acid</i>)
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DOC	gelöster organischer Kohlenstoff (<i>dissolved organic carbon</i>)
Doce	Docetaxel
DP	Orificespannung (<i>declustering potential</i>)
DVGW	Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches
DWA	Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall (ehemals ATV-DVGW)
EC	endcapped
ec	endcapped
EE	Essigsäureethylester
EG	Europäische Gemeinschaft
EG	Ethylenglykol
EI	Elektronenstoßionisation
EMA	Europäische Arzneimittelagentur (<i>European Agency for the Evaluation of Medicinal Products</i>)
ENU	N-Ethyl-N-nitroso-urea
ESI	Elektrospray-Ionisation
EU	Europäische Union
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft?
Extr.	Extrakt
F	Fraktion
FBAL	α -Fluoro- β -Alanin
FEDESA	Fédération Européenne de la Santé Anima heutige Nachfolgeeinrichtung: IFAH (<i>International Federation for Animal Health</i>)
FLD	Fluoreszenz Detektor
FP	Fokussierspannung (<i>focusing potential</i>)
GC	Gaschromatographie
GefStoffV	Gefahrstoffverordnung

Gem	Gemcitabin
G _{EU}	Einheit des umu-Test (Verdünnungsstufe)
GGAV	Verordnung über Ausnahmen von den Vorschriften über die Beförderung gefährlicher Güter
GGBefG	Gesetz über die Beförderung gefährlicher Güter
GGVSE	Verordnung über die innerstaatliche und grenzüberschreitende Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße und mit Eisenbahnen
G _L	Einheit des Leuchtbakterientests (Verdünnungsstufe)
Hg-Md	Quecksilber-Mitteldruck
Hg-Nd	Quecksilber-Niederdruck
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (<i>high performance liquid chromatography</i>)
IARC	Internationale Krebsforschungsbehörde (<i>International Agency for Research on Cancer</i>)
ICP	Induktiv gekoppeltes Plasma (<i>inductive coupled plasma</i>)
IDL	Instrumentelle Nachweisgrenze (<i>instrumental detection limit</i>)
IF	Ifosfamid
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IMSIE	Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Epidemiologie der Universität zu Köln
IS	Interner Standard
IUTA	Institut für Energie- und Umwelttechnik e.V. (gegründet als Institut für Umwelttechnologie und Umweltanalytik e.V., IUTA)
JArbSchG	Jugendarbeitsschutzgesetz
KrW-/AbfG	Kreislaufwirtschafts- und Abfallgesetz
KWB	Kompetenzzentrum Wasser Berlin
LAF	laminare Luftströmung (<i>laminar air flow</i>)
LAGA	Länderarbeitsgemeinschaft Abfall
LC	Flüssigkeitschromatographie (<i>liquid chromatography</i>)
Lit.	Literatur
LL	Flüssig-Flüssig-Extraktion (<i>liquid liquid extraction</i>)
LMU	Ludwig-Maximilians Universität München
m	Masse

<i>m/z</i>	Masse zu Ladungs - Verhältnis
max.	maximal
MBR	Membranbioreaktor
MEC	Gemessene Umweltkonzentration (<i>measured environmental concentration</i>)
MeOH	Methanol
MEWIP	Monitoring-Effekt-Studie für Wischproben in Apotheken (<i>Monitoring-Effect Study of Wipe Sampling in Pharmacies</i>)
min	Minute
MNU	N-Methyl-N-nitrosourea
MRL	maximale Höchstmengen (<i>maximum residue limits</i>)
MRM	multiple reaction monitoring
m-RNA	Boten Ribonukleinsäure (<i>messenger-RNA</i>)
MS	Massenspektrometrie / Massenspektrometer
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie / -Massenspektrometer
MTX	Methotrexat
MuSchG	Mutterschutzgesetz
MW	Mittelwert
n.b.	nicht bestimmt
n.n.	nicht nachweisbar
NWG	Nachweisgrenze
Oflox	Ofloxacin
p.a.	zur Analyse (<i>pro analysis</i>)
PABA	p-Aminobenzoessäure
Pacli	Paclitaxel
PBP	Penicillin-Binde-Protein
PDA	Diodenarraydetektor (<i>photo diode array</i>)
PE	Polyethylen
PEC	Erwartete Umweltkonzentration (<i>predicted environmental concentration</i>)
Pen G	Penicillin G
Pen V	Penicillin V
PFPF	Pentafluorpropionsäure
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch

Pip	Piperacillin
PNEC	Unbedenkliche Konzentration (<i>predicted no effect concentration</i>)
POSEIDON	EU-Projekt: <i>Assessment of Technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Sewage and Drinking Water Facilities to Improve the Indirect Potable Water Reuse</i>
ppb	parts per billion (1:10 ⁹)
PTA	Pharmazeutisch-Technische(r)-Assistent(in)
PTFE	Polytetrafluorethylen
P-THREE	EU-Projekt: <i>Removal of persistent polar pollutants through improved treatment of wastewater effluents</i>
Q ₁	Quadrupol 1
q ₂	Quadrupol 2 (Kollisionszelle)
Q ₃	Quadrupol 3
QWiG	Ordnungswidrigkeitengesetz
R.E.	relativer Fehler (<i>relative error</i>)
R ²	Bestimmtheitsmaß
RC	regenerierte Cellulose
rel.	Relativ
RKI	Robert Koch-Institut
RL	Richtlinie
RNA	Ribonukleinsäure (RNS) (<i>ribonucleic acid</i>)
RNS	Ribonukleinsäure
RP	Umkehrphase (<i>reversed phase</i>)
rpm	Umdrehungen pro Minute (<i>rounds per minute</i>)
RSD	relative Standardabweichung (<i>relative standard deviation</i>)
RT	Retentionszeit (<i>retention time</i>)
s/n	Signal zu Rausch-Verhältnis (<i>signal to noise ratio</i>)
SA	Sulfonamid
SD	Standardabweichung (<i>standard deviation</i>)

SDB	Styroldivinylbenzol
SDD	Sulfadimidin
SDZ	Sulfadiazin
SFC	Superkritische Flüssigchromatographie (<i>supercritical fluid chromatography</i>)
SGB	Sozialgesetzbuch
SIM	single ion monitoring
SMR	Sulfamerazin
SMX	Sulfamethoxazol
SOP	Standardarbeitsanweisung (<i>standard operation procedure</i>)
SPE	Festphasenextraktion (<i>solid phase extraction</i>)
SQMS	Single Quadruplo Massenspektrometer
SRM	selected reaction monitoring
ST	Standard
StGB	Strafgesetzbuch
t	Zeit (time)
TBDMS	N-tert.-Butyl-dimethylsilyl-N-methyltrifluoracetamid
TCA	Trichloressigsäure
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid (<i>trifluoroacetic anhydride</i>)
THFA	5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure
TIC	total ion chromatogram
TLC	Dünnschichtchromatographie (<i>thin layer chromatography</i>)
TMP	Trimethoprim
TOC	gesamter organischer Kohlenstoff (<i>total organic carbon</i>)
TQMS	Triple-Quadrupol-Massenspektrometer
TR	Trockenrückstand
TRGS	Technische Regeln für Gefahrstoffe
t-RNA	Transfer Ribonukleinsäure (<i>transfer-RNA</i>)
U	Umdrehung
UBA	Umweltbundesamt
UV	ultraviolett

UV/VIS	UV/VIS-Spektroskopie
v/v	Volumen pro Volumen (<i>volume per volume</i>)
Vanco	Vancomycin
VE	voll entsalzt
Vers.	Version
VIS	sichtbar (<i>visible</i>)
VP-16	Etoposid
VSK	Verfahrens- oder stoffspezifisches Kriterium
VZA	Verband der Zytostatika zubereitenden Apotheken e.V.
WFR	Wiederfindungsrate
WHG	Wasserhaushaltsgesetz
WHO	Weltgesundheitsbehörde (<i>world health organization</i>)
WRRL	Wasserrahmenrichtlinie
z	Ladung eines Ions
ZZZ	Zentrale Zytostatikazubereitung

1 Einleitung

Eine Reihe hochwirksamer Arzneimittel, insbesondere Zytostatika und Antibiotika, sind auch in sehr geringen Mengen toxisch, allergieauslösend oder können im Fall der Antibiotika die Vermehrung resistenter Keime fördern [1-6]. Für die mit diesen Stoffen in Berührung kommenden Personen kann ein erhebliches gesundheitsschädliches Potential bestehen. In medizinischen Einrichtungen werden diese Substanzen zum Wohle der Patienten eingesetzt, so dass eine Einschränkung nur schwer möglich ist und der sichere Umgang deshalb durch Maßnahmen und entsprechende Regelungen des Arbeits- und Umweltschutzes gewährleistet werden muss [7-11].

Zahlreiche Studien zeigen übereinstimmend, dass die Freisetzung von Arzneimitteln auch bei höchsten Sicherheitsstandards sowohl bei der Produktion in der Pharmaindustrie als auch bei der Herstellung von Patienten individuellen Zubereitungen und Rezepturen in Apotheken nicht vollständig vermeidbar sind [12-15]. Mittels empfindlicher Analyseverfahren wie der Voltametrie und ICP-MS wurde für Platin-Komplexe [16-21] oder nach Derivatisierung und GC/MS-Analyse für 5-Fluoruracil [22-25], Ifosfamid und Cyclophosphamid [26-28] ein hoher Kontaminationsgrad auf Oberflächen in Apotheken und Krankenhäusern festgestellt [29-40]. Für weitere relevante Substanzen fehlten zu Beginn dieser Arbeit nachweisstarke Analysemethoden. Aufgrund der polaren Eigenschaften der Arzneimittel erscheinen LC-MS/MS-Methoden ohne aufwändige Derivatisierung besser geeignet als die häufig eingesetzten GC-MS-Verfahren. Auch ist der bisherige Einsatz von Einzelmethoden als problematisch anzusehen, da Aussagen über die unterschiedliche Immissionspfade wie Herstellung, Transport, Lagerung, Zubereitung und Applikation nur für die jeweils untersuchte Substanz möglich sind. Durch den Einsatz von LC-MS/MS-Multianalyseverfahren könnte ein besseres Bild der Belastungssituation gewonnen werden.

Die toxikologisch bedenklichen Substanzen kommen nicht nur in die verschiedenen Bereiche von Krankenhäusern, sondern auch im ambulanten und häuslichen Bereich vor. Dadurch können neben dem Klinik- und Apothekenpersonal auch Patienten, Angehörige und Besucher exponiert werden.

Im Gegensatz zu den Expositionspfaden im Gesundheitswesen ist das öffentliche Interesse am Vorkommen von Arzneimitteln im Wasserkreislauf und Lebensmitteln sehr groß, und es wurden in den letzten Jahren bereits eine Reihe von LC-MS/MS-Multianalysemethoden entwickelt [41-57]. Umweltuntersuchungen haben gezeigt, dass Krankenhausabwässer eine Haupteintragsquelle von hochwirksamen Arzneimitteln in die aquatische Umwelt darstellen [58-72]. Durch hohe Antibiotika- und Zytostatikabelastungen besitzt Krankenhausabwasser häufig mutagene und bakterientoxische Eigenschaften [68, 73-75]. Darüber hinaus sind viele Wirkstoffe aufgrund ihrer Polarität und Wirkmechanismen nur schwer biologisch abbaubar [76-80]. Das weit reichende Vorkommen in Oberflächengewässern bis hin zur Trinkwasseraufbereitung hat dazu geführt, dass Kläranlagenabläufe heute auch als Punkteintragsquellen für Arzneimittelrückstände in Oberflächengewässern bezeichnet werden. Von Seiten der Wasserversorger werden daher Minderungsstrategien ab der Eintragsquelle und nicht erst am Ende bei der Trinkwasseraufbereitung gefordert [81-83].

2 Theoretischer Teil

2.1 Arzneimittel und Arbeitsschutz

2.1.1 Allgemeines

Arzneimittel sind entsprechend Arzneimittelgesetz (AMG) Stoffe und Zubereitungen, die zur Anwendung am oder im menschlichen oder tierischen Körper bestimmt sind [84]. In den Rechtsvorschriften der Europäischen Union werden Human- und Veterinärarzneimittel getrennt betrachtet. Laut 2001/83/EG und der Änderung 2004/27/EG [85, 86] sind Arzneimittel Stoffe oder Stoffzusammensetzungen, die

- a) als Mittel mit Eigenschaften zur Heilung oder zur Verhütung menschlicher Krankheiten bestimmt sind oder
- b) im oder am menschlichen Körper verwendet oder einem Menschen verabreicht werden können, um entweder die menschlichen physiologischen Funktionen durch eine pharmakologische, immunologische oder metabolische Wirkung wiederherzustellen, zu korrigieren oder zu beeinflussen oder eine medizinische Diagnose zu erstellen.

Neben den gewünschten Wirkungen treten beim bestimmungsgemäßen Gebrauch von Arzneimitteln auch unerwünschte Nebenwirkungen auf. Die Gebrauchsinformationen („Beipackzettel“), die Rote Liste [87] sowie Fachinformationen der Hersteller informieren Arzt und Patienten über die Art, Häufigkeit und Schwere der Nebenwirkungen. Die Anwendung sollte dann nach Abwägung von Nutzen und Risiko erfolgen.

Neben dem Patientenwohl sind in allen Bereichen, in denen mit Arzneimitteln umgegangen wird, die Regelungen aus dem Arbeitsschutzgesetz (ArbSchG) [8] und Chemikaliengesetz (ChemG) [9] zu beachten. Durch Umgestaltung der arbeitsschutzrechtlichen Vorschriften entsprechend 89/391/EWG und die Konzeption der Gefährdungsbeurteilung entsprechend Gefahrstoffverordnung (GefStoffV) [10] werden betriebliche Arbeitsschutzmaßnahmen individuell in den Verantwortungsbereich des Arbeitgebers gelegt. Die Ausführungsbestimmungen werden durch die vom Ausschuss für Gefahrstoffe (AGS) beschlossenen

Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS) ergänzt. Diese geben den „Stand der Technik“ sowie die sicherheitstechnischen, arbeitsmedizinischen, hygienischen und arbeitswissenschaftlichen Anforderungen beim Umgang und Inverkehrbringen von Gefahrstoffen wieder. Darüber hinaus werden in den TRGS detaillierte Handlungsanweisungen gegeben.

Der Arbeitgeber muss sowohl für die Gefahrstoffe und deren Eigenschaften als auch die ausgeübten Tätigkeiten und Arbeitsverfahren eine Gefährdungsbeurteilung durchführen. Hierzu hat er die notwendigen Informationen zu ermitteln, zu prüfen ob eine Substitution der gefährlichen Substanzen gegen ungefährlichere Stoffe möglich ist, technische und organisatorische Schutzmaßnahmen ergreifen und die erforderliche Persönliche Schutzausrüstung zum Schutz der Sicherheit und Gesundheit der Beschäftigten zur Verfügung stellen.

Wesentlicher Bestandteil dieser Gefährdungsbeurteilung ist das in Abbildung 2-1 dargestellte Schutzstufenkonzept. Die Schutzstufen bauen aufeinander auf, so dass alle Maßnahmen und Regelungen der vorherigen Schutzstufe in der nächsten Schutzstufe ebenfalls gelten. Der Übergang von der Schutzstufe 3 zur Schutzstufe 4 ist gleitend. In die Schutzstufe 4 fallen krebserzeugende, erbgutverändernde und fruchtbarkeitsgefährdende Stoffe (CMR-Stoffe) der Kategorie 1 und 2. Hier besteht die generelle Pflicht

- zur Abgrenzung der Gefahrenbereiche,
- zur Ausschöpfung aller technischen Schutzmaßnahmen,
- zur Anwendung persönlicher Schutzausrüstung wie z. B. Augenschutz, Handschuhe etc.,
- zur Überwachung der Einhaltung von Grenzwerten durch Messungen,
- zur arbeitsmedizinischen Vorsorge.

Ausnahmen von diesen strikten Maßnahmen sind nur möglich, wenn die Tätigkeit nach einem verfahrens- oder stoffspezifischen Kriterium (VSK) durchgeführt wird, das vom AGS festzulegen ist. Es gilt grundsätzlich das Minimierungsprinzip hinsichtlich der Exposition der Beschäftigten wie auch die Pflicht zur Überprüfung der Wirksamkeit der getroffenen Schutzmaßnahmen.

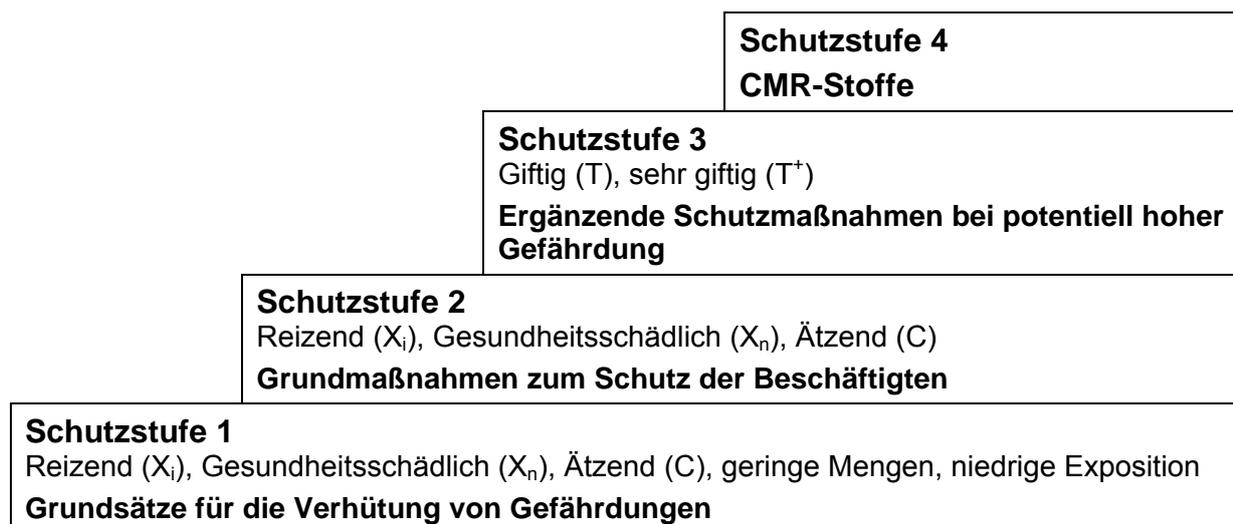


Abbildung 2-1: Übersicht zum Schutzstufenkonzept gemäß GefStoffV.

Bereits ab Schutzstufe 2 ist der Arbeitgeber verpflichtet zu ermitteln, ob die Arbeitsplatzgrenzwerte eingehalten werden. Dies kann durch Arbeitsplatzmessungen oder durch andere gleichwertige Beurteilungsverfahren erfolgen. Ab Schutzstufe 3 sind bereits regelmäßige Messungen, insbesondere auch bei der Änderung der Arbeitsbedingungen, durchzuführen. Ausnahmen sind nur noch gestattet, wenn der Arbeitgeber mittels anderer gleichwertiger Nachweismethoden eindeutig belegt, dass der Arbeitsplatzgrenzwert eingehalten ist oder Tätigkeiten entsprechend eines vom Ausschuss für Gefahrstoffe ermittelten und vom Bundesministerium für Wirtschaft und Arbeit veröffentlichten verfahrens- und stoffspezifischen Kriteriums durchgeführt werden. Ist die Einhaltung des Arbeitsplatzgrenzwertes nicht möglich, hat der Arbeitgeber die Exposition der Beschäftigten nach dem Stand der Technik so weit wie möglich zu verringern und unverzüglich zusätzliche Schutzmaßnahmen durchzuführen sowie persönliche Schutzausrüstung bereitzustellen. Entsprechend § 11 Abs. 2 der GefStoffV sind ab Schutzstufe 4 Messungen dieser Stoffe, insbesondere zur frühzeitigen Ermittlung einer erhöhten Exposition infolge eines unvorhersehbaren Ereignisses oder eines Unfalles, durchzuführen.

Obwohl die Gefahrstoffverordnung bereits seit dem 01. Januar 2005 in Kraft ist, so verläuft im Gegensatz zur pharmazeutischen und chemischen Industrie die Umsetzung im Gesundheitswesen (Apotheke, Ambulanz, Krankenhaus, Pflegedienst etc.) nur schleppend. Erschwerend kommt allerdings hinzu, dass wichtige Regeln und Ausführungsbestimmungen, wie z. B. die Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS) etc., noch nicht der neuen GefStoffV angepasst wurden. Im Jahr 2006

wurden zwar die ersten Arbeitsplatzgrenzwerte (AGW) durch das BGIA [88], die zweite Liste mit EG-Arbeitsplatz-Richtgrenzwerten (RL 2006/15/EG) [89] und Änderungen der TRGS 900 „Arbeitsplatzgrenzwerte“ [90] veröffentlicht. Für viele Stoffe, insbesondere für Arzneimittel, fehlen allerdings immer noch Bewertung, Arbeitsplatzgrenzwerte (AGW) sowie Analysemethoden zu deren Überwachung.

Da der AGW nach § 3 Abs. 6 der GefStoffV angibt, bei welcher Konzentration eines Stoffes akute oder chronische schädliche Auswirkungen auf die Gesundheit im Allgemeinen nicht zu erwarten sind, ist für CMR-Stoffe keine Festlegung eines Schwellenwertes möglich. Da die theoretische Möglichkeit besteht, dass durch ein einziges Molekül canzerogene, mutagene oder reproduktionstoxische Wirkungen ausgelöst werden, gilt hier die Forderung nach einer Nullexposition. Die TRGS 905 „Verzeichnis krebserzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe“ fasst krebserzeugende Arzneistoffe unter Punkt 2.1 bei den besonderen Stoffgruppen zusammen. Hier heißt es: „Von krebserzeugenden Eigenschaften der Kategorien 1 oder 2 ist bei therapeutischen Substanzen auszugehen, denen ein gentoxischer Wirkungsmechanismus zugrunde liegt. Erfahrungen in der Therapie mit alkylierenden Zytostatika wie Cyclophosphamid, Ethylenimin, Chlornaphazin sowie mit arsen- und teerhaltigen Salben, die über lange Zeit angewendet worden sind, bestätigen dies insofern, als bei so behandelten Patienten später Tumorneubildungen beschrieben worden sind.“ [91].

Bei der Durchführung einer Gefährdungsbeurteilung im Gesundheitswesen besteht die besondere Schwierigkeit, dass die verwendeten Substanzen zum Wohle der Patienten eingesetzt werden und somit eine Substitution nicht möglich ist. Obwohl Arzneimittelverpackungen gemäß § 2 ChemG von der Kennzeichnungspflicht der GefStoffV ausgenommen sind, handelt es sich bei Wirkstoffen, Arzneimitteln oder Zubereitungen, die Eigenschaften gemäß § 19 Abs. 2 ChemG besitzen, um Gefahrstoffe. Die im dritten und vierten Abschnitt der GefStoffV beschriebenen Maßnahmen zum Schutz der Beschäftigten haben trotz der Ausnahme bei der Kennzeichnung von Fertigarzneimitteln für alle Bereiche Gültigkeit. Grundsätzlich gilt, dass die Sicherheitsbestimmungen im Gesundheitswesen denen der Industrie vergleichbar sein müssen [92]. Der Umgang mit Arzneistoffen wird durch die 1998 erstellte und derzeit in Überarbeitung befindliche TRGS 525 „Umgang mit Gefahrstoffen in Einrichtungen zur humanmedizinischen Versorgung“ geregelt [7].

Darüber hinaus gibt es insbesondere für den Umgang mit Zytostatika in Apotheken und Krankenhäusern zahlreiche Sicherheitsvorschriften, gesetzliche Normen, Merk- und Unterweisungsblätter, wovon sich eine Fülle von Vorschriften, Empfehlungen und Ausführungsrichtlinien überlappen und/oder sich aufeinander beziehen. Eine Übersicht hierzu geben Kraft und Goldschmidt u. a. in einer Studie des IUTA sowie in zwei Publikationen in *Arzt und Krankenhaus* [93-95]. Am Beispiel einer Apotheke werden in Abbildung 2-2 die verschiedenen rechtlichen Grundlagen dargestellt. Aus dem Bereich der berufsgenossenschaftlichen Merkblätter sei hier insbesondere das M 620 „Sichere Handhabung von Zytostatika“ der BGW zu nennen [11].

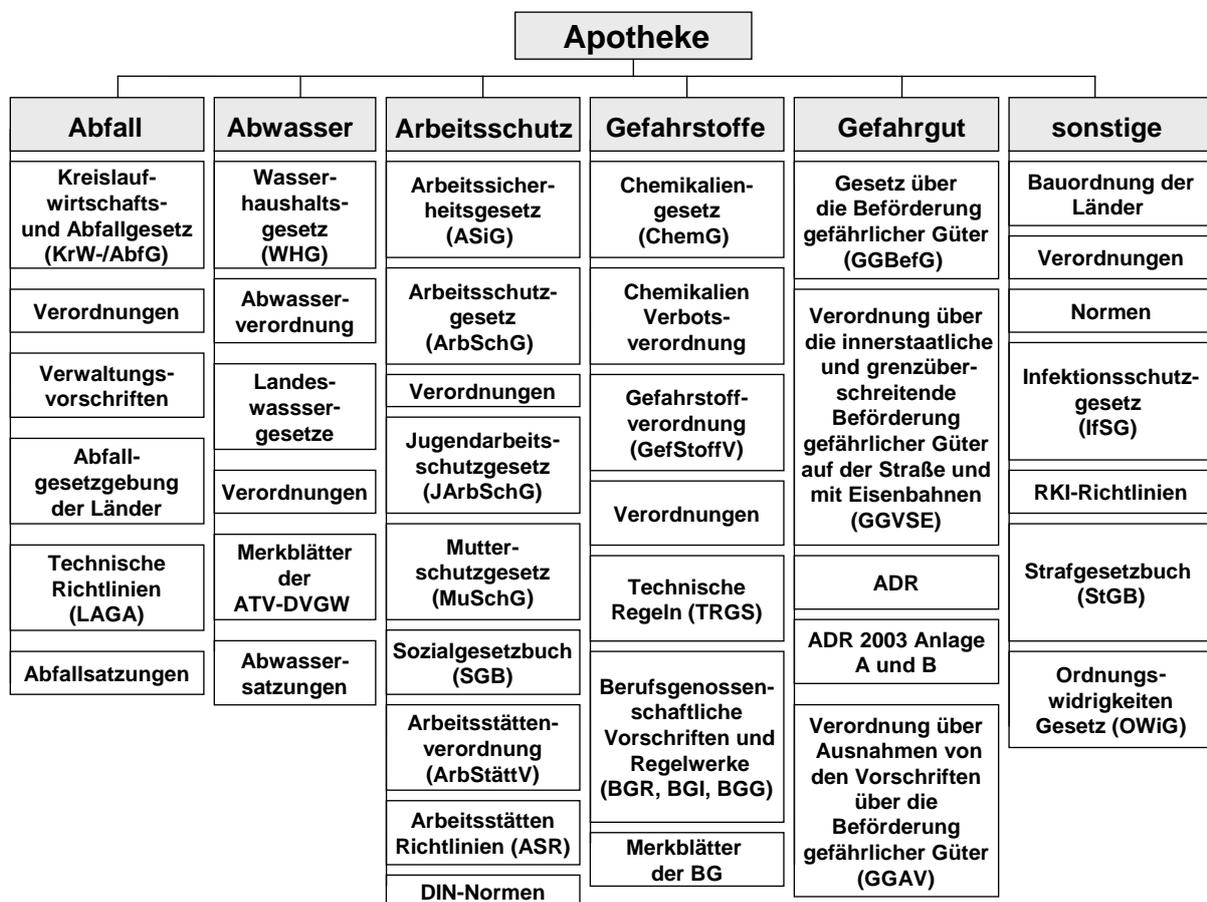


Abbildung 2-2: Rechtliche Grundlagen für den Umgang mit Zytostatika im Apothekenbereich in Deutschland [93].

2.1.2 Antibiotika

2.1.2.1 Einleitung

Antibiotikum (vom altgriechischen *anti* = anstelle, gegen und *bios* = Leben; mit lateinischer Endung; Mehrzahl Antibiotika).

Antibiotika sind ursprünglich von Pilzen, Bakterien, Algen oder Pflanzen gebildete Stoffwechselprodukte, die schon in geringen Mengen das Wachstum von niederen Mikroorganismen hemmen oder diese abtöten. Erste Hinweise auf Antibiotika stammen von Pasteur und Joubert aus den Jahren 1877 und 1889. Das von Sir Alexander Flemming 1929 entdeckte Penicillin stellte den ersten Vertreter dieser Wirkstoffe dar [96]. Ursprünglich wurden nur Stoffe natürlichen Ursprungs als Antibiotika bezeichnet. Synthetisch hergestellte Wirkstoffe, wie z. B. Sulfonamide, wurden als Chemotherapeutika bezeichnet. Heutzutage wird dieser Begriff für die antineoplastischen (gegen Krebs u. ä. gerichteten) Arzneimittel in der Chemotherapie verwendet. Da allerdings einige Antibiotika wegen ihrer antineoplastischen Wirkungen auch als Zytostatika in der Chemotherapie eingesetzt werden, sind die Grenzen dieser Begriffsbestimmung fließend [2, 4, 97].

Der Grundgedanke der antiinfektiven Therapie ist das *Ehrlichsche Prinzip der selektiven Toxizität*. Diese selektive Toxizität der Antibiotika für den Mikroorganismus beruht auf dem Angriff an Strukturen, die bei Mensch oder Tier nicht oder aber zumindest in wesentlich anderer Form vorkommen. Die wichtigsten Angriffspunkte für antibakterielle Stoffe sind:

- die Hemmung der Zellwandsynthese,
- die Störung der Permeabilität der Zytoplasmemembran,
- die Blockade der Proteinbiosynthese
- die Unterdrückung der DNS- und RNS-Synthese.

Die generelle Wirkungsweise von Antibiotika kann in zwei Typen unterteilt werden:

- **bakteriostatische** Wirkung (Hinderung der Bakterienvermehrung),
- **bakteriozide** Wirkung (Abtötung der Bakterien).

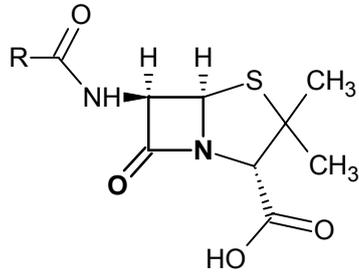
Bleibt die Bakterienvermehrung durch einen antimikrobiellen Wirkstoff unbeeinflusst, besteht eine Resistenz der Bakterien. Sind die Bakterien aufgrund ihrer Stoffwechselart unempfindlich gegenüber dem Wirkstoff, so spricht man von einer natürlichen Resistenz. Durch Mutationen oder Plasmidübertragungen können ursprünglich empfindlichen Bakterienstämmen unempfindlich gegenüber Antibiotika werden. In diesem Fall spricht man von einer erworbenen Resistenz. Neben Arzneistoffen, die selektiv nur gegen bestimmte Erreger wirken, werden immer häufiger so genannte Breitspektrum-Antibiotika eingesetzt. Diese wirken gegen eine Vielzahl unterschiedlicher Bakterienarten. In den folgenden Unterkapiteln sind Wirkungsmechanismen und Grundstrukturen der wichtigsten Substanzgruppen zusammengefasst [4, 97, 98]:

2.1.2.2 Hemmung der Zellwandsynthese

Die Zellwand besteht aus einem Murein-(Peptidoglykan)-Gerüst, das die unter einem hohen osmotischen Druck stehende Zellmembran schützt. Der Wirkungsmechanismus der **Cephalosporine** und **Penicilline** besteht in der Hemmung der Transpeptidase und Bindung an das Penicillin-Binde-Protein (PBP) zur Aufhebung der Peptidoglykan-Synthese. Als Folge der Störung bei der Peptidbildung treten Deformation und Lyse der Zellwand auf, die letztlich das Platzen der Zelle verursachen. Die bakteriozide Wirkung kann je nach Verbindung sehr stark differieren, so dass es sowohl Breitbandantibiotika als auch spezifische Arzneistoffe für einzelne Erreger gibt. Ähnlich wie die β -Lactame wirken Glykopeptide wie z. B. **Vancomycin**, das eine Quervernetzung der Peptidoglykanketten verhindert. Da der menschliche Organismus keine Zellwand besitzt, besteht eine gute Verträglichkeit. Allerdings sind sehr häufig allergische Reaktionen bis hin zu Neurotoxischen Effekten zu beobachten. Wegen der starken Nebenwirkungen wie z. B. Nekrosengefahr, Ototoxizität bis hin zur Ertaubung und eingeschränkter Nierenfunktion wird Vancomycin nur zur lokalen Therapie von Darmerkrankungen, bei schweren Erkrankungen durch Staphylokokken und Streptokokken bei Penicillin- und Oxacillin-Resistenz oder Penicillin-Allergie verwendet.

Wie in Abbildung 2-3 zu sehen ist, unterscheiden sich Penicilline und Cephalosporine durch das Fünf- bzw. Sechsringsystem in Nachbarschaft zum β -Lactam-Grundgerüst.

a



b

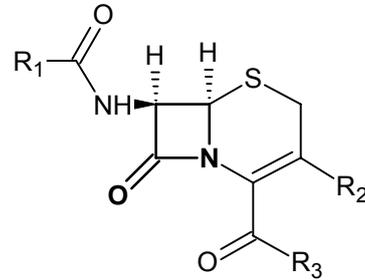


Abbildung 2-3: Grundstruktur von Penicillinen (a) und Cephalosporinen (b).

In Abbildung 2-4 ist Vancomycin dargestellt.

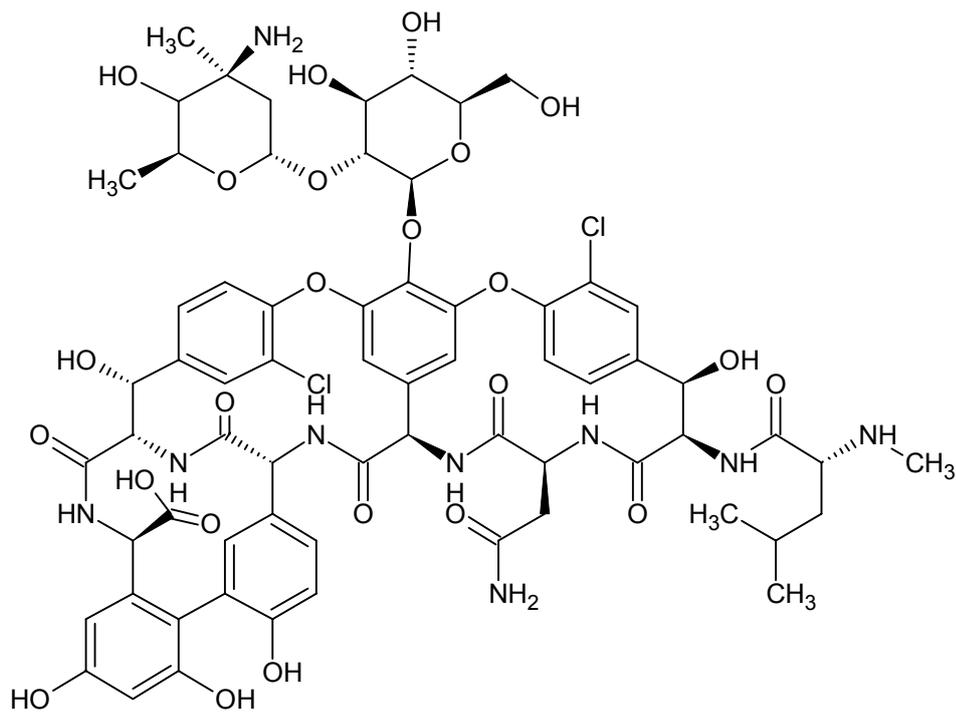


Abbildung 2-4: Struktur des Glykopeptids Vancomycin.

2.1.2.3 Hemmung der Proteinsynthese

Wie in Abbildung 2-5 zu erkennen ist, interferieren fast alle Hemmstoffe der bakteriellen Proteinsynthese mit Vorgängen am Ribosom.

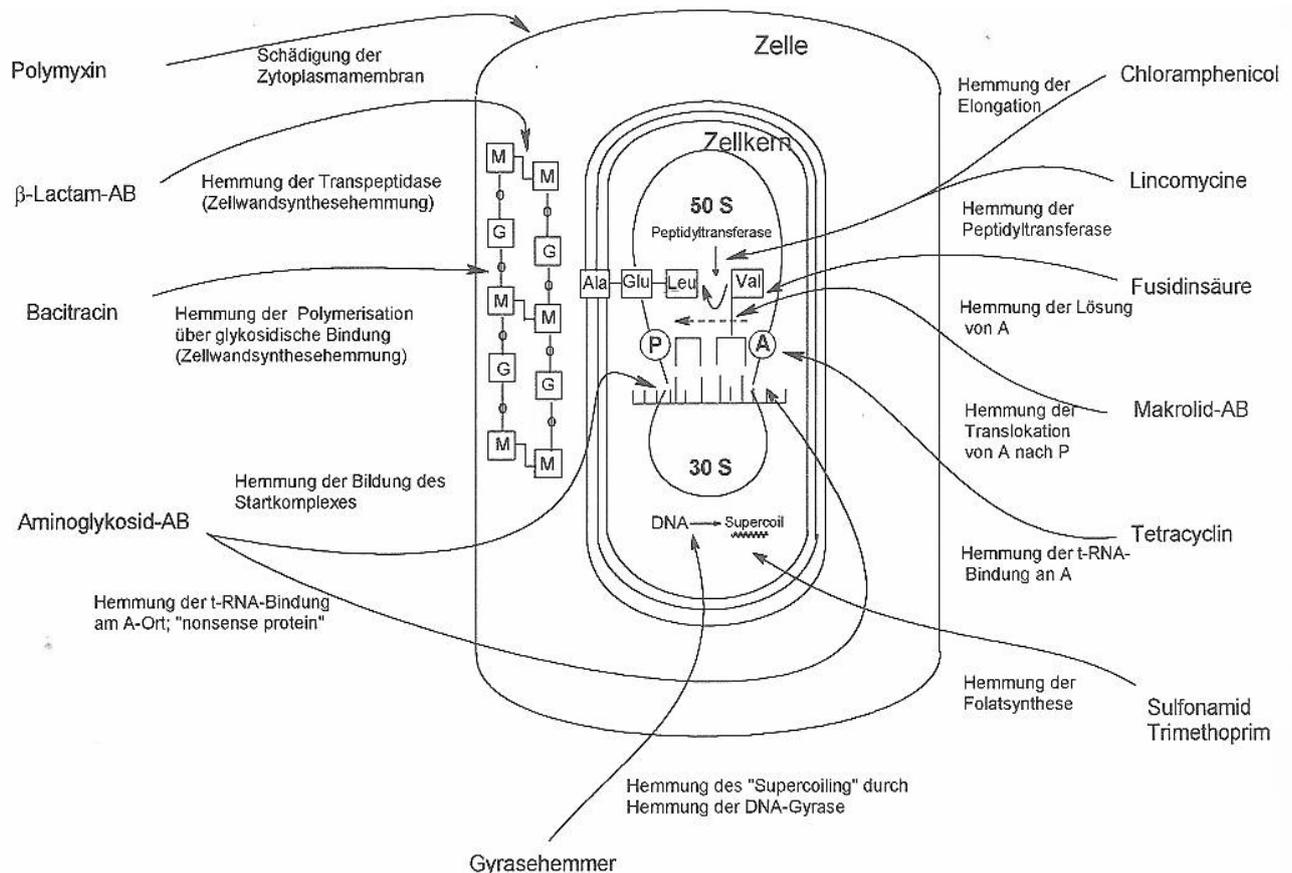


Abbildung 2-5: Wirkungsmechanismen verschiedener Antibiotika an der Zellwand und im Zellkern (30S- und 50S-Untereinheiten der Ribosomen) von Hemmstoffen der bakteriellen Proteinsynthese [100].

AB: Antibiotika, M: N-Acetylmuraminsäure, G: N-Acetylglucosamin, A: Amino-acetyl-Stelle, P: Peptid-Stelle

Aminoglycoside lagern sich an die 30S-Untereinheit der Ribosomen an und bewirken auf diese Weise eine komplexe Störung der Proteinsynthese sowie Ablesefehler bei der Translation. Hierdurch entstehen Nonsensproteine, die das Bakterium nicht nutzen kann. Die Membran wird permeabel und das Bakterium verliert essentielle Bestandteile, was zur irreversiblen Schädigung der Zelle führt. Die Nebenwirkungen werden durch Nephro- und Ototoxizität beherrscht. Allergische Reaktionen sind selten, bei lokaler Anwendung ist allerdings mit einer Sensibilisierung zu rechnen.

Makrolide binden sich reversibel an die 50S-Untereinheit der Ribosomen. Die Anlagerung der m-RNS kann nicht mehr erfolgen, so dass die Proteinsynthese nicht mehr stattfinden kann. Die Wirkung ist bakteriostatisch. Die Verträglichkeit ist vergleichsweise gut, so dass es vor allem nur nach länger dauernder Therapie zu Leberschäden kommen kann.

Tetracycline lagern sich an die 30S-Untereinheit der Ribosomen an und verhindern damit die Bindung von Aminoacyl-tRNS an die Akzeptorstelle und somit die Verlängerung der Peptidkette. Sie wirken bakteriostatisch und treffen ein breites Spektrum an Erregern. Ein großer Nachteil von Tetracyclinen ist ihre Affinität an zweiwertige Kationen. Die gebildeten Komplexe sind antibiotisch unwirksam und lagern sich in Calciumreichen Geweben an. Neben der Reizung der Magen-Darm-Schleimhäute können sich durch Beeinträchtigung der Flora in Mund und Vagina pathogene Bakterien, Pilze und Hefen ansiedeln, die sonst durch autochthone Bakterien gehemmt werden („Infektionswandel“). Besonders zu beachten sind Schädigungen des fetalen und wachsenden Skelettes und von Zähnen durch Einlagerung und Chelatbildung mit Calcium. Aus diesem Grund sollen Tetracycline nicht während der Schwangerschaft und bis zum 8. Lebensjahr gegeben werden.

Chloramphenicol lagert sich ebenfalls an die die 50S-Untereinheit der Ribosomen an und hemmt dort die für die Proteinsynthese notwendige Peptidyltransferase. Chloramphenicol ist ein Reserveantibiotikum zur Behandlung von Typhus, Paratyphus, septischer Salmonellen-Infektion und insbesondere bakterieller Meningitis. Hauptgrund für den vorsichtigen Einsatz von Chloramphenicol sind die schweren Nebenwirkungen. Bereits nach kurzer Zeit kann es zu schweren toxischen

Schädigungen des blutbildenden Apparates und des Knochenmarkes kommen. Bei Früh- und Neugeborenen kann bei unvorsichtiger Dosierung das sog. Grey-Syndrom entstehen (aufgetriebener Leib, blasse Zyanose, peripherer Kreislaufkollaps), das manchmal zum Tode führt.

Das ursprünglich aus *Streptomyces venezuelae* gewonnene und heute vollständig synthetisch hergestellte Chloramphenicol ist in Abbildung 2-6 dargestellt.

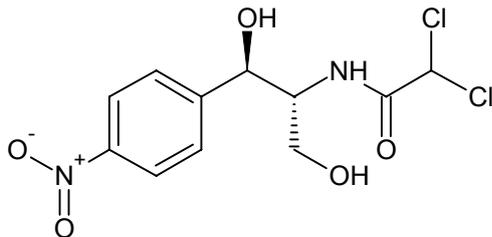


Abbildung 2-6: Struktur von Chloramphenicol.

2.1.2.4 Unterdrückung der DNS- und RNS-Synthese

Gyrasehemmer werden synthetisch hergestellten Arzneimittel mit hemmender Wirkung auf die Gyrase (Topoisomerase II) bakterieller Keime bezeichnet. Das Enzym DNS-Gyrase ist für das platz sparende Verdrillen der DNS-Stränge zuständig, aber auch dafür, während der Replikation die auftretenden Spannungen im DNS-Strang zu beseitigen. Die von der 4-Chinolon-3-carbonsäure abgeleiteten Wirkstoffe interferieren mit dem Wiederverschließen der DNS-Stränge und damit der Verdrillung durch die DNS-Gyrase. Dies führt zu einem raschen Zusammenbrechen des Stoffwechsels und dem Zelltod. **Fluorchinolone** sind entsprechend der alten Definition keine Antibiotika. Sie werden synthetisch hergestellt und sind u. a. auch aus diesem Grund nicht biologisch abbaubar. Zwei der am häufigsten angewandten Vertreter dieser Substanzklasse sind die in Abbildung 2-7 dargestellten Wirkstoffe Ciprofloxacin und Ofloxacin.

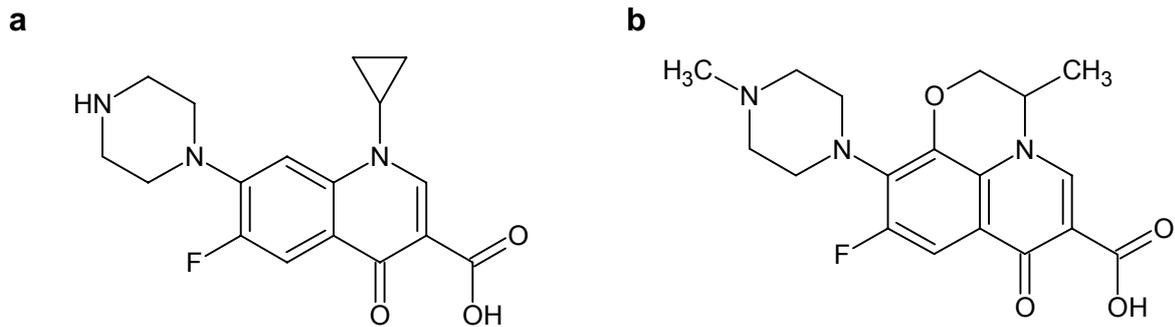


Abbildung 2-7: Strukturen der Fluorchinolone Ciprofloxacin (a) und Ofloxacin (b).

Nebenwirkungen sind außer Magen-Darm-Störungen oder Allergien insbesondere Störungen des Nervensystems. Wegen Knorpelschäden in Epiphysefugen und Gelenken sollten während der Schwangerschaft, Stillzeit und Wachstumsphase Gyrasehemmstoffe nicht angewandt werden. Sehenschädigungen bis hin zur Ruptur sind besonders bei älteren oder mit Glucocorticoiden behandelten Patienten möglich.

Sulfonamide werden in die Gruppe der Folsäureantagonisten eingeordnet. Sie greifen in die frühe Phase der DNS-Synthese, in die Bildung der Nucleinsäurebasen, ein. Sulfonamide verdrängen als Antimetabolit die p-Aminobenzoensäure an der Dihydropteroatsynthese und blockieren so die Folsäuresynthese. Durch die Hemmung der Synthese von Folsäure, einem wichtigen Baustein der bakteriellen DNS-, RNS- und Eiweißsynthese, können sich die Bakterien nicht vermehren. Die körpereigenen Abwehrkräfte sind nun in der Lage, die Bakterien abzutöten. **Trimethoprim** und Analoga hemmen die Reduktion der Dihydrofolsäure und es kommt in Kombination mit Sulfonamiden zu einer synergistischen Wirkung, die auch als Sequentialeffekt bezeichnet wird. Die Nebenwirkungen sind meistens gering. Bei älteren Präparaten konnten durch hohe Tagesdosen Nierenschäden auftreten. Neben gastrointeralen Beschwerden (Appetitlosigkeit, Übelkeit und Brechreiz) sind schwerwiegende Überempfindlichkeitsreaktionen wie Stevens-Johnson- und Lyell-Syndrom, hämolytische Anämien und hämorrhagische Diathese sehr selten.

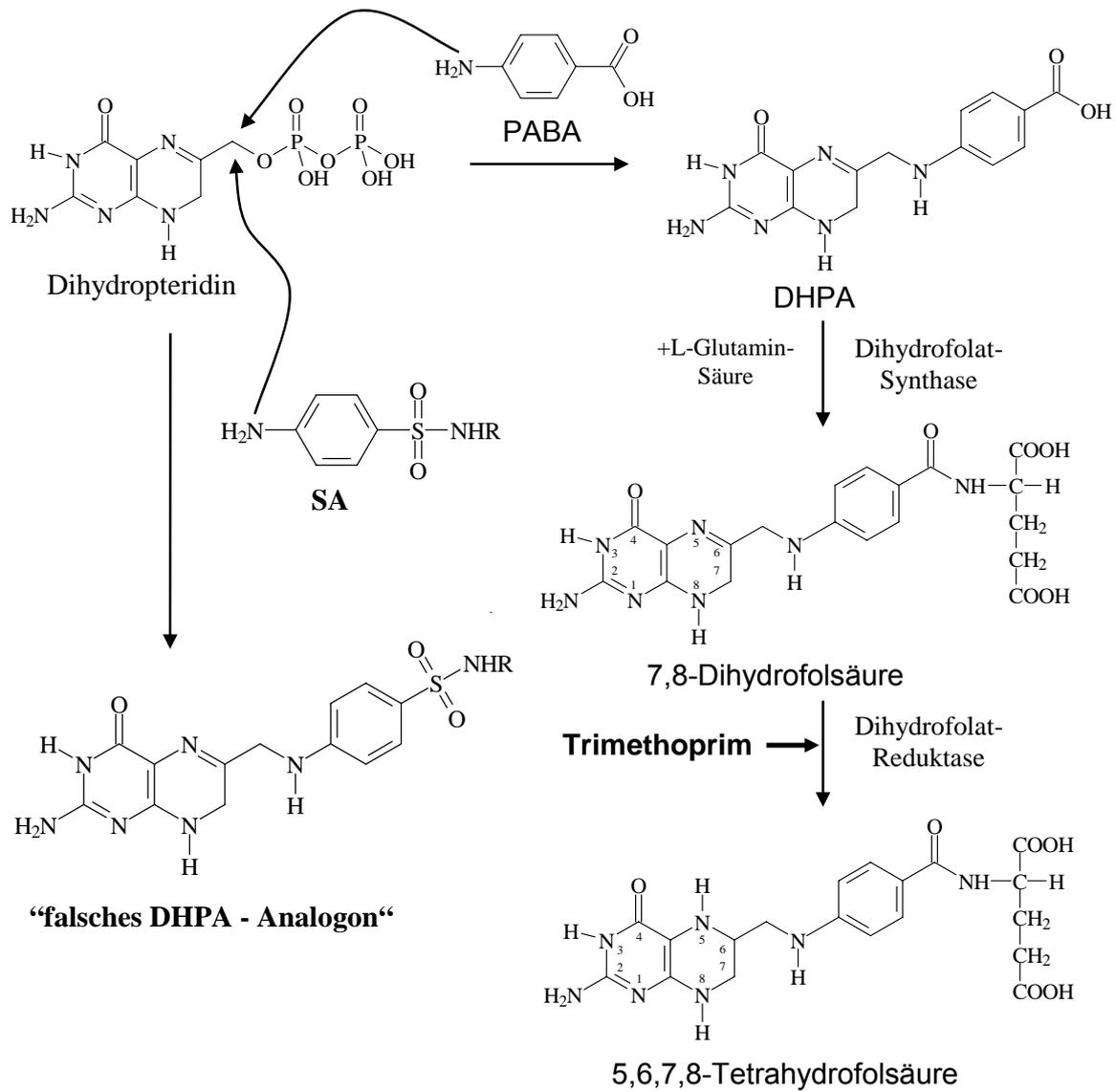


Abbildung 2-8: Schema der Tetrahydrofolat-Synthese und Wirkungsmechanismus der Sulfonamide in Kombination mit Trimethoprim [101].

2.1.2.5 Gefährdungspotential im Arbeitsschutz

Die in den vorangegangenen Kapiteln dargestellten Wirkungen und Nebenwirkungen der Antibiotika zeigen, dass auch bei der arbeitsbedingten Substanzaufnahme ein Risiko für die Mitarbeiter im Gesundheitswesen besteht. Neben toxischen Effekten können allergische Reaktionen und die Aufnahme resistenter Keime neben dem allgemeinen Infektionsrisiko in Krankenhäusern eine ernste Gefahr für die Mitarbeiter darstellen. Die ebenfalls mögliche Bildung von resistenten Keimen durch Substanzaufnahmen im subtherapeutischen Bereich ist zwar nicht auszuschließen, aufgrund des intensiven Einsatzes von Antibiotika bei den Patienten ist Bildung und Aufnahme von resistenten Keimen über das Krankenhaus allerdings wahrscheinlicher. Insgesamt ist der laxer Umgang mit hochwirksamen Arzneimitteln auch unter toxikologischen Gesichtspunkten bedenklich. Chloramphenicol wurde zum Beispiel von der internationalen Krebsforschungsbehörde (IARC) als wahrscheinlich kanzerogen für den Menschen (Gruppe 2A) klassifiziert [102]. Sulfonamide wurden dagegen in die Gruppe 3 (nicht klassifizierbare Kanzerogenität gegenüber dem Menschen) eingruppiert [103-105]. Für Fluorchinolone, die in Screeninguntersuchungen sowie in der aquatischen Umwelt als genotoxisch eingestuft wurden [73, 106-111], erfolgte bisher keine Klassifizierung der IARC.

Wie in Kapitel 2.1.1 ausgeführt sind bei CMR-Stoffen die Überwachung der Belastungen und Minderungsstrategien erforderlich. Bei der beruflichen Exposition gegenüber Antibiotika stehen allerdings die Resistenzproblematik sowie Allergien im Vordergrund. Da für diese Risiken bislang noch kein Problembewusstsein existiert, werden bisher auch noch keine Schutzmaßnahmen zur Expositionsminderung oder Monitoringuntersuchungen durchgeführt.

2.1.3 Zytostatika

2.1.3.1 Einleitung

Zytostatikum (vom griechischen *Cyto* = Zelle und *statik* = anhalten mit lateinischer Endung; Mehrzahl Zytostatika).

In den Industriestaaten stirbt etwa jeder Vierte an Krebs. Somit zählen Krebserkrankungen zusammen mit Herz-Kreislaufkrankungen zu den häufigsten Todesursachen. Durch die erfolgreiche Bekämpfung von Infektionskrankheiten und die damit verbundene höhere Lebenserwartung spielen maligne Tumore bei der Sterblichkeit eine immer größere Rolle. Zytostatika (Antineoplastische Wirkstoffe) sind natürlichen oder synthetischen Ursprungs und hemmen besonders das Wachstum von Geweben mit hohen Proliferationsraten. Da neoplastisch entartetes Gewebe sich meistens besonders schnell teilt, ist es bevorzugt betroffen. Da aber auch gesundes Gewebe mit hoher Zellteilungshäufigkeit in Mitleidenschaft gezogen wird, führen Nebenwirkungen wie Haarausfall, intestinale Schleimhautschädigungen, Knochenmarkdepression etc. zu begrenzten Dosiermöglichkeiten. Bei einigen Tumoren ist eine Heilung möglich (z. B. Leukämien, Lymphome), bei Karzinomen und Sarkomen wird meistens nur das Fortschreiten des malignen Prozesses verzögert. Die Behandlungsmöglichkeiten von soliden Tumoren umfassen neben der Chemotherapie die operative Entfernung und Bestrahlung. Auch diese beiden Verfahren sind wenig selektiv bzw. unspezifisch und haben erhebliche Nebenwirkungen. Darüber hinaus werden Zytostatika auch bei der Behandlung von Autoimmunerkrankungen, als Immunsuppressiva oder bei rheumatischen Erkrankungen eingesetzt. Durch Kombination der Behandlungsmethoden sowie die Anwendung der Polychemotherapie, bei der bis zu vier Zytostatika mit unterschiedlichen Angriffspunkten im Zellzyklus in einem bestimmten Zeitschema eingesetzt werden, lassen sich häufig toxische Nebenwirkungen und die Entwicklung von Resistenzen begrenzen und der Therapieerfolg deutlich verbessern.

Die Substanzen werden nach ihren Wirkmechanismen wie folgt unterteilt:

- Schädigung der DNS,
- Interferenz mit der DNS-Synthese,
- Hemmung der Mikrotubuli-Funktion,
- Hemmung des hormonabhängigen Wachstums,
- sonstige Wirkungen.

Ebenfalls häufig anzufinden ist die Einteilung in die Substanzgruppen: *Alkylantien*, *Antimetabolite*, *Antibiotika*, *Enzyme*, *Hormone*, *Mitosehemmstoffe*, *Topoisomerase-Hemmstoffe* und *andere Zytostatika*. Sowohl bei den Wirkmechanismen als auch bei der Einteilung nach Substanzgruppen werden in der Literatur unterschiedliche Zuordnungen getroffen. Insbesondere fällt dies bei den Platin-Zytostatika auf, die entweder zu den Alkylantien, den sonstigen Zytostatika oder teilweise sogar in eine eigene Gruppe eingeordnet werden [97-99, 112, 113] .

2.1.3.2 Schädigung der DNS

Die Schädigung der DNS kann durch kovalente Bindung, Interkallierung und Hemmung der Topoisomerase I und II erfolgen.

Alkylantien sind reaktionsfreudige, meist bifunktionelle Zytostatika, deren Wirkung phasenunspezifisch vor allem auf der Alkylierung von Nukleinsäuren beruht. Nach Aktivierung zu Carbokationen reagieren diese Substanzen außer mit Proteinen u. a. auch mit Guanin der Desoxyribonucleinsäuren und führen zu mutiplen DNS-Veränderungen. Dadurch werden die Nucleoinsäure-Replikation und damit die Zellteilung beeinträchtigt. Zu den Alkylantien gehören z. B. die in Abbildung 2-9 dargestellten **Stickstofflost-Derivate** Cyclophosphamid, Ifosfamid und Chlorambucil, **Etylenimin-Derivate** wie Thiotepa; Busulfan, Treosulfan, **N-Nitrosoharnstoff-Derivate** (Carmustin, Lomustin und Nimustin) sowie die Wirkstoffe Procarbazin, Darcabazin und Temozlomid.

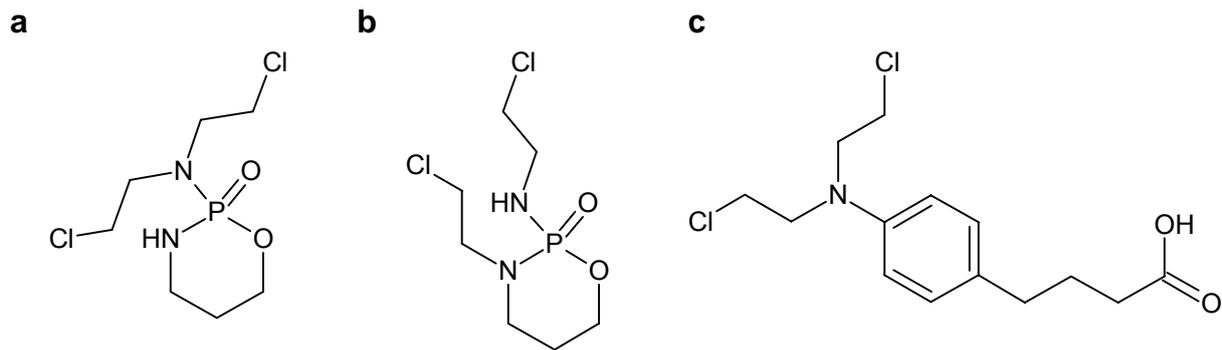


Abbildung 2-9: Strukturen der Stickstofflost-Derivate Cyclophosphamid (a), Ifosfamid (b) und Chlorambucil (c).

Platin-Komplexe (cis-Platin, Carboplatin und Oxaliplatin) werden ebenfalls als Alkylantien oder als **Platin freisetzende Verbindungen** bezeichnet. Die eigentliche Wirkform der Platinverbindungen ist der elektrophile Aqua-Komplex, der vor allem intrazellulär entsteht. Er bewirkt, ebenfalls weitgehend phasenunspezifisch, Vernetzungen von DNA-Strängen und damit eine Hemmung der Zellteilung. Nebenwirkungen wie Appetitlosigkeit, Erbrechen und Durchfälle sowie Haarausfall treten häufig auf. Des Weiteren werden Nekrosen im Bereich der Nieren und Harnwege sowie Schleimhautschädigungen beobachtet. Bei cis-Platin ist auch eine Beeinflussung des Hörvermögens möglich.

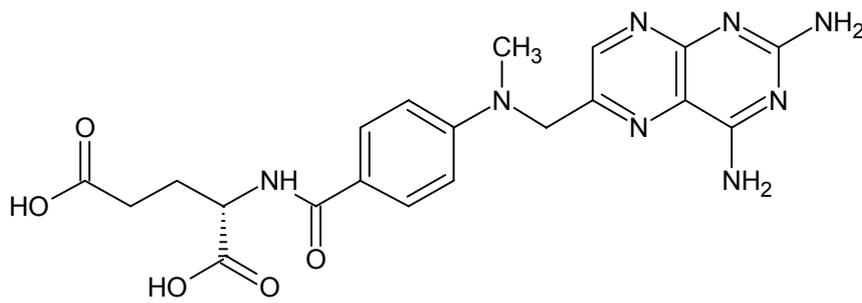
Zytostatisch wirksame Antibiotika. Actinomycin D bindet stabil an die DNA und hemmt die RNA-Synthese. Die zytotoxische Wirkung der Anthracycline (Daunorubicin, Idarubicin, Doxorubicin und Epirubicin), beruht auf der Interkalation in die DNA, die zur Hemmung der Nucleinsäuresynthese führt. Darüber hinaus werden Strangbrüche durch die Hemmung der Topoisomerase II, Biotransformationen zu freien Radikalen sowie Bindungen an Bestandteile der Zellmembran, die die Membranfluidität und -permeabilität erhöhen, hervorgerufen. Mit ähnlichen Wirkungen werden Mitoxantron und Amsacin sowie Bleomycin eingesetzt. Mitomycin wirkt durch Alkylierung der DNA und Bildung freier Radikale zytotoxisch. Als besondere Nebenwirkungen sind hier Nierenschäden und interstitielle Pneumonien zu nennen.

Als **Topoisomerase-Hemmstoffe** werden Substanzen bezeichnet, die die enzymatische Verdrillung der DNA bei der Zellteilung vorübergehend unterbrechen und nach erfolgreicher Replikation wieder zusammenführen können. Die Hemmung dieser Enzyme (insbesondere die Blockade ihrer Dissoziation von der DNA) führt zu permanenten Strangbrüchen bei den stabilisierten Topoisomerase-DNA-Komplexen und somit zum Absterben der Zelle. Topotecan und Irinotecan sind Hemmstoffe der Topoisomerase I (spalten lediglich einen Strang der doppelsträngigen DNA). Etoposid sowie Teniposid sind Hemmstoffe der Topoisomerase II (binden kovalent an beide DNA-Stränge und spalten diese temporär. Nach der Replikation wird die Bruchstelle verschlossen und das Enzym dissoziiert von der DNA).

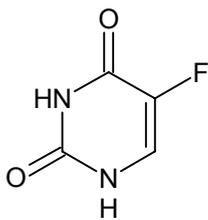
2.1.3.3 Interferenz mit der DNS-Synthese

Für die Bildung von Purin-Basen sowie Thymidin ist Tetrahydrofolsäure notwendig. Diese entsteht aus Folsäure u. a. durch Einwirkung der Dihydrofolsäure-Reduktase. Das Folsäure-Analogon Methotrexat hemmt dieses Enzym. Die Zellen verarmen an Tetrahydrofolsäure. Hydroxycarbamid (Hydroxyharnstoff) hemmt die Ribonukleotid-Reduktase, welche normalerweise Ribonukleotide in Desoxyribonukleotide überführt, die dann als DNA-Bausteine dienen. Die Einschleusung falscher Basen (6-Mercaptopurin, 5-Fluorouracil) oder Nucleoside mit falschen Zuckern (Cytarabin) führt zur Wirkung als **Antimetabolit**. Sie hemmen die DNA/RNA-Synthese oder führen nach ihrem Einbau zur Bildung falscher Nucleinsäuren. Typische Nebenwirkungen sind Knochenmarkssuppression, Magen-Darm-Störungen, Exantheme sowie Nieren- und Leberschädigungen. Die wichtigsten Vertreter dieser Wirkklasse sind in Abbildung 2-10 dargestellt.

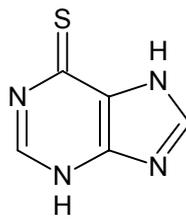
a



b



c



d

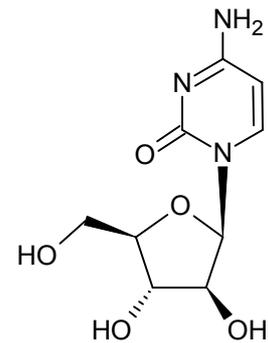


Abbildung 2-10: Strukturen der Antimetabolite Methotrexat (a), 5-Fluorouracil (b), 6-Mercaptopurin (c) und Cytarabin (d).

2.1.3.4 Hemmung der Mikrotubuli-Funktion

Mitosehemmstoffe (Blockade der Mitose) stören die Funktion des Spindelapparats, der für den Stofftransport in der Zelle unverzichtbar ist. Vinca-Alkaloide (Vinblastin, Vincristin, Vindesin und Vinorelbin) hemmen den Aufbau der Kernspindel, wohingegen die Taxane (Paclitaxel und Docetaxel) ihren Abbau blockieren. Der Angriffspunkt ist in beiden Fällen die β -Untereinheit des Tubulindimers, wobei die Bindungsstellen unterschiedlich sind. Im Vergleich zu den meisten anderen Zytostatika sind die aus Naturstoffen gewonnenen Mitosehemmstoffe wesentlich komplexer aufgebaut. Beispielhaft wird in Abbildung 2-11 die Struktur des aus der Rinde der pazifischen Eibe gewonnenen Paclitaxels gezeigt. Als Nebenwirkung können kurzfristige Knochenmarkssuppression und Funktionsstörungen peripherer Nerven auftreten.

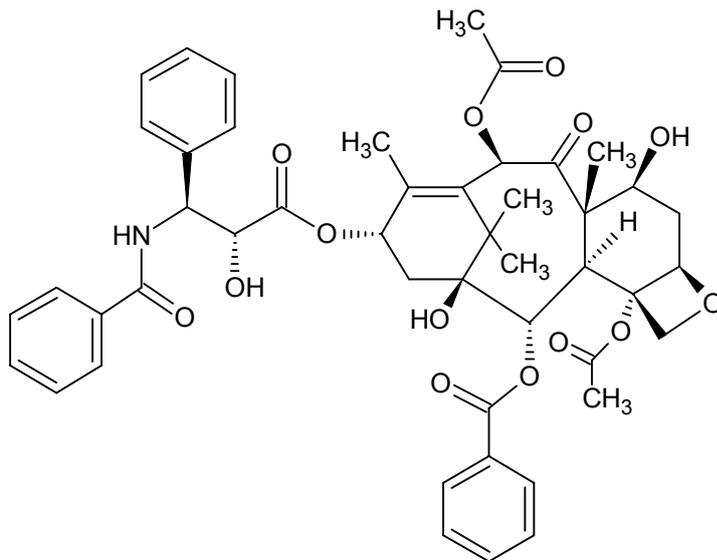


Abbildung 2-11: Struktur von Paclitaxel.

2.1.3.5 Hemmung des hormonabhängigen Wachstums

Hormone und Hormonantagonisten sind keine Zytostatika im eigentlichen Sinn. Sie werden jedoch mit Erfolg bei Tumoren eingesetzt, deren Wachstum hormonabhängig ist. Dies trifft vor allem auf Prostata-, Mamma- und Korpuskarzinome des Uterus zu. Entsprechend den androgen- oder estrogensuppressiven Wirkmechanismen unterscheidet man Hypothalamushormone, Estrogenrezeptoranaloga, Aromatase-Hemmer, Gonadoliberein-Analoga, Antiestrogene, Gestagene und Antiandrogene. Glucocorticoide werden adjutant zur Reduktion von Übelkeit und anderen Nebenwirkungen gegeben. Sie hemmen im Wesentlichen die Proliferation von Lymphozyten. Neben den bereits häufig beschriebenen Nebenwirkungen treten bei Hormongaben geschlechtsspezifische Nebenwirkungen und kardiovaskuläre Komplikationen auf.

2.1.3.6 Sonstige Zytostatika

Zu den weiteren Zytostatika zählen u. a. Antikörper, Zytokine, radioaktive Isotope sowie einzelne Verbindungen mit spezifischen Wirkmechanismen. Auf eine detaillierte Darstellung wird hier verzichtet. Details sind Lehrbüchern wie z. B. dem *Estler, Lüllmann/Mohr* oder *Mutschler* [2, 97, 98] sowie Fachinformationen zu entnehmen [114, 115].

2.1.3.7 Gefährdungspotential im Arbeitsschutz

Aufgrund der verschiedenen, unspezifischen Wirkungsmechanismen greifen Zytostatika auch gesundes Gewebe an. Zellen mit hohen Proliferationsraten, wie z. B. Schleimhäuten, dem blutbildenden System und dem Knochenmark sowie der Haut werden besonders stark beeinflusst. Als Folge resultieren die bereits beschriebenen Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen, Appetitlosigkeit, Oberbauchschmerzen, Durchfälle, Haarausfall sowie eine generelle Schwächung des Immunsystems und somit eine Erhöhung der Infektionsanfälligkeit. Darüber hinaus besteht für Patienten das Risiko der Entwicklung eines Sekundärtumors [99, 116-121]. Die Risiken können sich aber nicht nur auf den Patienten, sondern auch auf das pflegende Personal und Angehörige erstrecken. Bei Untersuchungen von Krankenschwestern, die vor oder während der Schwangerschaft Zytostatika gehandhabt haben, stellte sich heraus, dass die Exposition oder die Handhabung während der Schwangerschaft mit einem signifikant erhöhten Risiko für Spontan-Aborte einherging [122]. Für Frauen, deren Männer exponiert waren, zeigte sich ebenfalls ein erhöhtes Risiko, das jedoch statistisch nicht signifikant war [123]. Auch wurde ein Zusammenhang mit Infertilität bei der Handhabung von Zytostatika hergestellt [124]. Die Auswertung von Roller und Nies von epidemiologischen und experimentellen Literaturdaten ergab bei einem 35-jährigem arbeitstäglichem Umgang mit Cyclophosphamid ein Risiko von 1:10.000 für die Entwicklung eines Tumors [125, 126].

Schon in den 70er Jahren des letzten Jahrhunderts hat die internationale Krebsforschungsbehörde (International Agency for Research on Cancer – IARC) damit begonnen neben klassischen Chemikalien auch einzelne Wirkstoffe und Arzneimittelkombinationen zu untersuchen und in eine von vier Kanzerogenitätskategorien einzustufen [102-105, 127-133]. Wie die folgenden beiden Tabellen 2-1a und 2-1b zeigen, wurde keines der untersuchten Zytostatika in die Gruppe 4 „Die Substanz (Mischung) ist vermutlich nicht kanzerogen für den Menschen“ eingestuft.

Tabelle 2-1a: Zytostatika - Klassifizierung der internationalen Krebsforschungsbehörde (IARC) [102-105, 127-132].

Gruppe 1 Kanzerogen für den Menschen	Gruppe 2A Wahrscheinlich kanzerogen für den Menschen
Azathiorin	Adriamycin (Doxorubicin)
Busulfan (Myleran)	Azacididin
Chlorambucil	Carmustin (BCNU)
Chlornaphazin	Chlorzyoocin
Cyclophosphamid (CP)	cis-Platin
Etoposid in Kombination mit cis-Platin und Bleomycin	Etoposid
Melphalan	Lomustin (CCNU)
MOPP und andere kombinierte Chemotherapien einschließlich alkylierender Substanzen	N-Ethyl-N-nitrosourea (ENU)
Semustin (Methyl-CCNU)	N-Methyl-N-nitrosourea (MNU)
Tamoxifen	Procarbazin
Thioepa	Teniposid
Treosulfan	

Tabelle 2-1b: Zytostatika - Klassifizierung der internationalen Krebsforschungsbehörde (IARC) [102-105, 127-132].

Gruppe 2B: Möglicherweise kanzerogen für den Menschen	Gruppe 3: Nicht klassifizierbare Kanzerogenität gegenüber dem Menschen
Amsacrin	Actinomycin D
Aziridin	5-Fluorouracil
Bleomycin	Ifosfamid
Darcabazin	6-Mercaptopurin
Daunomycin	Methotrexat
Senfgas	Prednison
Melphalan	Vinblasin
Mitomycin C	Vincristin
Mitoxanthron	
Streptozotocin	

2.2 Analytik von Arzneimitteln

2.2.1 Einleitung

In der medizinisch-pharmazeutischen Literatur werden die meisten Analyseverfahren zur Bestimmung von Arzneimitteln veröffentlicht. Bei der Arzneimittelherstellung und in Apotheken werden zur Identitäts- und Reinheitsbestimmung meistens Methoden des Deutschen Arzneibuchs (DAB) und Europäischen Arzneibuchs (Ph. Eur.) verwendet [134]. Neben einfachen gruppenspezifischen Reaktionen und Farbreaktionen werden in Apotheken im Wesentlichen physikalische Methoden eingesetzt [135]. In seltenen Fällen auch UV/Vis-Spektroskopie oder Flüssigkeitschromatographie. Von der Entwicklung über den Herstellungsprozess bis zur Qualitätskontrolle werden in der pharmazeutischen Industrie nahezu alle analytischen Techniken eingesetzt.

Zur Identitätsprüfung und Qualitätskontrolle werden hier häufig die komplementären Verfahren IR- und Ramanspektroskopie angewendet. Insbesondere die Ramanspektroskopie besitzt den Vorteil der nicht invasiven und direkten Messmöglichkeit. [136]. Zur chromatographischen Trennung werden alle gängigen Verfahren – Dünnschichtchromatographie (TLC), Superkritische Flüssigchromatographie (SFC), Kapillarelektrophorese (CE), Gaschromatographie (GC) und Flüssigchromatographie (LC) – eingesetzt [137-145]. Aufgrund der Polarität und guten Wasserlöslichkeit der meisten Substanzen hat sich die Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) mit einer Vielzahl unterschiedlicher Detektoren (EC, FLD, UV, DAD, MS) zur Bestimmung von Einzelkomponenten und komplexen Substanzgemischen durchgesetzt. Da für spurenanalytische Fragestellungen viele Nachweisverfahren zu unempfindlich sind, wurde in der Vergangenheit, zumeist nach aufwändiger Derivatisierung und Probenanreicherung, häufig die GC-MS eingesetzt. Durch die Weiterentwicklungen in der HPLC-MS-Gerätetechnik sind heute einfachere, spezifischere und empfindlichere Nachweisverfahren möglich [146-149]. In den letzten Jahren wurden Multikomponentenanalyseverfahren mittels LC-MS/MS zur Rückstandskontrollanalytik von Lebensmitteln sowie zum Nachweis von Arzneimitteln in der Umwelt entwickelt.

2.2.2 Antibiotika

Zur Bestimmung von Antibiotika gibt es eine Vielzahl von Publikationen und Reviews aus den Bereichen Pharmakokinetik, Lebensmittelkontrolle und Umweltanalytik auf die hier jedoch nicht näher eingegangen wird. Über die verschiedenen Analysetechniken und deren Anwendung geben Wen et al. am Beispiel der Arzneimittelanalytik pflanzlicher Antibiotika und Antirheumatika einen guten Überblick [142]. Die Kapillarelektrophorese zeichnet sich durch gute Auflösung und geringe Probenvolumina aus und ist bei der Trennung chiraler Verbindungen anderen chromatographischen Verfahren überlegen. Nachteilig sind allerdings die komplexere Methodenentwicklung, geringere Robustheit und aufwändigere MS-Kopplung. Aus diesen Gründen hat sich die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) zum Nachweis von Pharmazeutika durchgesetzt.

Detaillierte Literaturübersichten zur Bestimmung von Antibiotika geben Shaikh und Moats [150], Marzo und Bo [151], Niessen [152], Di Corcia und Nazzari [153] sowie Stolker und Brinkmann [154]. Ergänzend beschreiben Aerts et al. [155] Strategien zur Analytik von Veterinärantibiotika in verschiedenen Matrices. Die meisten Methoden bestehen aus flüssigkeitschromatographischen Trennungen mit RP-18-Phasen und FLD-, UV-, DAD-, oder MS-Detektion. Für die in dieser Arbeit nicht weiter betrachteten Aminoglycoside, Makrolide und Tetracycline sind in den letzten Jahren sowohl Einzel- als auch Multimethoden mittels LC-MS/MS entwickelt worden [156-162]. Zur Untersuchung von Arzneimittelrückständen in der aquatischen Umwelt sind für einige der in Kapitel 5.2 ausgewählten Antibiotika LC-MS/MS-Multimethoden entwickelt worden [42, 44, 163]. Hirsch et al. [41] und Lange et al. [164] beschreiben die Analytik nach Festphasenextraktion (SPE) oder Gefriertrocknung mittels LC-MS/MS aus Wasser und Abwasser bei gleichzeitiger Probenvorbereitung von bis zu 26 Wirkstoffen. Die Gefriertrocknung ist allerdings für komplexe Matrices, wie z. B. Urin, als Anreicherungsmethode nicht geeignet. Typische Probenvorbereitungsverfahren bei der Untersuchung von biologischen Flüssigkeiten sind die Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE) und die SPE [165]. Für die Anreicherung aus Wasserproben werden meistens Polymermaterialien wie Styroldivinylbenzol (SDB) oder ähnliche Ko-Polymere (ENV+, HLB, Strata X etc.) verwendet. Die instrumentellen Nachweisgrenzen (IDL) liegen zwischen 0,1 und 10 ng on column [41, 42, 44, 49, 153, 154, 163].

Aufgrund der hydrolytischen Spaltung des β -Lactamrings in der Wasserphase sind Cephalosporine und Penicilline nicht in Multimethoden zur Untersuchung von Abwässern und Oberflächengewässern enthalten. Aus Lebensmittelproben (Milch und Fleisch) werden β -Lactame mittels C_{18} -, Diol-, Aktivkohle-, Anionentauscher- oder Polymer-SPE-Kartuschen extrahiert [166-173]. Die Flüssig-Flüssigextraktion ist aufgrund der Instabilität des β -Lactamgrundgerüsts in Methanol und wässrigen Systemen nur bedingt geeignet. Die Analysemethoden sind zur Kontrolle der Rückstandskontrollimits (MRL) [174] zwischen 5 $\mu\text{g/L}$ für Milch und 300 $\mu\text{g/kg}$ für Nierengewebe optimiert. Neben UV-Methoden [166-168, 175] finden sich in der neueren Literatur fast ausschließlich LC-MS/MS-Methoden [169, 171-173, 176-184]. In der Pharmakokinetik werden zur Bestimmung von Penicillinen oder Cephalosporinen ähnliche Analysemethoden verwendet [185-195].

Für Chloramphenicol sind aus der Lebensmittelkontrolle zur Probenvorbereitung von verschiedenen Matrices C_{18} -SPE Methoden beschrieben. Gantverg et al. verwenden für Muskelfleisch und Urin eine C_{18} -SPE-Kartusche zur Extraktreinigung. Der anschließende Vergleich zwischen LC-MS/MS- und GC-MS-Bestimmung nach zusätzlicher Derivatisierung zeigt deutlich, dass die LC-MS/MS Methode einfacher und mit Nachweisgrenzen kleiner 0,02 $\mu\text{g/kg}$ um den Faktor 100 empfindlicher ist [196]. Der allgemeine Trend zur Tandemmassenspektrometrie zeigt sich auch bei den neueren Analysemethoden zur Quantifizierung von Chloramphenicol [197-205].

Sulfonamide und der Synergist Trimethoprim können mit verschiedenen Adsorptionsmaterialien extrahiert und mittels HPLC-UV und LC-MS/MS analysiert werden [152, 206-214]. Schwieriger ist dagegen die Integration von Fluorchinolonen in eine Multimethode. Durch die Fluorgruppe neigen die Substanzen zur Adsorption an den SPE Materialien. Darüber hinaus kann die chromatographische Trennung problematisch sein, so dass i. d. R. spezielle Methoden für diese Substanzgruppe eingesetzt werden [215-233]. Miao et al. extrahieren Fluorchinolone zusammen mit Sulfonamiden, Trimethoprim und Tetracyclinen aus 1 L Wasserproben mit einer Oasis HLB SPE Kartusche. Die LC-MS/MS Bestimmung erfolgt allerdings für jede Substanzgruppe separat [234]. Dagegen haben Heller et. al bei gleicher SPE Probenvorbereitung eine LC-MS/MS Multimethode zur Bestimmung von Fluorchinolonen, Tetracyclinen, Sulfonamiden und β -Lactamen zur

Rückstandsanalytik von Eiern mit Bestimmungsgrenzen zwischen 10 und 50 ppb entwickelt [183]. Zur besseren Elution der Fluorchinolone von C₁₈-Materialien werden häufig starke Desorptionslösungsmittel wie z. B. Tetrahydrofuran eingesetzt [230, 232, 233, 235]. Die gerätespezifischen Nachweisgrenzen (IDL) für Ciprofloxacin liegen zwischen 0,02 ng on column mittels LC-MS/MS [234], 0,1 ng on column mittels Fluoreszenz und 4 ng on column für die klassische UV Detektion [236].

Das Glycopeptid Vancomycin ist mit einer Masse von 1449,3 g/mol die größte der untersuchten Verbindungen. Wie bei vielen Peptiden und Proteinen führen freie OH-, Carboxyl- und Aminogruppen zur Möglichkeit von Mehrfachladungen bei der Elektrosprayionisation. Im Falle des Vancomycins wird die Bildung von zweifach positiv geladenen Quasimolekülonen mit einem m/z von 725 amu beobachtet [237, 238]. Da Vancomycin ein Reserveantibiotikum aus der Humanmedizin ist, stammen die publizierten Analysemethoden fast ausschließlich aus pharmakokinetischen Studien [237-240].

Im Bereich der pharmazeutisch-medizinischen Analytik werden bislang nur in der Forensik für toxikologische Screeninguntersuchungen LC-MS/MS-Multimethoden eingesetzt [241]. Obwohl für den berufsbedingten Umgang mit Penicillinen bereits Effekte wie Sensitivierungen, Bildung von Resistenzen und Allergien [242-246] beschrieben sind, existiert hier bislang kein Problembewusstsein wie bei den im nächsten Kapitel beschriebenen Zytostatika. Aus diesem Grund sind zur Untersuchung von Arbeitsplatzkontaminationen oder der berufsbedingten Aufnahme von Antibiotika bislang auch noch keine speziellen Analysemethoden entwickelt worden.

2.2.3 Zytostatika

Wie bei fast allen Arzneimittelwirkstoffen wurden die ersten analytischen Bestimmungsverfahren für Zytostatika für Untersuchungen der Pharmakokinetik und dem Patientenmonitoring entwickelt [63, 247-253]. Insbesondere zur HPLC Analytik verschiedener Zytostatika geben Tjaden [254] und Kiffmeyer [59] einen guten Überblick. In den letzten zwei Jahrzehnten wurden diese Analysemethoden auch zur Untersuchung der Arbeitsumgebung und der berufsbedingten Belastung von Apothekenpersonal, Pflegekräften und Ärzten weiterentwickelt [12, 255-263].

Während im Blut und Urin von Chemotherapie-Patienten relativ hohe Wirkstoffkonzentrationen vorliegen, so sind in physiologischen Flüssigkeiten des Personals weitaus geringere Mengen zu erwarten. Aus diesem Grund ist eine Verbesserung der Nachweisstärke der Analysemethoden für diese Arbeitsschutzmaßnahmen notwendig. Das gleiche gilt für die Untersuchung der aquatischen Umwelt. Durch Verdünnungseffekte nehmen die Konzentrationen vom Eintragsort „Patientenausscheidungen“ über das Toilettenabwasser zur Kläranlage bis in Oberflächenwässern stark ab. Darüber hinaus handelt es sich bei Abwasserproben um eine sehr inhomogene und teilweise extrem stark belastete Matrix. Es sind also nachweisstarke und selektive Bestimmungsverfahren verbunden mit einer effektiven Spurenanreicherung und Extraktreinigung notwendig. Aus diesem Grund wurden für die meisten Studien, sowohl im Arbeits- als auch im Umweltschutz, das häufig verwendete Zytostatikum Cyclophosphamid als Leitsubstanz ausgewählt. Die analytische Bestimmung des Stickstoff-Lost-Derivates Cyclophosphamid erfolgte bislang fast ausschließlich mittels gaschromatographischer Methoden. Nach Derivatisierung mit Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) wird nach Elektronenstoßionisation (EI) mittels GC-MS das N-trifluoracetylcyclophosphamid-Ion bei $m/z = 307$ amu analysiert [26, 63, 260]. Erstmals konnten 1997 Cyclophosphamid und das Strukturisomer Ifosfamid nach SPE-Probenvorbereitung an einer C_{18} -Phase mittels GC-MS in Konzentrationen von bis zu 60 ng/L in verschiedenen Strömen einer Kläranlage nachgewiesen werden [264, 265]. Für Routinemessungen wird die GC-MS-Methode nach wie vor häufig angewendet. In neueren Veröffentlichungen setzt sich dagegen die Bestimmung mittels LC-MS/MS ohne aufwändige Derivatisierung durch [261, 266-274].

5-Fluorouracil wurde bislang im Arbeitsschutzbereich mit geringer Empfindlichkeit mittels HPLC-UV [263, 275-279] oder nach Derivatisierung mit N-tert.-Butyl-dimethylsilyl-N-methyltrifluoracetamid (TBDMS) mit Nachweisgrenzen bis 1 ng/Probe mittels GC-MS gemessen [22, 23, 262]. Wie Applikationen aus dem pharmazeutisch-medizinischen Bereich zeigen [280, 281], stellt die Kopplung mit der Tandemmassenspektrometrie auch für die Bestimmung von 5-FU in der Arbeits- und Umweltschutzanalytik eine gute Alternative dar. Für den Nachweis von Cyclophosphamid, Methotrexat und 5-Fluorouracil in Wischproben wurde von Sabatini et al. eine erste LC-MS/MS-Multimethode entwickelt [282]. Die Nachweisgrenzen liegen bei 33 ng/mL für 5-FU sowie 1,1 ng/mL für CP und MTX. Bei Methotrexat ist der gleiche Trend wie bei allen anderen Pharmazeutika zu beobachten. Unempfindliche HPLC-UV-Methoden [283, 284] werden durch nachweiststärkere LC-MS/MS Methoden [261, 271, 282, 285] ersetzt. Eine Ausnahme bilden hier Platinzytostatika. Da mittels Voltametrie [18, 260, 286] oder ICP-MS [17, 19, 21, 261] eine sehr empfindliche Messung des Gesamtplatingehaltes möglich ist, wird auf die aufwändigere und bislang unempfindlichere Analyse der einzelnen Wirkstoffe (cis-, Carbo- und Oxaliplatin) beim Umgebungsmonitoring verzichtet. Im Bereich der Abwasseranalytik wurden von Hann et al. eine Multimethode zur Bestimmung von Platinzytostatika, deren Metaboliten und Hydrolyseprodukte durch die Kopplung von HPLC und ICP-MS entwickelt [287]. Für die in dieser Arbeit nicht betrachteten Anthrazykline [288-292] sowie das Taxan Paclitaxel [278, 293] wurden bislang einzelne Analyseverfahren zur Untersuchung von Urin- und Wischproben publiziert. Rubino et al. haben zwar bereits 1999 eine HPLC-UV-Methode für die drei Nucleosid Analoga 5-Fluorouracil, Cytarabin und Gemcitabin veröffentlicht [294], aber insbesondere für die letzten zwei liegen ebenso keine weiteren Daten oder Analysemethoden vor wie zu Arbeitsschutzuntersuchungen der mehr als 50 weiteren Zytostatika.

2.3 Arzneimittelkontaminationen im Gesundheitswesen

2.3.1 Einleitung

Obwohl die in Kapitel 2.1.1 beschriebenen Regelungen beim Umgang mit CMR-Stoffen erst in den letzten Jahren weiterentwickelt und umgesetzt wurden, stand die Frage eines sicheren, möglichst expositionsfreien Umgangs mit Zytostatika schon sehr frühzeitig im Mittelpunkt der Diskussionen zwischen Pharmazeuten, ihrer Landesorganisationen sowie den zuständigen Überwachungs- und Versicherungsorganen. Dieses Problembewusstsein hat schon früh dazu geführt, dass sich mit dem Gefährdungspotential dieser Stoffe, mit der Arbeitsweise in den Apotheken, mit Arbeitsanweisungen sowie organisatorischen und technischen Maßnahmen des Arbeitsschutzes befasst und entsprechende organisatorische und technische Sicherheitsvorkehrungen getroffen wurden. Kennzeichnend ist, dass derartige Maßnahmen ohne systematische Kenntnisse über das Ausmaß der tatsächlichen Belastungen z. B. am Arbeitsplatz "Arzneimittelzubereitung", "Applikation" oder "Station/Krankenzimmer/Krankenbett", über Herkunft und Ausbreitungspfade von Kontaminationen sowie die human- und umwelt-toxikologischen Implikationen von Substanzfreisetzungen und Expositionen entwickelt wurden.

Einzelne Wissenschaftler wie Sessink [26, 276, 283, 295-306], Valanis [124, 307-320] und Connor [321-338] haben über Jahre hinweg kontinuierlich Daten gesammelt, Phänomene beschrieben, auf Rätsel hingewiesen und mehr oder minder explizit Fragen gestellt. Durch diese Arbeiten wurde das Bewusstsein geschärft, dass der Umgang mit Zytostatika nicht nur ein Gefährdungspotential beinhaltet, sondern tatsächlich zu Belastungen am Arbeitsplatz und zu nachweisbaren Kontaminationen des Personals führen kann. Zu dieser Einsicht trugen auch Beiträge engagierter Apotheker bei, die mit einfachen Mitteln versuchten, ihren täglichen Beobachtungen systematisch nachzugehen und Missstände (z. B. Außenkontaminationen von Primärverpackungen [339, 340]) und Mängel von Schutzausrüstungen (z. B. der Werkbank [341-344], Handschuhen [338, 345-350] oder Kitteln [351]) deutlich machten.

2.3.2 Umgebungsmonitoring

Zur Erfassung von Kontaminationen auf festen Oberflächen wie z. B. auf Böden, Wänden, Türen, Griffen, Computertastaturen, Geräten, Einrichtungsgegenständen, festen, nicht porösen Verpackungen, Vials usw., wird beim Umgebungsmonitoring das Verfahren der Wischprobenahme eingesetzt. Zur Probenahme werden Filterpapiere oder fusselfreie Zellstofftücher verwendet, die mit einem wässrigen oder organischen Lösungsmittel benetzt werden. Die Auswahl geeigneter Wischmaterialien und Extraktionslösungsmittel ist von den Eigenschaften der zu untersuchenden Substanzen abhängig [12, 14, 29, 288, 352, 353]. Die Wiederfindungsraten sind nicht nur von den untersuchten Substanzen sondern insbesondere von der Oberflächenbeschaffenheit der zu beprobenden Stellen abhängig. Leider wurden insbesondere flächenabhängige Wiederfindungsraten in keiner der bislang veröffentlichten Studien angegeben. Die meisten Werte beziehen sich auf dotierte Glas- oder Edelstahlflächen.

Kleinere Gegenstände werden ganzflächig abgewischt. Bei größeren Flächen erfolgt die Probenahme von einer repräsentativen Teilfläche (i. d. R. 20x20 oder 30x30 cm). Mit Hilfe der Kenntnis über kontaminierte Flächen lassen sich Kontaminationsquellen aufdecken und Verschleppungspfade beschreiben. So kann der Frage nachgegangen werden, bei welchen Arbeitsschritten es zu einer Aufnahme von Arzneimitteln kommen kann. Hierdurch wird die Entwicklung von Vermeidungsstrategien zur langfristigen Reduktion von Kontaminationen ermöglicht. Insbesondere für Cyclophosphamid und Platin-Zytostatika werden mittlerweile standardisierte Wischprobenahmeverfahren eingesetzt, so dass die Probenahme von Apotheken- bzw. Klinikpersonal selbst durchgeführt werden kann [11, 354, 355].

Textilkontaminationen sind ein bislang wenig beachtetes aber beim Einsatz von wieder verwendbaren Textilien nicht zu vernachlässigendes Problem im Klinikbetrieb. Kontaminationen von Textilien (Arbeitskleidung, Bettwäsche, Patientenwäsche, Handtücher, Putzmaterialien, Matratzen etc.) mit hochwirksamen Arzneimitteln wie Zytostatika und Antibiotika können im Apotheken- und Stationsbereich auf verschiedenen Wegen erfolgen. Neben Spritzern und Verschüttungen von Lösungen oder Feststoffen ist hier in besonderem Maße der Kontakt mit belasteten

Patientenausscheidungen wie Blut, Erbrochenem, Urin, Schweiß etc. zu nennen. In einer niederländischen Studie wurden Textilien aus dem Umfeld von mit Cyclophosphamid behandelten Patienten untersucht. Aus den in Tabelle 2-2 zusammengefassten Ergebnissen wird ersichtlich, dass mit verbreiteten und hohen Belastungen derartiger Textilien zu rechnen ist.

Tabelle 2-2: Cyclophosphamid (CP) in drei niederländischen Kliniken [356].

Probenahmeort	CP-Belastung
Bettwäsche	1,6 – 800 ng/cm ²
Haut der Patienten	300 – 16.000 ng/Wischprobe
Bett, Infusionsständer, Fußboden	< 0,002 – 2,5 ng/cm ²
Wischlappen, Sanitärbereich	Median 27.000 ng

Durch geltende Vorschriften und Sicherheitsrichtlinien wird dieses Problem nicht ausreichend berücksichtigt. Nicht nur die Reinigung von Flächen und Sanitäranlagen, sondern auch der Umgang mit Patientenwäsche, die Entsorgung von Einmaltextilien sowie die Reinigung von wieder verwendbarer Wäsche sollte in getrennten Behältern vorgenommen werden.

Eine spezielle Behandlung kontaminierter Wäsche erfolgt derzeit nicht und ist mit erheblichem Aufwand verbunden, da Anhaftungen von Arzneimitteln an Textilien nur selten direkt erkennbar sind. Ziel einer abgeschlossenen Studie, die allerdings nicht Gegenstand dieser Arbeit sein soll, war die Untersuchung der Effektivität von gängigen Waschverfahren. Dabei wurde festgestellt, dass die anhaftenden Substanzen durch den Reinigungsprozess

- zu inaktiven Produkten abgebaut werden,
- zu ebenfalls toxischen Metaboliten umgesetzt werden,
- auf der Wäsche verbleiben,
- im Waschwasser verbleiben.

Die Ergebnisse der Laboruntersuchungen [357] als auch Untersuchungen bei einem textilen Mietservice zeigten, dass bis zu 7 % der eingesetzten Pharmaka nach dem Waschvorgang sowohl auf vorher dotierter als auch auf sekundär kontaminierter Wäsche vorhanden waren. In Spül- und Abwässern des Waschprozesses konnten

die höchsten Anteile bestimmt werden. Insbesondere Cyclophosphamid, Ifosfamid und das Antibiotikum Chloramphenicol werden durch die Waschmittelzusätze nicht zerstört. Weitere Untersuchungen ergaben, dass eine effektive Reinigung kontaminierter Textilien durch kombinierte Waschverfahren, wie sie auch für infektiöse Wäsche eingesetzt werden, möglich ist. Ähnliche Ergebnisse wurden auch in einer niederländischen Studie erzielt. Es konnte gezeigt werden, dass durch Ausdehnung der Sicherheitsvorschriften und Kennzeichnung der Wäsche eine effektive Reinigung der Wäsche als auch der Schutz der Mitarbeiter möglich ist [358].

2.3.3 Biomonitoring

Mit dem biologischen Beanspruchungsmonitoring können gentoxische Schäden (Mutationen), die durch Aufnahme mutagener Substanzen entstehen, nachgewiesen werden. Allerdings sind die eingesetzten Methoden (Ames Test, Bestimmung der Schwesterchromatidaustausch-Häufigkeit oder Mikrokernrate) auch unter gut kontrollierten Bedingungen nicht für Routinekontrollen geeignet, da i. d. R. nur der Expositionszeitpunkt am untersuchten Tag analysiert werden kann. Des Weiteren sind diese Analysemethoden sehr unspezifisch und der Einfluss von Störfaktoren, wie z. B. Rauchen und Ernährung, sind nicht genau bekannt. Da kein direkter Nachweis einer Substanz erfolgt, ist außerdem keine eindeutige Aussage zu Ort und Zeitpunkt der Aufnahme möglich. Versuche Inkorporationen von Zytostatika mittels biologischem Beanspruchungsmonitoring nachzuweisen, haben zu widersprüchlichen Ergebnissen geführt [29, 359-364].

Die Entwicklung sensitiver und selektiver Analysemethoden machte es möglich, Zytostatika und deren Metaboliten aus biologischen Flüssigkeiten nachzuweisen. Dieses biologische Belastungsmonitoring wird vielfach als **Biomonitoring** bezeichnet. Da bisher nur für wenige Substanzen (z. B. Platin, Cyclophosphamid, FBAL, einem Metaboliten von 5-FU etc.) Analyseverfahren zu Verfügung stehen [262, 263, 273, 291, 365-369], wird die Aufnahme von ein oder zwei Substanzen oft als Indikator für eine Exposition gegenüber mehreren Zytostatika angesehen. Auch diese Untersuchungen spiegeln nur die innere Belastung zum Zeitpunkt der Untersuchung wieder und geben wie das biologische Beanspruchungsmonitoring

keine Hinweise auf den Ort der Aufnahme. Auch ist eine genaue Berechnung der aufgenommenen Mengen nicht möglich, da die Ausscheidungsraten u. a. vom Aufnahmepfad sowie der Konzentration abhängen. Positive Befunde bei Personen, die keinen Umgang mit den Wirkstoffen hatten zeigen auch, dass die Aufnahme über z. B. kontaminierte Oberflächen eine große Rolle spielen [261, 275, 300, 365-368, 370, 371].

2.4 Pharmaka in der Umwelt

2.4.1 Vorkommen und Bewertung

Bereits in den 70er Jahren wurden erste Arzneimittel in der Umwelt nachgewiesen. Nach ersten Steroidbefunden wurden Salicylsäure und Clofibrinsäure, ein Metabolit von Clofibrat, sowie zwei weitere Lipidsenker [372] in den 80er Jahren in Großbritannien [373] und Anfang der 90er auch in deutschen Gewässern gefunden [374, 375]. Insgesamt wurden in Deutschland bislang mehr als 100 verschiedene pharmazeutische Wirkstoffe in verschiedenen aquatischen Umweltkompartimenten nachgewiesen [42, 62, 67, 376-383]. Als Haupteintragspfade sind die Ausscheidungen medikamentös therapierter Personen bzw. Tiere identifiziert worden. Produktionsabwässer und unsachgemäße Entsorgung spielen nur eine untergeordnete Rolle.

Am weitesten verbreitet sind Wirkstoffe mit hohen Verbrauchsmengen (Analgetika, Antibiotika, Lipidsenker, Hormone, Röntgenkontrastmittel etc.). Die Mehrzahl der bislang untersuchten Pharmazeutika erwies sich sowohl in Laborversuchen als auch bei Untersuchungen der Zu- und Abläufe von Kläranlagen als nicht biologisch abbaubar [42, 59, 62, 67, 77, 376-385]. Aus diesem Grund werden Kläranlagen mittlerweile auch als Punkteintragsquellen für Arzneimittelrückstände in Oberflächengewässern angesehen. Darüber hinaus konnten einige dieser Substanzen auch Grund- und teilweise in Trinkwasser nachgewiesen werden [42, 67]. Einen aktuellen Überblick zum Vorkommen von Pharmazeutika in der Umwelt geben Halling-Sørensen [386, 387], Daughton und Ternes [378, 379], Heberer [388], Thiele-Bruhn [389], Kümmerer [62, 67, 390], Frimmel und Müller [391] sowie Reemtsma und Jekel [392].

Die Aufklärung der in Abbildung 2-12 dargestellten Eintragspfade sowie Verhalten und Auswirkungen auf die Umwelt sind Gegenstand verschiedener nationaler und internationaler Forschungsvorhaben.

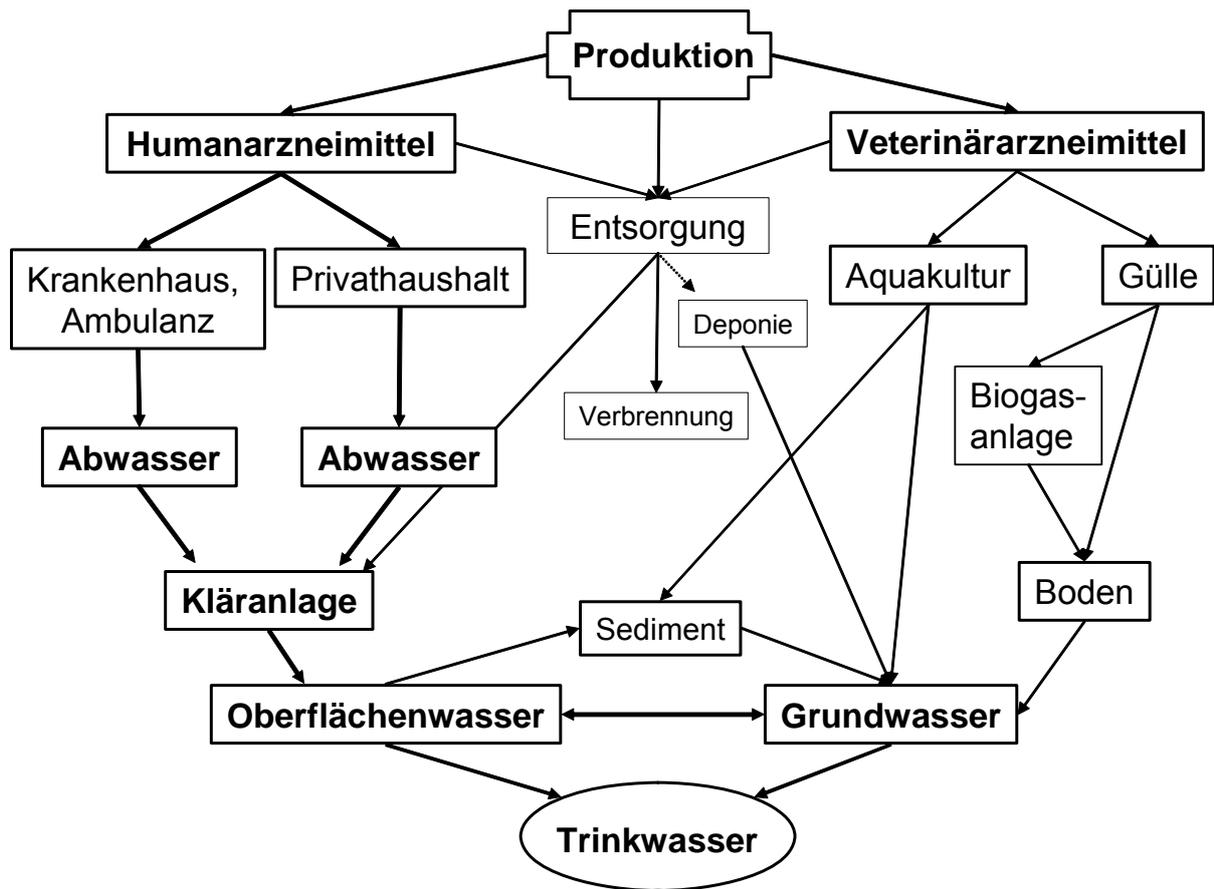


Abbildung 2-12: Eintragspfade für Arzneimittel in die aquatische Umwelt.

Die höchsten Konzentrationen finden sich in Abwässern von Kliniken ($\mu\text{g/L}$ bis mg/L -Bereich) [65, 66, 393-395]. Krankenhausabwässer als Punktquellen enthalten nicht nur die höchsten Konzentrationen verschiedener Pharmazeutika, sondern, da deren Verabreichung i. d. R. stationär erfolgt, zugleich den überwiegenden Anteil hochwirksamer und besonders toxischer Medikamente. All diese Substanzen gehören in die nach den neuen EU-Regelungen unabhängig von ihren Verbrauchsmengen zu den zu berücksichtigenden Substanzen [396, 397]. Nach Abschätzungen und ersten Untersuchungen sind insbesondere für hochwirksame Arzneimittel, wie Antibiotika und Zytostatika, in Krankenhausabwässern mit den höchsten Konzentrationen zu rechnen. Maximalwerte lagen für Ciprofloxacin bei $125 \mu\text{g/L}$ [74]. In Teilströmen können diese Konzentrationen punktuell sogar wesentlich höher sein, so dass in Toilettenabwässern mit Konzentrationen von bis zu 1 mg/L für Antibiotika und $0,01$ bis $0,1 \text{ mg/L}$ für Zytostatika zu rechnen ist [63, 66, 79, 394, 398-400].

Das Gesamtabwasser von Krankenhäusern ist zwar in seiner Zusammensetzung in vieler Hinsicht mit kommunalem Abwasser vergleichbar, wird aber aufgrund seiner Belastung mit Medikamenten, Diagnostika, Desinfektionsmitteln und Laborchemikalien zunehmend als problematisches Abwasser angesehen [81, 401-403]. Aus verschiedenen Untersuchungen ist bekannt, dass Klinikabwasser häufig mutagene und bakterientoxische Eigenschaften aufweist [73, 398]. Als Ursache wurden verschiedene Arzneimittel, insbesondere die in der Chemotherapie eingesetzten Zytostatika sowie bestimmte Antibiotika, wie z. B. Fluorchinolone, identifiziert [74, 230, 393].

Für die ökotoxikologische Relevanz einer pharmazeutischen Substanz sind neben den von Verbrauchsmengen, Ausscheidungsraten, Stabilität und Persistenz abhängigen Umweltkonzentrationen insbesondere die durch diese Belastungen zu erwartenden Wirkungen auf exponierte Organismen bzw. den Menschen ausschlaggebend. Diskutiert werden vor allem genotoxische bzw. mutagene Effekte (Zytostatika, Virustatika, Immunsuppressiva, bestimmte Antibiotika usw.), endokrine Wirkungen (Hormone, bestimmte Zytostatika u. a.) sowie die Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen. Besondere Aufmerksamkeit hat der in Indien durch das Analgetikum Diclofenac verursachte Populationsrückgang von über 95 % der drei Geierarten *Gyps bengalensis*, *G. indicus* und *G. tenuirostris* erlangt [404-406]. Rückstände des bei Nutztieren eingesetzten Arzneimittels wurden in Kadavern der Geier gefunden. Die Tiere starben an Nierenversagen und Gicht durch im ganzen Körper abgelagerte Harnsäure. Neben Verweiblichungen von Fischpopulationen durch endokrin wirksame Substanzen [407-409] zählen diese Beobachtungen zu den bislang schwerwiegendsten ökotoxikologischen Auswirkungen von Arzneimittelrückständen in der Umwelt [410].

Wie diese Beispiele zeigen, können ökotoxikologische Effekte im Gegensatz zu den therapeutisch beabsichtigten Wirkungen von Pharmazeutika bereits durch sehr niedrige Konzentrationen ausgelöst werden. Insbesondere wenn eine lang anhaltende Exposition gegeben ist, kann dies zu einem Selektionsdruck und somit dem verstärktem Vorkommen antibiotikaresistenter Mikroorganismen im Bereich von Kläranlagen führen [411-415].

Bereits im Bericht der Weltgesundheitsbehörde (WHO) von 1998 wird das zunehmende Auftreten resistenter Bakterienstämme und ihre rasche Verbreitung in der Weltbevölkerung als eines der größten gesundheitlichen Probleme des

21. Jahrhunderts bezeichnet [416, 417]. Kari et al. beschreiben die häufiger auftretende Antibiotikaresistenz bei tier- und humanpathogenen Keimen [413]. Es ist allerdings noch nicht abschließend geklärt, ob der Grund hierfür neben dem häufigeren Antibiotikaeinsatz auch die Konzentrationen in der Umwelt sind [418-420].

Auf Grund dieser Ergebnisse wurden in Deutschland auf Länder- und Bundes-, aber auch auf EU-Ebene verschiedene Monitoring- und Minimierungskonzepte für Pharmazeutika analog zu vergleichbaren Industriechemikalien oder Pflanzenschutzmitteln verfolgt [82, 83, 85, 383, 396, 421-423]. Bereits heute sehen die Regelungen des deutschen und europäischen Arzneimittelrechts eine Prüfung der ökotoxikologischen Eigenschaften bei der Neuzulassung von Human- und Veterinärarzneimitteln vor. Im Gegensatz zu Veterinärarzneimitteln müssen für Humanarzneimittel zwar Umweltrisiken genannt werden, eine Risiko-Nutzen-Abwägung, die zur Verweigerung der Zulassung führen könnte, ist allerdings explizit ausgeschlossen. Das Verfahren sieht für jede Substanz die Abschätzung der zu erwartenden Umweltkonzentrationen PEC (predicted environmental concentration) und die Bestimmung der ökotoxikologisch unbedenklichen Konzentration PNEC (predicted no effect concentration) vor. Liegt das Verhältnis PEC/PNEC über dem derzeitigen Triggerwert von 0,01, so sind gestufte Maßnahmen zur genaueren Untersuchung und Bewertung des Umweltrisikos und ggf. zur Verringerung des Eintrags gefordert. Ab einem PEC/PNEC-Verhältnis > 1 wird ein Risiko für die Umwelt angesehen. Anstelle der erwarteten Umweltkonzentrationen (PEC) wurden im Rahmen der BLAC-Untersuchungen 2003 (Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Chemikaliensicherheit) für eine exemplarische Umweltbewertung die gemessenen Umweltkonzentrationen MEC (measured environmental concentration) in die Betrachtung mit einbezogen. Von den ausgewerteten neun Arzneimitteln lagen Ciprofloxacin und Ethinylestradiol über dem Wert von 1, Carbamazepin im Bereich von 0,1 bis 1 und Clofibrinsäure, Diclofenac, Ibuprofen sowie Propanolol im Bereich von 0,001 bis 0,01. Für das Zytostatikum Ifosfamid wurde ein Wert von 0,001 und für das sehr häufig eingesetzte, toxikologisch allerdings kaum relevante Röntgenkontrastmittel Iopromid ein Wert zwischen 0,00001 und 0,0001 bestimmt [383]. Diese Ergebnisse zeigen, dass trotz der hohen Unsicherheitsfaktoren für einige Pharmazeutika ein direkter Handlungsbedarf besteht. Des Weiteren ist aufgrund der so genannten „However-Klausel“ dieses Vorgehen für mutagene,

endokrin wirkende sowie resistenzerzeugende Pharmazeutika grundsätzlich erforderlich, unabhängig von den im Wesentlichen aus den Verbrauchsmengen berechneten PEC- und den daraus folgenden PEC(MEC)/PNEC-Werten.

Vor diesem Hintergrund wird in der öffentlichen Diskussion großes Interesse an der Verringerung des Arzneimitteleintrags in die Umwelt geäußert und das Fehlen geeigneter Technologien beklagt. Auch die stark steigende Zahl nationaler und internationaler Forschungsprojekte und Tagungen, die sich mit dieser Problematik befassen, macht den Forschungsbedarf und die Notwendigkeit zur Entwicklung angemessener Verfahren deutlich.

2.4.2 Minimierungskonzepte

In der Humanmedizin und hier insbesondere in der Therapie lebensbedrohlicher Erkrankungen ist im Gegensatz zum industriellen, landwirtschaftlichen, aber auch veterinärmedizinischen Einsatz umweltbelastender Chemikalien eine Vermeidung bzw. ein Ersatz der Substanzen aus Risiken/Nutzen-Erwägungen in der Regel nicht zu vertreten. Daher bleibt im Wesentlichen nur die Möglichkeit der nachgeschalteten Reduktion der Pharmazeutikabelastungen durch Behandlung der belasteten Abwässer. Je nach Eintragspfad gibt es hierfür verschiedene Ansatzpunkte. Grundsätzlich gilt: Je früher die Elimination erfolgt, desto kürzer ist die Einwirkzeit zwischen den Substanzen und dem Ökosystem, wodurch eventuelle schädliche Einflüsse minimiert werden. Bei der nachgelagerten Trinkwasseraufbereitung kann zwar der Mensch vor Arzneimitteln sowie weiteren toxischen Chemikalien geschützt werden, die Exposition der Umwelt bleibt dagegen unverändert. Außerdem lassen sich relativ kleine, hochkonzentrierte Volumina in der Regel effektiver und kostengünstiger behandeln. Durch Verdünnung, Adsorption sowie chemischen und biologischen Abbau nehmen die Arzneimittelkonzentrationen auf dem Weg über Zu- und Abläufe von Kläranlagen, Oberflächen-, Grund- und Trinkwässern entsprechend ab. Allerdings wäre zur Erfassung aller Arzneimittel am Freisetzungsort die dezentrale Behandlung sehr verschiedener Matrices in Kliniken, dem häuslichen Bereich sowie in der Landwirtschaft erforderlich.

Die europäische Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) hat eine nachhaltige und ökologische Gewässerbewirtschaftung zum Ziel [424]. Dabei besteht ein wichtiger Teil der Umsetzung in der Vermeidung von Punktquelleneinträgen und in der Verbindlichkeit von Grenzwerten sowohl für Emissionen aus Kläranlagen, als auch für Immissionen in die Gewässer. Kläranlagenabläufe stellen einen Punktquelleneintrag für Oberflächengewässer dar, so dass hier ein besonderes Augenmerk auf die Inhaltsstoffe zu legen ist. Viele Stoffe, sowohl Vertreter aus der Liste der 33 prioritären Stoffe laut Anhang X der WRRL, als auch noch nicht abschließend bewertete Substanzen, können im Ablauf von Kläranlagen nachgewiesen werden. Substanzen, bei denen ein PEC/PNEC Verhältnis von 1 auftritt, oder bei denen sogar Effekte in Größenordnungen auftreten, wie sie in Oberflächengewässern nachweisbar sind, lösen Handlungsbedarf aus. Die Vielfalt der Substanzen, die hier eine Rolle spielen ist allerdings so hoch, dass bisher kein einheitliches Verfahren vorgeschlagen werden konnte, welches alle Substanzen abbauen kann. Untersuchungen zu biologisch-mechanischen Kläranlagen zeigen, dass neben Industriechemikalien insbesondere Arzneimittel und Personal Care Produkte (Substanzen aus Haushaltsprodukten) im Ablauf nachweisbar sind [67, 379, 383, 425-427].

Beim Vergleich von Kläranlagen mit unterschiedlichen Verfahrenstechniken sind Unterschiede beim Rückhalt der Mikroverunreinigungen zu beobachten. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei den EU-Forschungsvorhaben POSEIDON und P-THREE erzielt. Bisher unklar sind die Ursachen dieser Unterschiede. Ein Einflussfaktor scheint das Schlammalter zu sein. Eine effektive Eliminierung dieser Schadstoffe kann nach jetzigem Erkenntnisstand nur mit aufwändigen, noch zu erprobenden und optimierenden Zusatzverfahren aus dem Bereich der Nanofiltration, Sorptions- oder photochemischen Verfahren erreicht werden [428-435].

Nachfolgend werden verschiedene Konzepte zur Minderung von Arzneimittel-einträgen in die Umwelt vorgestellt und verglichen.

Die Sammlung der Patientenausscheidungen und deren anschließende Entsorgung durch Hochtemperaturverbrennung wurde zwar diskutiert, erfordert jedoch einen hohen logistischen Aufwand und verursacht entsprechende Kosten bei der Sammlung, Lagerung, dem Transport bis zur Behandlung. Trotz dieser Nachteile

konnte in einer Studie des Kompetenzzentrums Wasser Berlin (KWB) gezeigt werden, dass bei Patienten und Mitarbeitern die Akzeptanz für ein solches Konzept vorhanden ist [436]. Mit dem Hauptziel der Nährstoffrückgewinnung aus Urin wurden verschiedene Separationstoiletten entwickelt [437-439].

Hierbei werden Faeces und Urin getrennt und die flüssige Phase, die den Großteil der Wirksubstanzen enthält, kann einer gesonderten Aufarbeitung zugeführt werden. Derzeit ist die Nutzungsdauer derartiger Toiletten noch relativ begrenzt. Zudem ist z. B. bei Erbrechen oder Durchfällen die Trennung von Fest- und Flüssigphase nicht mehr gewährleistet. Neben den höheren Kosten für Installation, Reinigung und Wartung der Trenntoiletten sind auch hier die o. g. Probleme des Transports und der weiteren Behandlung der belasteten Flüssigkeiten zu lösen. Ein weiterer negativer Punkt ist die geringe Akzeptanz bei den Anwendern [440].

In dieser Arbeit wird ein Konzept zur Sammlung und direkten Behandlung der Toilettenabläufe entwickelt. Dies hat den Vorteil, dass eine effektive Behandlung von relativ kleinen Volumenströmen mit hohen Substanzkonzentrationen möglich ist, ohne dass dadurch der Klinikbetrieb gestört wird. Logistische Probleme treten bei diesem Ansatz nicht auf. Einzig die technische Infrastruktur (separate Toilettenablaufleitungen und ein kleiner Nebenraum) muss von den Kliniken bereitgestellt werden. Bei Neubauten ist dieses in der Regel leicht zu berücksichtigen, bei Altbauten wären zumeist Umbaumaßnahmen zum Anschluss derartiger Anlagen notwendig. Neue Untersuchungen an einem Klinikum in Österreich haben gezeigt, dass dieser Ansatz sowohl technisch als auch logistisch sehr gut durchführbar ist [399].

Weitere Lösungsansätze befassen sich mit der Behandlung sehr großer Volumenströme. Dies gilt z. B. für die Behandlung des gesamten Krankenhausabwassers. Hier müssen neben den mit Pharmazeutika belasteten Toilettenabwässern auch Spül- sowie ggf. Küchen- und Wäschereiabwässer behandelt werden, was wesentlich höhere Investitions- und Betriebskosten zur Folge hat. Im Rahmen der EU-Forschungsvorhaben POSEIDON, REMPHARMAWATER und P-THREE wurden u. a. Technologien zur Entfernung von Arzneistoffen in Kläranlagen und Wasserwerken entwickelt [422, 423, 441].

Insbesondere die Untersuchungen in P-THREE zeigten, dass Membranbioreaktoren (MBR) eine gute alternative zur klassischen Belebtschlamm-Klärung darstellen, da je nach Schlammalter und Membran der biologische Abbau für viele Substanzen verbessert werden kann. Problemstoffe, wie z. B. biologisch nicht abbaubare Pharmazeutika, können allerdings mit der MBR-Technik ebenfalls nicht abgebaut werden. Hier sind erweiterte Oxidationsverfahren notwendig. Bei der Behandlung des Kläranlagenablaufs und des Trinkwassers durch z. B. Ozonisierung liegen die Pharmazeutika bereits stark verdünnt vor, und das zu behandelnde Volumen ist beträchtlich, wodurch die auf die Menge der enthaltenen Pharmazeutika bezogenen Kosten relativ hoch sind.

3 Problemstellung

Ziel dieser Arbeit sind die Entwicklung und Anwendung neuer Multi-Analyseverfahren zur Bestimmung von arbeitsschutz- und umweltschutzrelevanten Antibiotika und Zytostatika in Apotheken und Krankenhäusern.

Die Substanzauswahl soll anhand der Verbrauchsmengen sowie den in den untersuchten Bereichen tatsächlich eingesetzten Substanzen getroffen werden. Da insbesondere für Zytostatika nur unzureichende Daten vorliegen, soll durch eine Befragung repräsentativer Apotheken der Gesamtverbrauch in Deutschland ermittelt werden. Neben der Identifizierung der wichtigsten Wirkstoffe können mit Hilfe dieser Erhebung auch Abschätzungen zum Eintrag von Zytostatika in die aquatische Umwelt durchgeführt werden.

Mit den in dieser Arbeit entwickelten Analysemethoden sollen neue Monitoringuntersuchungen im Arbeitsschutzbereich durchgeführt werden. Insbesondere zur Bestimmung der beruflichen Exposition im Gesundheitswesen gegenüber Antibiotika bestehen bislang noch keine Methoden und daher sind auch noch keine Daten zur tatsächlichen Belastung der Arbeitsumgebung sowie der Mitarbeiter bekannt. Im Rahmen einer erstmalig durchgeführten Studie sollen die entwickelten Analyseverfahren zur Untersuchung von Arbeitsflächen, (Berufs-)Kleidung und Urinproben im Stationsbereich angewendet und die Belastungssituation zwischen einer Normal- und Intensivstation verglichen werden.

Bisher stehen zur Bestimmung von Zytostatika fast ausschließlich Einzelmethode zur Verfügung. Da die Probenahmeverfahren ebenfalls substanzspezifisch sind, ist bislang kein Vergleich der Belastungssituation für verschiedene Wirkstoffe auf einer Oberfläche möglich. Aus diesem Grund sollen zur Anwendung beim Umgebungsmonitoring LC-MS/MS-Multimethoden entwickelt werden. In Hinblick auf die Bildung eines Referenz- oder Hintergrundwertes sollen mit den entwickelten Multimethoden Untersuchungen in Zytostatika zubereitenden Apotheken durchgeführt werden.

Zum Abschluss dieser Arbeit soll am Beispiel von Toilettenabwässern untersucht werden, ob neben der Verbesserung der Abbauleistung von Kläranlagen auch die frühzeitige Eliminierung von besonders problematischen Arzneimitteln Krankenhausabwasser-Teilströmen einen Beitrag zur Reduzierung von Umwelteinträgen leisten kann. Hierzu wird im Labormaßstab ein erweitertes Oxidationsverfahren (AOP – advanced oxidation process) zur Behandlung von hoch belasteten Abwasserteilströmen entwickelt und im halbtechnischen Maßstab evaluiert. Die substanzspezifische Verfahrensanalytik zur Kontrolle und Optimierung des AOP-Verfahrens soll nach Matrixadaptierung mit den im ersten Teil dieser Arbeit entwickelten LC-MS/MS-Methoden erfolgen.

4 Materialien und Methoden

4.1 Chemikalien und Lösungsmittel

5-Fluorouracil C ₄ H ₃ FN ₂ O ₂	Gehalt mind. 99% (Fluka Biochemika, Seelze, Deutschland)
Acetonitril CH ₃ CN	HPLC Gradient Grade, Gehalt mind. 99,8 %, filtriert durch 0,2 µm Filter; (LGC Promochem, Wesel, Deutschland)
Ameisensäure CHOOH	Gehalt mind. 98 %; (Riedel-de Haën [®] , Seelze, Deutschland)
Ammoniumacetat CH ₃ COONH ₄	Gehalt ≥ 99 % (T); (Fluka Biochemika, Seelze, Deutschland)
Amoxicillin C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S	Gehalt mind. 94 % ¹ ; (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Ampicillin (Trihydrat) C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₄ S · 3 H ₂ O	Gehalt mind. 97 % ¹ ; (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Cefazolin (Natriumsalz) C ₁₄ H ₁₃ N ₈ NaO ₄ S ₃	Gehalt mind. 98 % ¹ ; (ICN Biomedicals GmbH, Eschwege, Deutschland)
Cefuroxim (Natriumsalz) C ₁₆ H ₁₅ N ₄ NaO ₈ S	Gehalt mind. 98 % ¹ ; (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Chlorambucil C ₁₄ H ₁₉ Cl ₂ NO ₂	Gehalt mind. 98 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Chloramphenicol C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₂	Gehalt mind. 98 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Ciprofloxacin C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	Gehalt mind. 98 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Cyclophosphamid (Monohydrat) C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P · H ₂ O	Gehalt mind. 98% (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Cytarabin C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₅	Gehalt mind. 99 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Docetaxel C ₄₃ H ₅₃ NO ₁₄	Gehalt mind. 97 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Essigsäure CH ₃ COOH	ROTIPURAN [®] 100 %, p. a.; (Roth, Karlsruhe, Deutschland)
Essigsäureethylester C ₄ H ₈ O ₂	Picograde [®] , Gehalt mind. 99,0 %., Wasser max. 0,05%; (LGC Promochem, Wesel, Deutschland)

¹ Der Gehalt wurde mittels HPLC bei 254 nm bestimmt.

Etoposid C ₂₉ H ₃₂ O ₁₃	Gehalt mind. 98 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Gemcitabin C ₉ H ₁₁ F ₂ N ₃ O ₄	Gehalt 99,7 % (USP Promochem, Deutschland)
Ifosfamid C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P	Gehalt mind. 98 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Katalase	Kappazym AP (Kapp-Chemie GmbH, Miehlen, Deutschland)
Methanol CH ₃ OH	für Rückstandsanalyse, Gehalt mind. 99,0 %, Wasser max. 0,1 %; (LGC Promochem, Wesel, Deutschland)
Methotrexat C ₂₀ H ₂₂ N ₈ O ₅	Gehalt mind. 99 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
n-Hexan C ₆ H ₁₄	Picograde [®] , Gehalt mind. 99,0 %, Wasser max. 0,05 %, (LGC Promochem, Wesel, Deutschland)
Ofloxacin , C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	Gehalt mind. 99 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Paclitaxel C ₄₇ H ₅₁ NO ₁₄	Gehalt mind. 97 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Penicillin G (Kaliumsalz) C ₁₆ H ₁₇ N ₂ O ₅ SK	Gehalt mind. 98 %; (Fluka Biochemika, Seelze, Deutschland)
Penicillin V (Kaliumsalz) C ₁₆ H ₁₇ N ₂ O ₅ SK	Vetranal [®] , Gehalt 95,7 %; (Riedel-de Haën [®] , Seelze, Deutschland)
Salzsäure HCl	min. 37 % für Analyse; (Riedel-de Haën [®] , Seelze, Deutschland)
Schwefelsäure H ₂ SO ₄	ROTIPURAN [®] ≥ 95 %, p. a.; (Roth, Karlsruhe, Deutschland)
Stickstoff N ₂	5.0; (Air Liquide, Düsseldorf, Deutschland)
Sulfamethoxazol C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	Gehalt mind. 98 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Trimethoprim C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	Gehalt mind. 98 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
Vancomycin (Hydrochlorid) C ₆₆ H ₇₅ Cl ₂ N ₉ O ₂₄ · HCl	Gehalt mind. 90 % (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland)
VE-Wasser H ₂ O	Voll entsalztes Wasser, hergestellt mit zwei hintereinander geschalteten Entsalzungsanlagen: 1.) Elix [®] 10, 2.) Milli Q-Plus (Millipore, Schwalbach, Deutschland)
Wasser H ₂ O	HPLC-Gradient; (Mallinckrodt Baker, Deventer, Niederlande)

4.2 Geräte und sonstige Materialien

4.2.1 Kleingeräte und Verbrauchsmaterialien

Horizontalschüttler:	HS 501 D (Janke & Kukul, IKA [®] -Labortechnik GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland)
Probenaufbereitungssystem:	TCS; Typ: vapo therm basis mobil 1 (Barkey GmbH & Co. KG, Leopoldshöhe, Deutschland)
Rotationsverdampfer:	Rotavapor RE 11 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Schweiz)
Ultraschallbad:	BRANSON 3200 und Bandelin electronic RK 1028 H (Bandelin electronic, Berlin, Deutschland)
Vollpipetten	5 mL, 10 mL und 25 mL Din B, Ex 20 °C (Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG, Eberstadt, Deutschland)
Messpipetten	10 µL, 20 µL, 100 µL und 1000 µL Research [®] fix; 10 - 100 µL, 25 - 250 µL, 100 - 1000 µL und 500 – 5000 µL Research [®] variable Pipetten (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
Waagen:	AG 200 Delta Range [®] (Max 61 g/210 g, d = 0,1 mg/1 mg) (Mettler Toledo GmbH Labor- und Analysetechnik, Gießen, Deutschland) PJ 3600 Delta Range [®] (Max. 3100 g, Min. 5 g, d = 0,01 g/0,1 g, e = 0,1 g) (Mettler Toledo GmbH Labor- und Analysetechnik, Gießen, Deutschland) Satorius BP 301 S (Max. 303 g, d = 0,1 mg) (Satorius, Göttingen, Deutschland) Mettler Toledo XS 105 Dual Range [®] (Max. 41 g/ 120 g, d = 0,01 mg/ 0,1 mg) (Mettler Toledo GmbH Labor- und Analysetechnik, Gießen, Deutschland)
Zentrifugen:	GS-15R Centrifuge mit S 4180C Rotor (BeckmannCoulter TM , Krefeld, Deutschland) CR 422 Tischzentrifuge (Jouan GmbH, Fernwald, Deutschland)
SPE-Vakuumeinheit	SPE-12 G Vakuumeinheit mit PTFE-Hähnen (Mallinckrodt Baker, Deventer, Niederlande)
pH-Meter:	pH-Meter CG840 B (Schott, Mainz, Deutschland)

Thermometer	Thermotimer - PT 100 und Stoppuhr (<i>Raczek Analysentechnik GmbH, Garbsen, Deutschland</i>)
Magnetrührer	IKA MAG [®] REC –G (<i>Janke & Kukul, IKA[®]-Labortechnik GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland</i>)
Spritzenpumpe	Pumpe 11 (<i>Harvard Apparatus, Halliston, MA, USA</i>)
Materialien zur Wischprobenahme	20x21 cm Kimtech Science Lite 100 Wischtücher 11x21 cm Kimtech Science Präzisionswischtücher (<i>Kimberly-Clark, Koblenz, Deutschland</i>) Schleicher & Schuell 598/3 Filterpapier (<i>Whatmann GmbH, Dassel, Deutschland</i>) Machery-Nagel 616md und 616de Filterpapiere (<i>Macherey-Nagel, Düren, Deutschland</i>)
Extraktionsgefäße	50 mL PE-Röhrchen, 27 mm ID (<i>Greiner bio-one, Solingen, Germany</i>) Uritop S: 100 mL Urinbecher, 45 bis 58 mm ID (<i>B. Braun Petzold GmbH, Melsungen, Deutschland</i>)
Spritzen-Filter	Celluloseacetat; Weissrand Filter (FP 30/0,45 µm) (<i>Schleicher & Schuell Micro Science GmbH, Dassel, Deutschland</i>) Regenerated Cellulose-Filter (PP Ø 13 mm, 0,45 µm) (<i>Chromatographie Zubehör Trott, Kriftel, Deutschland</i>) Chromafil RC -45-25 und RC -45-15 regenerierte Cellulose-Filter (<i>Macherey-Nagel, Düren, Deutschland</i>)
Teststäbchen	QUANTOFIX [®] Peroxid 25, 100 und 1000 (<i>Macherey-Nagel, Düren, Deutschland</i>)
SPE-Kartschen	1000 mg C18-Kartusche, 6 mL Volumenreservoir (<i>Mallinckrodt Baker, Deventer, Niederlande</i>) 200 ng Strata X, 6 mL Volumenreservoir (<i>Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland</i>)
HPLC-Säulen	250x3 mm Nucleosil 100-5 C18 HD 125 x 3 mm Nucleodur 100-5 C 18 ec, 125 x 2 mm Nucleodur 100-5 C 18 ec, 125 x 2 mm Nucleodur 100-3 C 18 ec, (<i>Macherey-Nagel, Düren, Deutschland</i>) 50 x 3 mm Shim-Pack XR-ODS, 2,2 µm (<i>Shimadzu, Duisburg, Deutschland</i>)

4.2.2 AOP-Versuchsanlagen

Laboranlage	<p>Selbstbau, s. Anhang, Abbildung 6-2</p> <p>Glasgeräte (<i>Glas-Fischer, Duisburg, Deutschland und Schlee GmbH, Witten, Deutschland</i>)</p> <p>Reglo-Digital 2/6 Schlauchpumpe (<i>ISMATEC, Wertheim-Mondfeld, Deutschland</i>)</p> <p>Multifix constant, MC 1000 FEC Umwälzpumpe (<i>Alfred Schwinherr KG, Schwäbisch Gmünd, Deutschland</i>)</p> <p>UV-Reaktionssystem 2 und 3 (<i>Heracus Noblelight GmbH, Hanau, Deutschland</i>)</p>
Halbtechnische AOP-Anlage	Eigenbau der Fa. UMEX, s. Anhang, Abbildung 6-3 (<i>UMEX GmbH, Kirchheim b. Arnstadt, Deutschland</i>)
Ozongenerator 1	COM-CD-HF 2, $c = 115 \text{ g O}_3/\text{m}^3$ und Gasvolumenstrom: $0,04 \text{ Nm}^3/\text{h}$ (<i>Anseros GmbH, Tübingen, Deutschland</i>)
Ozonanlage 2	Laborversuchsstand zur Ozonisierung, Blasensäule mit einem Wasservolumen bis 8 L, $c = 70 \text{ g O}_3/\text{m}^3$, Gasvolumenstrom: $0,03 \text{ m}^3/\text{h}$, Feed- und Off-Gas- Messung von O_3 zur Bestimmung des Ozonverbrauchs (<i>Wedeco GmbH, Herford, Deutschland</i>)

Eine schematische Darstellung der Laborversuchsanlage sowie Abbildungen der Versuchsanlagen sind im Anhang (Kapitel 6.2.1) aufgeführt. In Tabelle 4-1 sind die Spezifikationen der UV-Strahler und Reaktorgeometrien zusammengefasst.

Tabelle 4-1: Spezifikationen der eingesetzten UV-Apparaturen.

	Hg-Niederdruck-Strahler		Hg-Mitteldruck-Strahler	
	Laboranlage	halbtechnische Anlage	Laboranlage	halbtechnische Anlage
Bezeichnung	Heraeus TNN 15/32	UMEX ABOX [®] 60-600lg	Heraeus TQ 150	UMEX ABOX [®] MS 2
Geometrie	d = 90 mm H = 200 mm	d = 33 mm H = 430 mm	d = 90 mm H = 200 mm	d = 56 mm H = 430 mm
Volumen	ca. 950 mL	ca. 200 mL	ca. 800 mL	ca. 375 mL
Umwälzleistung	11 L/h*	80 L/h	11 L/h*	120 L/h
Leuchtlänge	170 mm	350 mm	41 mm	160 mm
Schichtdicke	25 mm	5,5 mm	20 mm	5,5 mm
Leistung	15 W	25 W	150 W	800 W
Strahlungsfluss	3 W (254 nm)	8 W (254 nm)	6,2 W UV-C 3,6 W UV-B 4,5 W UV-A	160 W UV-C (48 W UVC photochem.)

* zusätzliche Durchmischung mit einem Rührkern (ca. 700 U/min)

4.2.3 Analysensystem 1: HPLC-UV-MS

Autosampler: HTS PAL

(*CTC Analytics AG, Zwingen, Schweiz*)

Pumpe: Rheos 2000

(*Flux Instruments, Basel, Schweiz*)

Degasser: ERC-3415 α

(*ERC GmbH, Riemerling, Deutschland*)

DAD: Spectra System UV 6000 LR

(*Finnigan MAT, Bremen, Deutschland*)

MS: AutoMass

(*ThermoQuest, Dreieich, Deutschland*)

Die Software Xcalibur Version 1.2 (*Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Deutschland*) diente zur Steuerung des Systems und Auswertung der Daten.

4.2.4 Analysensystem 2: LC-MS/MS

Autosampler: HTS PAL mit Cool Stack

(CTC Analytics AG, Zwingen, Schweiz)

Pumpe: 1100 Series mit Degasser

(Agilent Technologies GmbH, Waldbronn, Deutschland)

Säulenofen: Jetstream Plus

(VDS optilab, Berlin, Deutschland)

MistraSwitch

(MayLab Analytical Instruments, Wien, Österreich)

MS: API 3000

(Applied Biosystems / MDS Sciex, Darmstadt, Deutschland)

Die Software AnalystTM in den Versionen 1.2 bis 1.4.2 (*Applied Biosystems / MDS Sciex, Darmstadt, Deutschland*) dienen zur Steuerung und Auswertung der Daten.

4.2.5 Externe Analytik

Die Bestimmung weiterer Parameter erfolgte in Fremdvergabe mittels anerkannter DIN- oder ISO-Methoden. Im Rahmen der Entwicklung und Bewertung der AOP-Verfahren erfolgten die meisten Bestimmungen bei Fraunhofer UMSICHT. Einige TOC- und CSB-Proben (Einzelproben sowie Vergleichsproben zur Qualitätskontrolle) wurden auch durch die Messstelle des IUTA analysiert. Genotoxizitätsuntersuchungen (umu und ames-Test) wurden durch die DMT GmbH in Essen durchgeführt.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Ermittlung von Zytostatika - Verbrauchsmengen

Von den in Deutschland zur Zeit ca. 3.000 zugelassenen Pharmakawirkstoffen [87] wurden 1997 ca. 10.500 t zu etwa gleichen Teilen als Arzneimittel im Humanbereich sowie im Veterinärbereich als Therapeutikum und Leistungsförderer eingesetzt. [442, 443]. Während der Verbrauch an Veterinärarzneimitteln durch die strengerer EU Regularien eine rückläufige Tendenz zeigt [444], ist bei Humanarzneimitteln ein stetiger Anstieg zu verzeichnen. Beispielhaft sind hier die Mengenabschätzung von Huschek et al. der Jahre 1999 bis 2001, die einen Anstieg um 31 % auf ca. 37.900 t verzeichneten [445, 446], sowie die im Arzneiverordnungsreport dargestellten Steigerungen bei den Tagesdosen aufgeführt [447]. Da die Ermittlung der Verbrauchsmengen zum Einen auf Befragungen von Apotheken durch IMS Health beruhen und zum Anderen auf Grund von Verkaufsmengen verschreibungspflichtiger Arzneimittel ermittelt wurden, ist ein direkter Vergleich allerdings nur bedingt möglich. Auch wurden direkt bezogene und ohne Verordnungsrezept den Patienten verabreichte Wirkstoffe bei den bisherigen Erhebungen nicht erfasst. Dies betrifft alle in Krankenhäusern und Ambulanzen verabreichten Arzneimittel. Dementsprechend stehen insbesondere für Zytostatika keine verlässlichen Daten zur Verfügung.

Da die Kenntnis der Verbrauchsmengen die Grundlage bei der Auswahl relevanter Substanzen für die zu entwickelnden Analysemethoden ist, wurde die in Kapitel 5.2 dargestellte Substanzauswahl anhand öffentlich zugänglicher Daten und persönlicher Informationen einiger Krankenhausapotheker durchgeführt. Hierzu diente u. a. auch die in Tabelle 5-1 dargestellte Zusammenstellung von Verbrauchsmengen für die wichtigsten Antibiotika und Zytostatika.

Tabelle 5-1: Verbrauchsmengen von Antibiotika und Zytostatika in Krankenhäusern und Apotheken von 1992 bis 2002.

	19 Kliniken, 1992 [448] [kg/Jahr]	UBA / BLAC, 2001 [383, 446] [kg/Jahr]			45 Apotheken, 2002 [14, 260] [kg/Jahr]
		Klinik	Apotheke	Gesamt	
Zytostatika					
5-Fluorouracil	8,6	1232	397	1629	140,2
Cyclophosphamid	11,0	259	127	386	35,4
Ifosfamid	18,0	164	6	170	28,5
Methotrexat	3,0	49	101	150	-
Cytarabin	5,8	77,6	1,8	78,5	-
Etoposid	3,6	28,5	6,1	34,6	-
Chlorambucil	-	0,3	3,6	3,9	-
cis-Platin	1,5	9,4	0,2	9,6	-
Gemcitabin	-	160	81	241	-
Antibiotika					
Amoxicillin	-	12.574	102.810	115.384	-
Cefuroxim	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	-	16	187	202	-
Ciprofloxacin	-	5.589	12.385	17.973	-
Penicillin G	-	6.059	390	6.449	-
Ofloxacin	-	272	2.007	2.279	-
Sulfamethoxazol	-	6.539	47.061	53.600	-
Trimethoprim	-	1369	10.057	11.427	-

-: keine Angaben;

* nicht erfasst, da oral verabreicht und somit keine Zubereitung in der Zentralen Zytostatikazubereitung (ZZZ) stattfindet.

Am Beispiel der Kleinstadt Kenzingen haben Alexy und Kümmerer 42 Antibiotika und 15 Antimykotika bilanziert. Mit 12,3 kg/Jahr sind auch hier die Penicilline die mit Abstand am meisten eingesetzte Stoffgruppe. Danach folgten Sulfonamide (3,1 kg/Jahr), Makrolide (2,1 kg/Jahr), Cephalosporine (1,5 kg/Jahr), Tetracycline (0,5 kg/Jahr) und Chinolone (0,5 kg/Jahr). Von insgesamt 21,1 kg/Jahr erreichen nach den dort getroffenen Abschätzungen 13,5 kg/Jahr die Abwässer [449]. Für

Zytostatika konnte keine Bilanzierung durchgeführt werden, da Kenzingen weder über ein Krankenhaus noch über einen ambulant behandelnden Onkologen verfügt.

Da insbesondere für die Gruppe der Zytostatika nur unzureichende Verbrauchsmengen zur Verfügung stehen, wurde im Rahmen der MEWIP-Studie² eine Befragung von 130 Zytostatika zubereitenden Apotheken durchgeführt. Mit Hilfe dieser Verbrauchsdaten kann zum Einen eine Festlegung der relevantesten Substanzen erfolgen und zum Anderen kann hierüber hinaus auch eine Abschätzung zum Umwelteintrag vorgenommen werden. In Tabelle 5-2 sind die Verbrauchsmengen zunächst nach Offizin- und Krankenhausapotheke unterteilt dargestellt. Da die genaue Anzahl der Zytostatika zubereitenden Apotheken nicht bekannt ist, müssen zur Hochrechnung des Gesamtverbrauches einige Abschätzungen getroffen werden. In Deutschland gab es 2005 21.476 Apotheken und 2.139 Krankenhäuser [450, 451]. Neben der stationären Behandlung erfolgt in 184 Schwerpunktpraxen auch eine ambulante Chemotherapie [452]. Die Versorgung dieser Schwerpunktpraxen übernehmen i. d. R. Offizin-Apotheken. Bei den Krankenhäusern ist die Situation recht unterschiedlich. Hier erfolgt die Versorgung mit Chemotherapeutika durch die eigene Klinikapotheke mit Zentraler Zytostatikazubereitung (ZZZ), durch die Apotheke eines Nachbarklinikums oder durch eine Offizin-Apotheke. Der "Verband der zytostatikaherstellenden Apotheker und Apothekerinnen mit Sterillabor in öffentlichen Apotheken (VZA e.V.)" hat derzeit ca. 250 Mitglieder. Mit den Annahmen, dass etwa 80 % der Offizin-Apotheken im VZA organisiert sind und nur ein Viertel bis ein Drittel der Krankenhäuser selbst Zytostatika zubereitet, kann die Gesamtzahl der Zytostatika zubereitenden Apotheken in Deutschland auf ca. 900 geschätzt werden. Bei diesen Zahlen kann man davon ausgehen, dass die Antworten der 128 Apotheken (von zwei Apotheken wurden keine Daten erhalten) als repräsentativ anzusehen sind. Der in den letzten Jahren vermehrt vorkommende Einsatz von Zytostatika in der Veterinärmedizin sowie orale Applikationen werden bei dieser Schätzung nicht berücksichtigt. Insgesamt muss bei den in Tabelle 5-2 dargestellten Verbrauchsmengen somit mit einer Unsicherheit von etwa $\pm 20\%$ ausgegangen werden.

² MEWIP: (M)onitoring-(E)ffekt-Studie für (Wi)schproben in A(p)otheken bzw. (M)onitoring-(E)ffect Study of (Wi)pe Sampling in (P)harmacies. bgw, IUTA, IMSIE, 2005-2007.

Tabelle 5-2: Zytostatikaverbrauch in 128 Apotheken und Hochrechnung auf den Gesamtverbrauch in Deutschland für das Jahr 2005.

Substanz	Jahresverbrauch der 128 befragten Apotheken			Hochrechnung: Zytostatika- Verbrauch in Deutschland (2005) [kg/Jahr]
	Offizin- Apotheken [kg]	Krankenhaus- Apotheken [kg]	Gesamt- Verbrauch [kg]	
5-Fluorouracil	193,8	299,6	493,4	3.469
Cyclophosphamid	85,2	61,3	146,5	1.030
Gemcitabin	37,3	64,9	102,1	718
Ifosfamid	5,06	52,1	57,2	402
Methotrexat	1,13	23,6	24,8	174
Carboplatin	4,73	17,0	21,7	153
Etoposid	2,30	11,5	13,8	97
Paclitaxel	2,69	4,69	7,38	52
Oxaliplatin	2,13	3,08	5,22	37
Cis-Platin	0,88	3,08	3,96	28
Docetaxel	1,24	2,14	3,38	24

Auch wenn die Datenbasis unterschiedlich ist, so ist im Vergleich zu den Erhebungen von 2001 eine signifikante Steigerung zu erkennen. Am Beispiel von Ifosfamid wird deutlich, dass die Anwendungstendenzen nahezu gleich geblieben sind. Ifosfamid wird fast ausschließlich im Klinikbetrieb eingesetzt. Bei den anderen Substanzen ist bis auf MTX keine eindeutige Tendenz zu sehen. Da MTX neben der Anwendung bei der Chemotherapie auch zur Behandlung rheumatischer Erkrankungen sowie in der Biotechnologie eingesetzt wird, ist die tatsächliche Verbrauchsmenge in Deutschland wahrscheinlich wesentlich größer. Die neuen MTX Anwendungsfelder werden auch anhand der Daten des UBA bzw. der IMS Health GmbH & Co OHG deutlich. Von 1996 bis 2001 ist der Verbrauch an MTX in den Kliniken praktisch konstant bei knapp 50 kg geblieben, während sich der Verbrauch in Apotheken von 48 auf 101 kg etwas mehr als verdoppelte [446]. In Tabelle 5-3 werden die auf eine einzelne Apotheke bezogenen Verbrauchsmengen zwischen 1992 und 2005 verglichen.

Tabelle 5-3: Zytostatikaverbrauch in deutschen Apotheken zwischen 1992 und 2005.

	Erhobene Verbrauchsmengen pro Apotheke		
	n = 19 (1992) [448]	n = 45 (2002) [14, 27] [g/Jahr]	n = 128 (2005)
5-Fluorouracil	450	3115	3855
Cyclophosphamid	591	787	1145
Gemcitabin	-	-	798
Ifosfamid	949	633	447
Methotrexat	156	-	194
Etoposid	188	-	108
Paclitaxel	-	-	58
Docetaxel	-	-	26
Cytarabin	304	-	-
cis-Platin	76	-	31
Oxaliplatin	-	-	41
Carboplatin	-	-	169

Bei Ifosfamid, Etoposid und cis-Platin gingen die Verbrauchsmengen zurück. Der Vergleich mit Oxali- und insbesondere Carboplatin zeigt, dass sich hier scheinbar ein Wechsel zu den neueren Platinverbindungen vollzogen hat. Die deutlichen Steigerungen beim Cyclophosphamid deuten darauf hin, dass bei den meisten Indikationen doch eher der ursprünglich entwickelte Wirkstoff als das leicht modifizierte Ifosfamid appliziert wird. Einzig im ambulanten Bereich wird Ifosfamid noch häufig eingesetzt. Bei 5-FU sind deutliche Steigerungen von 1992 bis 2002 zu beobachten. Von 2002 bis 2005 ist der Verbrauch pro Apotheke nur leicht angestiegen. Insgesamt sind die hier aufgezeigten Tendenzen allerdings mit Vorsicht zu betrachten, da insbesondere die 19 Apotheken von 1992 nicht als repräsentativ angesehen werden können.

Die ermittelten Verbrauchsmengen können auch zur Abschätzung für den Eintrag von Zytostatika in die Umwelt verwendet werden. Unter Berücksichtigung der Pharmakokinetiken der unterschiedlichen Substanzen kann angenommen werden, dass etwa 30 bis 60 % der Wirkstoffe entweder unverändert oder metabolisiert über die Patientenausscheidungen in den Abwasserpfad gelangen. Eine Differenzierung

nach Krankenhäusern und Privathaushalten, wie es Feldmann und Heberer am Beispiel von Carbamazepin, Ibuprofen, Diclofenac, zwei Röntgenkontrastmitteln, sowie einigen Antibiotika in Berlin durchgeführt haben [453, 454], ist anhand der vorliegenden Daten nicht möglich. Hierfür müsste eine exakte Bilanzierung unter Berücksichtigung der Patientenliegezeiten und der Pharmakokinetik der einzelnen Wirkstoffe durchgeführt werden. Da 2/3 der Applikationen in Krankenhausapotheken zubereitet werden und auch Offizin-Apotheken einen erheblichen Anteil ihrer Zubereitungen an Krankenhäuser liefern, kann davon ausgegangen werden, dass die größten Zytostatika-Frachten in Krankenhausabwässern zu erwarten sind.

5.2 Substanzauswahl

Für die erstmalig durchzuführenden Antibiotikabestimmungen wurden anhand der Verbrauchsmengen [455] und mit Unterstützung der teilnehmenden Kliniken zunächst folgende acht häufig eingesetzte Substanzen ausgewählt:

- Amoxicillin
- Cefuroxim
- Chloramphenicol
- Ciprofloxacin
- Penicillin G
- Ofloxacin
- Sulfamethoxazol
- Trimethoprim

Neben Chloramphenicol, das ebenfalls als kanzerogener Stoff eingestuft ist, sind insbesondere die Fluorchinolone nicht nur unter Arbeitsschutz-, sondern auch unter Umweltschutzgesichtspunkten besonders interessant. Diese sind biologisch nicht abbaubar und tragen, wie in Kapitel 2.4.1 bereits ausgeführt, im Wesentlichen zur erhöhten Genotoxizität von Krankenhausabwässern bei. Die restlichen Antibiotika sind aufgrund ihrer hohen Verbrauchsmengen und vor dem Hintergrund möglicher Resistenzbildungen relevant.

Aufgrund der im ersten Teil erfolgreich durchgeführten Methodenentwicklung wurde für die Monitoringuntersuchungen entsprechend den auf den beiden Stationen häufig eingesetzten Substanzen das Untersuchungsvorhaben um folgende Antibiotika erweitert:

- Ampicillin
- Cefazolin
- Cefotaxim
- Cefotiam
- Penicillin V
- Piperacillin
- Vancomycin

Aus den ca. 60 derzeit in Deutschland eingesetzten Zytostatika wurden anhand der in Kapitel 5.1 zusammengefassten Verbrauchsmengen, des toxischen Potentials sowie der relevanten physikalisch chemischen Eigenschaften folgende Substanzen unterschiedlicher Polarität für die Methodenentwicklung ausgewählt:

- 5-Fluorouracil
- Chlorambucil
- Cyclophosphamid
- Cytarabin
- Etoposid
- Ifosfamid
- Methotrexat

5.3 Methodenentwicklung zur Bestimmung von Antibiotika im Arbeitsschutz

5.3.1 Einleitung

Zum Nachweis von strukturell unterschiedlichen Antibiotika und Zytostatika beim Umgebungs- und Biomonitoring sollen möglichst einfache Analysenverfahren entwickelt werden. Da die Adsorptionswellenlängen der meisten Antibiotika und Zytostatika im relativ unspezifischen Bereich von 200 bis 300 nm liegen, sind neben schmalen, nicht tailenden Peaks eine Basislinientrennung der Substanzen für HPLC-UV Messungen anzustreben. Bei massenselektiven Untersuchungen mittels LC-MS und LC-MS/MS ist dies aufgrund der spezifischen Ionen nicht notwendig. Bei nicht Basislinien getrennten Peaks ist allerdings darauf zu achten, dass es nicht zu Querempfindlichkeiten (sog. cross-talk) bei ähnlichen Massenübergängen oder Fragmenten kommt. In den folgenden Kapiteln sind die in dieser Arbeit entwickelten Analysenmethoden für die unterschiedlichen Anwendungsgebiete im Arbeitsschutz sowie deren Anwendung bei verschiedenen Monitoringuntersuchungen beschrieben. Neben den in dieser Arbeit angewandten Analysen in Apotheken und Krankenhäusern sind mit Hilfe der entwickelten Analysenmethoden auch Messungen in Ambulanzen, Arztpraxen sowie der pharmazeutischen Industrie möglich.

5.3.2 Bestimmung von Cefuroxim in Wischproben

Aufbauend auf den Erkenntnissen, die beim Zytostatika-Monitoring gewonnen wurden (siehe Kapitel 2.3), sollte zu Beginn dieser Arbeit für erstmalig durchgeführte Arbeitsplatzuntersuchungen in vier europäischen Kliniken eine Methode zum Nachweis des Antibiotikums Cefuroxim in Wischproben entwickelt werden. Da neben Cefuroxim eine Vielzahl weiterer Antibiotika eingesetzt werden, wurde entsprechend den Verbrauchsmengen [455] und in Abstimmung mit den beteiligten Krankenhäusern eine Methode zur simultanen Analyse von acht strukturell unterschiedlichen Antibiotika entwickelt. Mit dem in Abbildung 5-1 dargestellten Analyseverfahren können neben Cefuroxim die Wirkstoffe Cefotiam, Trimethoprim,

Ofloxacin, Ciprofloxacin, Cefazolin, Sulfamethoxazol und das durch diverse Lebensmittelskandale bekannt gewordene, im Klinikbetrieb hauptsächlich zur Therapie von schweren Infektionen und in der Pädiatrie [2, 456] eingesetzte Chloramphenicol bestimmt werden.

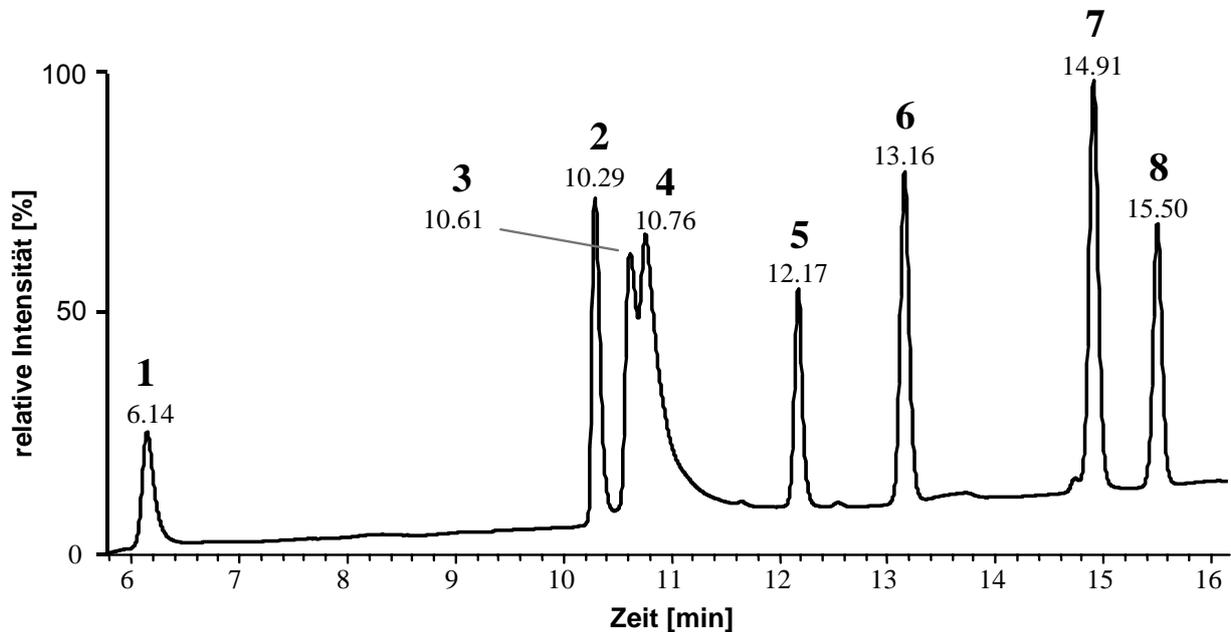


Abbildung 5-1: HPLC-DAD – Chromatogramm zur Bestimmung von 8 Antibiotika.

c = 5 mg/L Standardlösung; 250x3 mm Nucleosil 100-5 C18 HD HPLC-Säule; $\vartheta = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$; Fluss = 300 $\mu\text{L}/\text{min}$; Gradient: 0-1 min 95 % A, 15 min 50 % A; mobile Phase A: 0,1 % Ameisensäure in VE-Wasser, mobile Phase B: Acetonitril. 1 Cefotiam, 2 Trimethoprim, 3 Ofloxacin, 4 Ciprofloxacin, 5 Cefazolin, 6 Cefuroxim, 7 Sulfamethoxazol, 8 Chloramphenicol.

Zur simultanen Analyse der beiden Fluorchinolone Ofloxacin und Ciprofloxacin mittels UV-Detektion müsste die entwickelte Analyseverfahren aufgrund der zu geringen Auflösung weiter optimiert werden. Zur Quantifizierung von Cefuroxim und dem Screening auf die sieben anderen Antibiotika ist die chromatographische Trennung ausreichend. Da mit dieser Methode nur in vier Wischproben Cefuroxim und keine der anderen Substanzen nachgewiesen werden konnte, wurde zur Absicherung der Ergebnisse und Verbesserung der Nachweisempfindlichkeit eine LC-MS Methode entwickelt. Mittels ESI-LC-MS kann das $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ -Ion von Cefuroxim bei $m/z = 423$ detektiert werden. Im Vergleich zur HPLC-UV-Detektion bei $\lambda = 278$ nm konnte die Nachweisgrenze allerdings lediglich um den Faktor 2 auf 25 ng/mL verbessert werden.

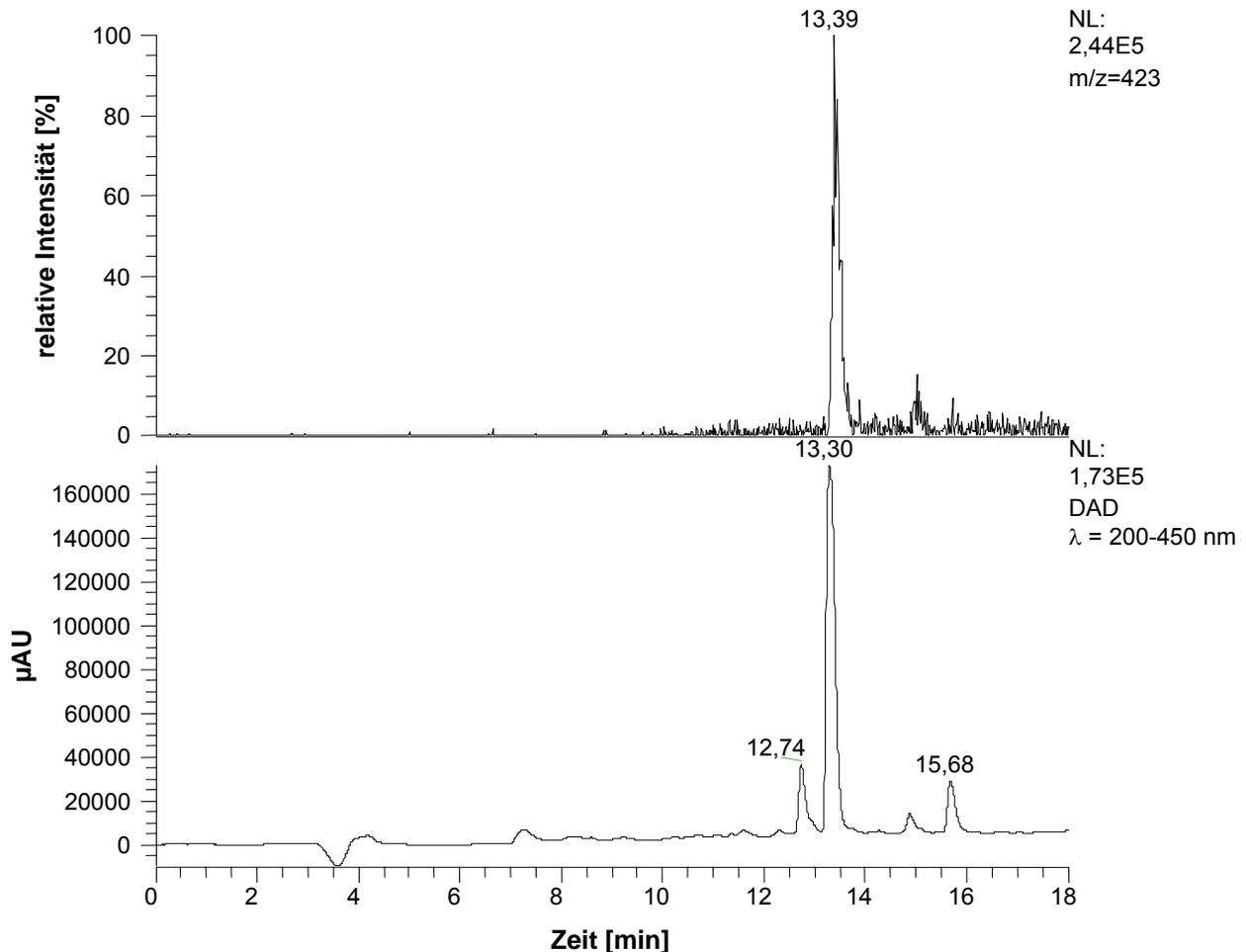


Abbildung 5-2: LC-MS und DAD – Chromatogramm einer positiven Wischprobe.

Probe 2, $c = 20,7 \text{ ng/mL}$, HPLC-Säule: $250 \times 3 \text{ mm}$ Nucleosil 100-5 C18 HD; $\vartheta = 30 \text{ }^\circ\text{C}$, Fluss = $300 \text{ }\mu\text{L/min}$; Gradient: 0-1 min 95 % A, 15 min 50 % A; mobile Phase A: 0,1 % Ameisensäure in VE-Wasser, mobile Phase B: Acetonitril.

In Abbildung 5-3 sind die Ergebnisse aus den Untersuchungen von 35 Wischproben aus 4 Krankenhäusern mittels LC-MS zusammengefasst. Alle Proben stammen aus Bereichen, in denen Cefuroxim - Infusionslösungen aus der Trockensubstanz zubereitet wurden. Darüber hinaus standen zu den Probenahmeorten und den gewischten Probenahmeflächen keine weiteren Informationen zur Verfügung. Aus diesem Grund ist die Bewertung der Analyseergebnisse nur qualitativ möglich. In 66 % der Proben war Cefuroxim mittels HPLC-UV-MS oberhalb der Bestimmungsgrenze von 100 ng/mL quantifizierbar.

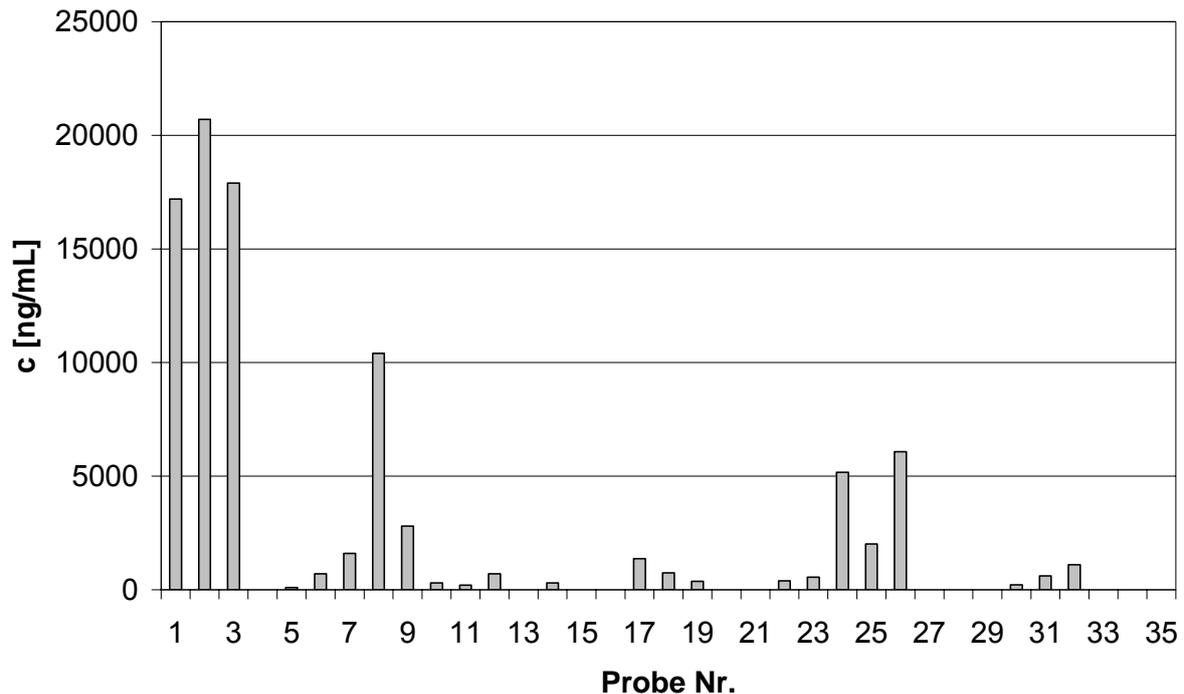


Abbildung 5-3: Analysenergebnisse des Cefuroxim Umgebungsmonitorings.

Die eingefrorenen Rückstellproben wurden ca. 10 Monate später mittels der in Kapitel 5.3.3.3 beschriebenen LC-MS/MS – Methode nachgemessen. Der Vergleich der Analysenergebnisse zeigt allerdings, dass eine quantitative Auswertung der Proben aufgrund von Stabilitätsproblemen nicht mehr möglich ist. Tendenziell konnten die Analyseergebnisse jedoch quantitativ bestätigt werden. In acht der zwölf mittels LC-MS als negativ bestimmten Proben konnte Cefuroxim nachgewiesen werden. Insgesamt lassen sich die Flächenbelastungen in vier Kategorien einteilen:

- hoch belastet (> 5000 ng/mL, 17 % der Proben),
- belastet (0,2 bis 5000 ng/mL, 46 % der Proben),
- gering belastet (bis 0,2 ng/mL, 26 % der Proben) und
- nicht nachweisbar (11 % der Proben).

Neben Cefuroxim wurden die sieben anderen Antibiotika ebenfalls mittels LC-MS/MS nachgemessen. Da keine Stabilitätsdaten vorliegen, ist nur eine qualitative Auswertung der Ergebnisse möglich. Cefotiam, Cefazolin, Chloramphenicol und Ofloxacin konnten in keiner Probe nachgewiesen werden. Trimethoprim konnte in 71 % und Sulfamethoxazol in 80 % der Proben nachgewiesen werden.

Sehr interessant sind die Ergebnisse für Ciprofloxacin. Während bei Cefuroxim, Trimethoprim und Sulfamethoxazol keine Unterschiede zwischen den einzelnen Kliniken feststellbar waren, wurde Ciprofloxacin nur in einer Klinik nachgewiesen. In dieser Klinik waren allerdings 9 von 11 Proben (82 %) positiv. Hier liegt die Vermutung nahe, dass Ciprofloxacin nur im untersuchten Arbeitsbereich dieser Klinik zubereitet wurde. In den anderen Kliniken wurde Ciprofloxacin entweder nicht oder aber in einem anderen Bereich der Klinik zubereitet. Bei der gemeinsamen Betrachtung der vier Substanzen Cefuroxim, Sulfamethoxazol, Trimethoprim und Ciprofloxacin fällt auf, dass bei der Zubereitung der Antibiotika-Infusionslösungen zwischen 71 % und 89 % der Arbeitsflächen mit dem Wirkstoff kontaminiert wurden. Hier sind weiterführende Untersuchungen zum Kontaminationslevel, den möglichen Gesundheitsgefahren für die Mitarbeiter sowie zur möglichen Bildung von Antibiotikaresistenzen notwendig.

5.3.3 Bestimmung von acht Antibiotika in Wisch- und Urinproben

Die im vorangegangenen Kapitel 5.3.2 vorgestellte Analysemethode sollte auf ihre Leistungsfähigkeit beim Umgebungs- und Biomonitoring mit einem Single- und Triple-Quadropol-Massenspektrometer untersucht werden.

5.3.3.1 Umgebungsmonitoring

Der Kontaminationsgrad der Arbeitsumgebung wird mittels Wischproben analysiert. Zur Überprüfung des entwickelten Verfahrens wurden Testflächen mit einer methanolischen Standardlösung dotiert. Die Wischtücher (20x21 cm KIMWIPES® Lite 100) wurden vor der Probenahme mit jeweils 1 mL VE-Wasser versetzt. Nach einer Stunde Trocknungszeit wurde die Fläche dreimal mit befeuchteten KIMWIPE® - Wischtüchern abgewischt. Bei jedem Wischvorgang wird ein neues Probenahmetuch verwendet und entsprechend Abbildung 5-4 die Wischrichtung variiert.

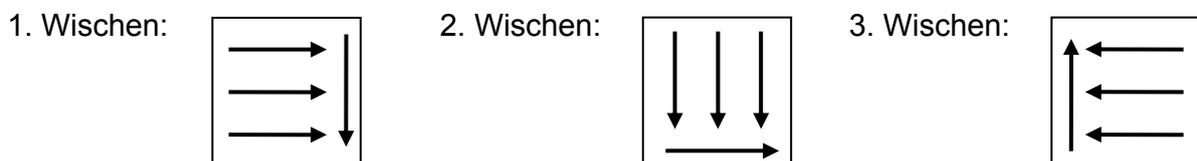


Abbildung 5-4: Durchführung der Probenahme beim Umgebungsmonitoring.

Die drei Tücher werden in einem 50 mL PE-Röhrchen mit 25 mL VE-Wasser 15 Minuten im Ultraschallbad extrahiert. Der Extrakt wird durch einen 0,45 µm Zelluloseacetat Spritzenfilter filtriert und direkt analysiert. In Abbildung 5-5 sind die Wiederfindungsraten und Standardabweichungen einer LC-MS/MS Dreifachbestimmung von dotierten Metalloberflächen ($c = 140 \text{ ng/cm}^2$) dargestellt.

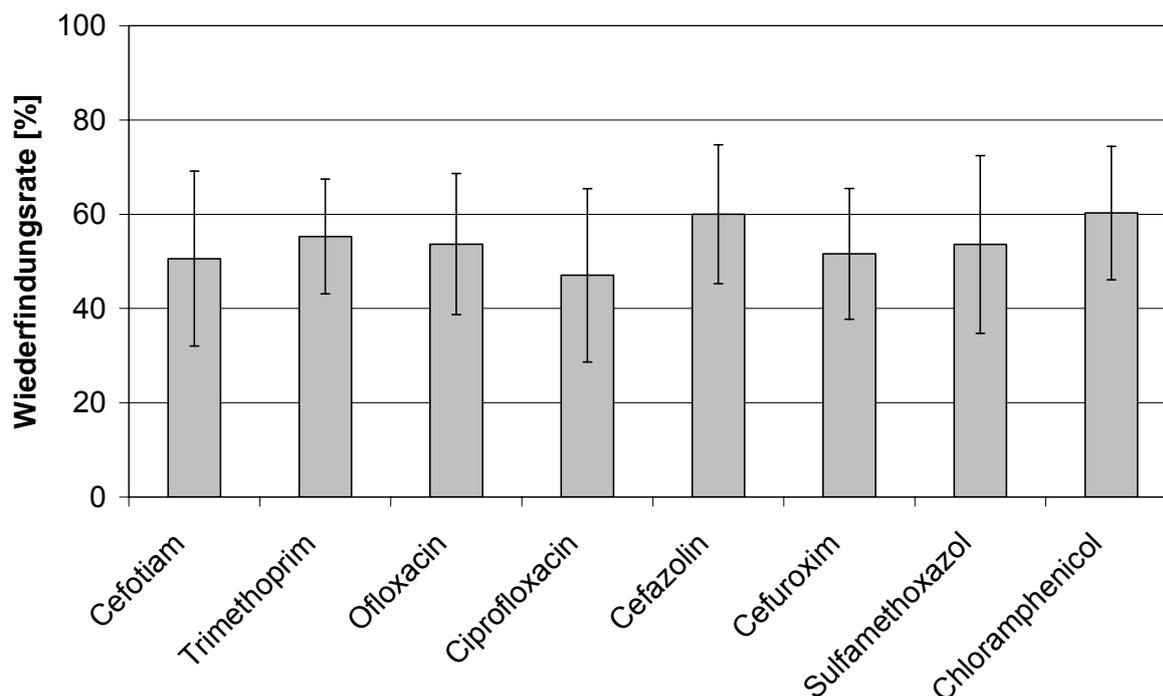


Abbildung 5-5: Wiederfindungsraten des Umgebungsmonitorings für acht Antibiotika von dotierten Metalloberflächen.

$c = 140 \text{ ng/cm}^2$; $n = 3$, die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an.

Obwohl strukturell sehr unterschiedliche Substanzen untersucht werden, liegen die Wiederfindungsraten substanzunabhängig bei etwa 50 %. Zusammen mit den durch die Fehlerbalken gekennzeichneten Standardabweichungen wird deutlich, dass eine weitere Optimierung in Hinblick auf Richtigkeit und Präzision notwendig ist.

5.3.3.2 Biomonitoring

Zur Aufreinigung der Probenextrakte und Anreicherung der Substanzen mittels Festphasenextraktion wurde die Methodenentwicklung zunächst mit wässrigen Standards durchgeführt. Für andere Matrices, wie z. B. Urin, ist eine Matrixanpassung notwendig. Wie bei der Entwicklung der Detektionsmethoden stand auch hier die Entwicklung einer Multimethode im Gegensatz zur eventuell etwas spezifischeren und empfindlicheren Einzelstoffanalytik im Vordergrund. Zur Probenaufreinigung und Aufkonzentrierung wurde eine C_{18} -SPE-Kartusche verwendet. Zur Elution der Fluorchinolone war der Zusatz von 50 % Tetrahydrofuran

zum Methanol notwendig. Dies bestätigt die Ergebnisse von Mizuno et al. [233], die eine ähnliche clean-up Methode zur Bestimmung von Ciprofloxacin, Ofloxacin und Norfloxacin aus menschlichen Haaren verwenden. Die Elution erfolgte mit einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol und Tetrahydrofuran (1:1, v/v). Die anderen Substanzen können mit ähnlichen Wiederfindungsraten ohne Tetrahydrofuranzusatz mit Methanol von der C₁₈-SPE-Kartusche eluiert werden. In Abbildung 5-6 sind die mittels LC-MS/MS bestimmten Wiederfindungsraten des Gesamtanalyseverfahrens im unteren Konzentrationsbereich zusammengefasst.

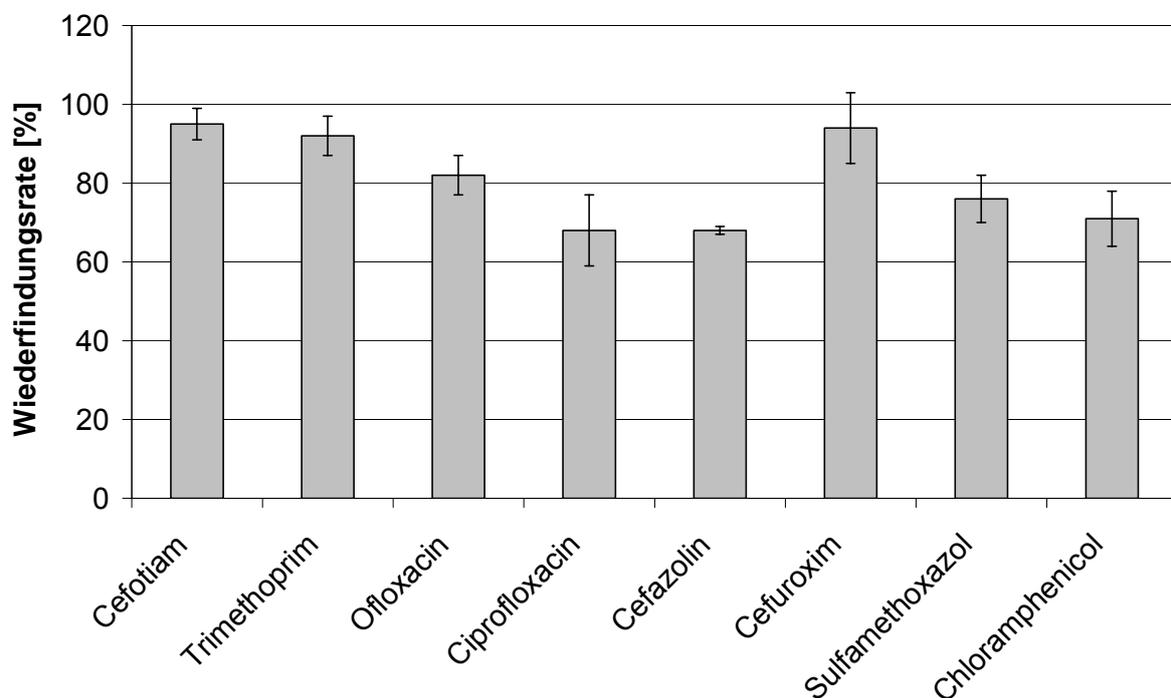


Abbildung 5-6: Wiederfindungsraten des Biomonitorings für acht Antibiotika aus dotierten Urinproben.

c = 20 µg/L, n=3.

Bis auf die Messungen mit dem Single-Quadrupol-Massenspektrometer (Analysesystem 1) können alle Substanzen mit guten Wiederfindungsraten und relativen Standardabweichungen unter 20 % bestimmt werden. Aufgrund von gerätetechnischen Problemen mit dem Single-LC-MS konnten keine Mehrfachmessungen durchgeführt werden. Hauptursache dieser Probleme war die Auslegung als Kombinationsgerät zur Messung mittels GC-MS und LC-MS. In den nachfolgenden Arbeiten wurde wegen der geringeren Empfindlichkeit und Spezifität

auf die Single-LC-MS-Messungen verzichtet. In Tabelle 5-4 und Tabelle 5-5 sind die Validierungsdaten der entwickelten Analyseverfahren dargestellt.

Tabelle 5-4: Wiederfindungsraten, Präzision und Richtigkeit bei der Bestimmung von dotierten Urinproben an einem Tag (intra-day).

	Dotierte	Bestimmte	Präzision	Richtigkeit	
	Konzentration	Konzentration		WFR	R.E.
	[µg/L]	MW ± SD [µg/L]	RSD [%]	[%]	[%]
Cefotiam (1)	20	19 ± 4	20	95	22
	100	93 ± 3	3.7	93	-4.2
	200	179 ± 4	2.5	89	2.7
	5000	3703*	26	74	-
Trimethoprim (2)	20	18 ± 1	5.1	92	6.0
	100	92 ± 5	5.8	92	- 5.8
	200	180 ± 1	0.2	90	0.3
	5000	4920*	2.0	98	-
Ofloxacin (3)	20	16 ± 1	6.4	81	- 7.4
	100	97 ± 3	3.4	97	-3.2
	200	192 ± 2	1.1	96	1.2
	5000	4535*	2.5	91	-
Ciprofloxacin (4)	20	14 ± 1	3.2	69	3.6
	100	62 ± 2	2.9	62	3.3
	200	167 ± 4	2.6	83	2.7
	5000	2238*	0.8	45	-
Cefazolin (5)	20	14 ± 1	1.9	68	- 2.2
	100	85 ± 4	4.8	85	- 5.5
	200	232 ± 12	5.2	116	- 5.2
	5000	2213*	1.1	44	-
Cefuroxim (6)	20	18 ± 2	8.2	92	8.7
	100	85 ± 4	5.2	85	- 5.5
	200	178 ± 9	4.8	89	5.3
	5000	2790*	0.5	56	-
Sulfamethoxazol (7)	20	15 ± 1	7.2	76	- 7.9
	100	93 ± 5	5.4	93	5.1
	200	160 ± 7	4.2	80	4.3
	5000	3583*	1.5	72	-
Chloramphenicol (8)	20	14 ± 1	5.7	71	- 5.6
	100	79 ± 11	14	79	- 15.4
	200	124 ± 2	1.6	62	- 1.8
	5000	2440*	0.9	49	-

Das höchste Level (5000 µg/L) wurde mittels SQMS (n=2), die anderen mittels TQMS (n=3) gemessen. R.E.: relativer Fehler (größte prozentuale Abweichung vom Mittelwert).

* SD und R.E. nicht bestimmbar, da n = 2.

Tabelle 5-5: Wiederfindungsraten, Präzision und Richtigkeit bei der Bestimmung von dotierten Urinproben mittels LC-MS/MS (n=9) an drei unterschiedlichen Tagen (inter-day).

	Dotierte Konzentration	Bestimmte Konzentration	Präzision	Richtigkeit	
	[µg/L]	MW ± SD [µg/L]	RSD [%]	WFR [%]	R.E. [%]
Cefotiam (1)	20	18 ± 3	16	91	22
	100	87 ± 8	8.7	87	20
	200	189 ± 17	9.2	95	-16
Trimethoprim (2)	20	19 ± 2	9.3	94	-16
	100	93 ± 14	15	93	30
	200	201 ± 33	16	101	-31
Ofloxacin (3)	20	16 ± 2	9.5	82	-18
	100	85 ± 4	5.1	85	9.4
	200	190 ± 14	7.2	95	12
Ciprofloxacin (4)	20	12 ± 2	16	62	24
	100	56 ± 8	14	56	25
	200	168 ± 28	16	84	-23
Cefazolin (5)	20	12 ± 1	11	61	-16
	100	94 ± 10	11	94	-22
	200	188 ± 39	21	94	35
Cefuroxim (6)	20	20 ± 3	13	102	20
	100	82 ± 11	14	82	31
	200	188 ± 32	17	94	36
Sulfamethoxazol (7)	20	15 ± 2	15	77	-19
	100	94 ± 7	7.6	94	12
	200	182 ± 22	12	91	-25
Chloramphenicol (8)	20	13 ± 1	10	66	15
	100	73 ± 8	11	73	-26
	200	122 ± 14	11	61	-19

5.3.3.3 LC-MS- und LC-MS/MS - Methodenentwicklung

Bei der LC-MS-Methodenentwicklung mit einer Elektrosprayquelle zeigte sich, dass Cefuroxim und Chloramphenicol im negativen Ionisationsmodus (ESI⁻) und die anderen Substanzen mit ESI⁺ gemessen werden können. Da mit dem verwendeten AutoMass Single-Quadrupol-Massenspektrometer der Fa. ThermoQuest (jetzt Thermo Fischer Scientific) kein Polaritätswechsel innerhalb einer Messung durchgeführt werden kann, mussten zwei unterschiedliche Analysemethoden entwickelt werden. In Tabelle 5-6 sind die wichtigsten HPLC-UV und MS-Messparameter für die Bestimmung der acht Antibiotika zusammengefasst. Abbildung 5-7 und Abbildung 5-8 zeigen die HPLC-DAD-ESI⁺- und HPLC-DAD-ESI⁻-MS-Messungen einer dotierten Urinprobe.

Tabelle 5-6: Messparameter zur Bestimmung von acht Antibiotika mittels HPLC-UV-MS.

	λ [nm]	m/z [amu]	CV [V]	Cone [V]
Cefotiam (1)	258	526	+ 2670	+ 34
Trimethoprim (2)	220	291	+ 2670	+ 34
Ofloxacin (3)	296	362	+ 2670	+ 34
Ciprofloxacin (4)	282	332	+ 2670	+ 34
Cefazolin (5)	272	455	+ 2670	+ 34
Cefuroxim (6)	278	423	- 2670	- 7
Sulfamethoxazol (7)	270	254	+ 2670	+ 34
Chloramphenicol (8)	278	322	- 2920	- 21

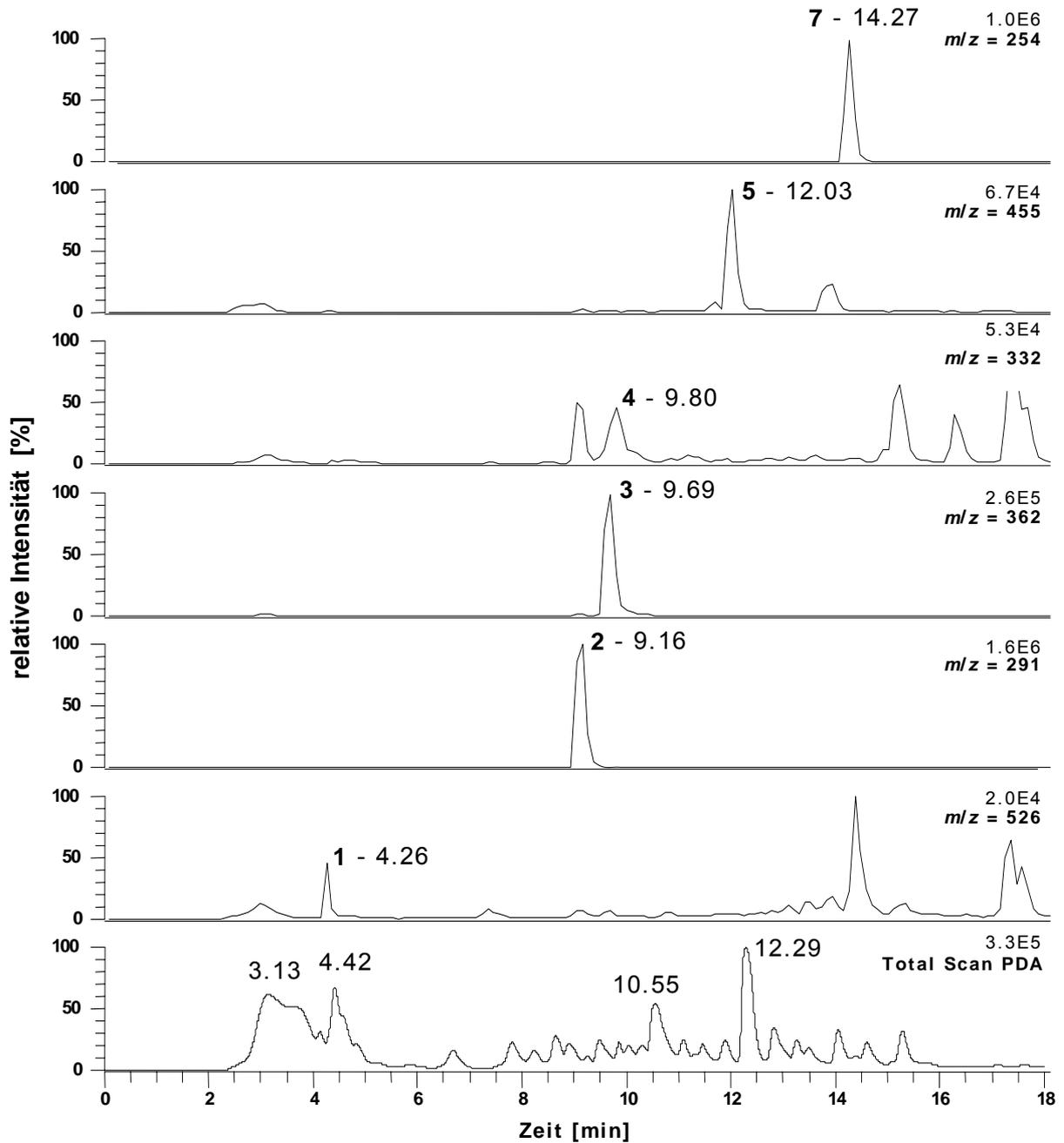


Abbildung 5-7: HPLC-DAD- ($\lambda = 200$ bis 450 nm) und HPLC-ESI⁺-MS-Chromatogramme (SIM) einer gespikten Urinprobe (5 mg/L).

125x3 mm Nucleodur 100-5 C18 EC HPLC-Säule. Mobile Phase A: 0,1 % Ameisensäure in VE-Wasser, mobile Phase B: Acetonitril. Gradient: 0-1 min 95 % A, 14 min 50 % A, 16 min 50 % A, 17 min 95 % A, 20 min 95 % A. 1 Cefotiam, 2 Trimethoprim, 3 Ofloxacin, 4 Ciprofloxacin, 5 Cefazolin, 7 Sulfamethoxazol.

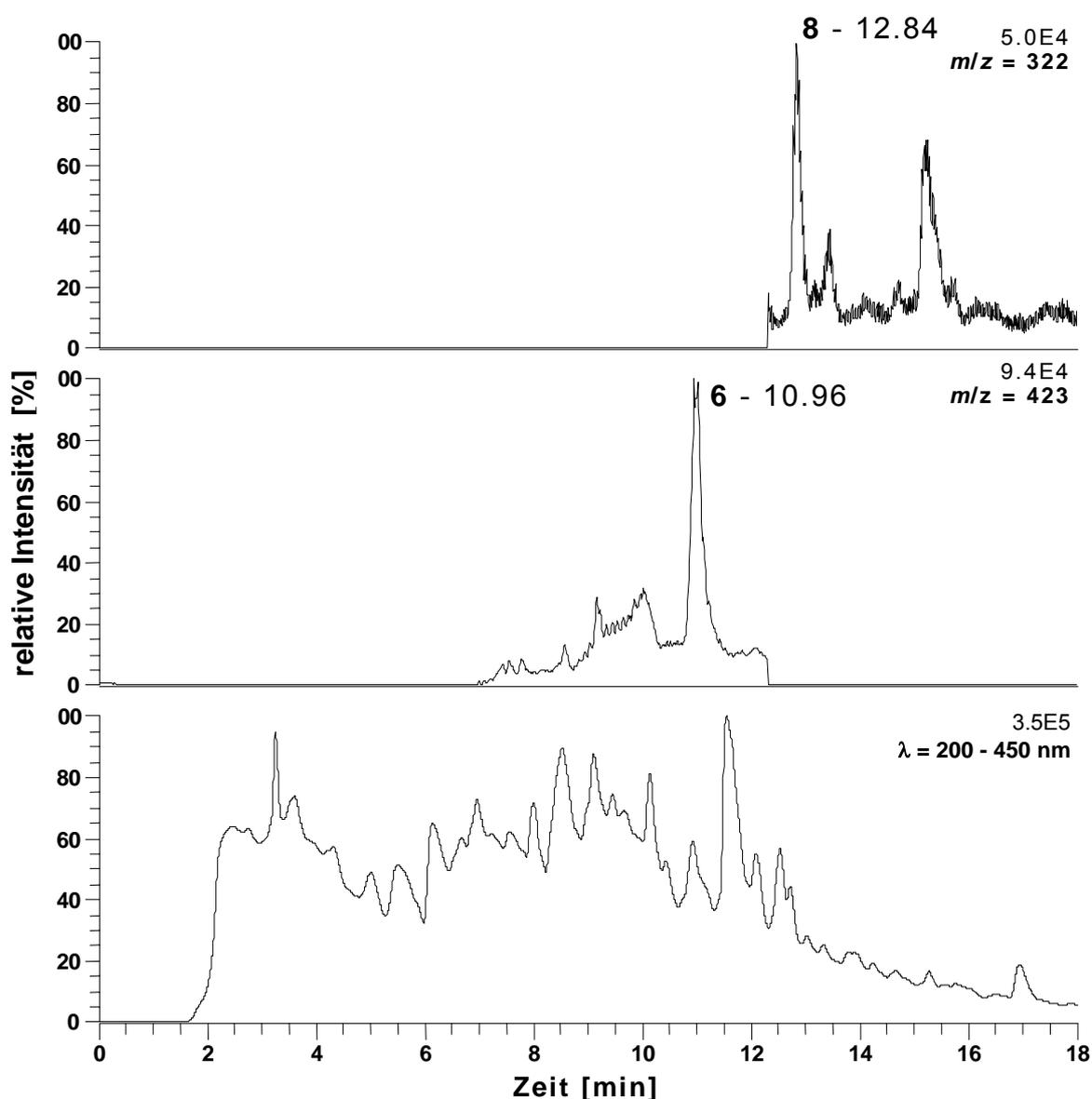


Abbildung 5-8: HPLC-DAD- ($\lambda = 200$ bis 450 nm) und HPLC-ESI⁻-MS-Chromatogramme (SIM) einer gespikten Urinprobe (5 mg/L).

125x3 mm Nucleodur 100-5 C18 EC HPLC-Säule. Periode 1: 0-12 min SIM ($m/z = 423$) von Cefuroxim (6), Periode 2: 12-20 min SIM ($m/z = 322$) von Chloramphenicol (8). Mobile Phase A: 0,1 % Ameisensäure in VE-Wasser, mobile Phase B: Acetonitril. Gradient: 0-1 min 95 % A, 14 min 50 % A, 16 min 50 % A, 17 min 95 % A, 20 min 95 % A.

Aufgrund der besseren Reproduzierbarkeit, Selektivität, Empfindlichkeit und Robustheit wurden die mittels Single-Quadrupol-MS entwickelten Methoden durch die in Abbildung 5-9 dargestellte Triple-Quadrupol-Massenspektrometer-Methode ersetzt. Besonders vorteilhaft ist die Möglichkeit, in einem Lauf mehrere Polaritätswechsel vornehmen zu können.

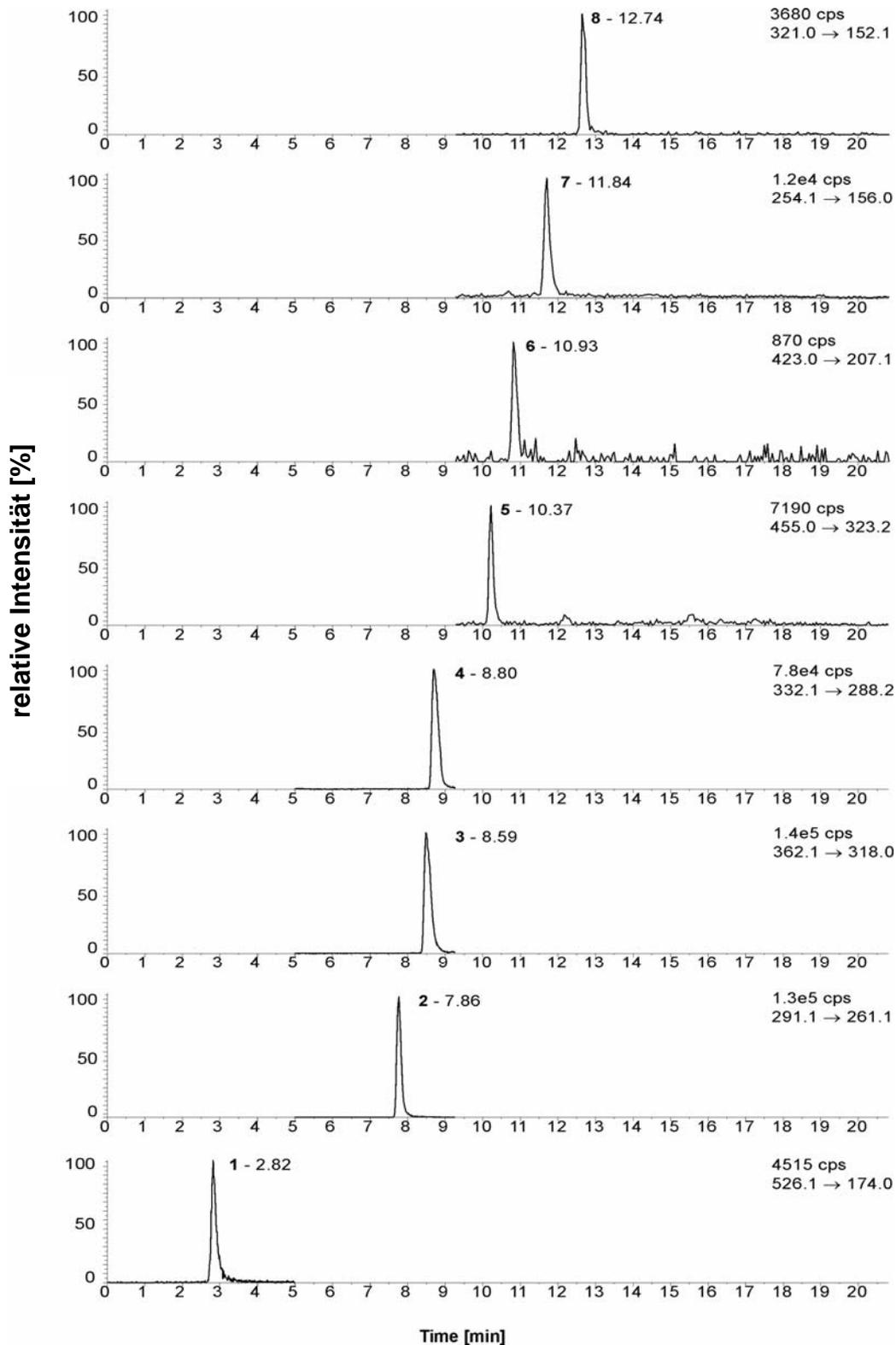


Abbildung 5-9: LC-MS/MS Chromatogramm einer gespikten Urinprobe (100 µg/L).

125x2 mm Nucleodur 100-5 C18 EC HPLC-Säule. $\vartheta = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, Flussrate: 300 µL/min. 1. Periode: 0 – 5 min, 2. Periode: 5 – 9.2 min, 3. Periode: 9.3 – 21 min. Gradient: 0-1 min 95 % A, 15 min 30 % A, 17 min 30 % A, 18 min 95 % A, 24 min 95 % A. Mobile Phase A: 0,1 % Ameisensäure in VE-Wasser, Mobile Phase B: 0,1 % Ameisensäure in Acetonitril.

1 Cefotiam, 2 Trimethoprim, 3 Ofloxacin, 4 Ciprofloxacin, 5 Cefazolin, 6 Cefuroxim, 7 Sulfamethoxazol, 8 Chloramphenicol.

5.3.3.4 Empfindlichkeit und Matrixeffekte

Der Vergleich der Nachweisgrenzen in Tabelle 5-7 zeigt, dass mittels Single-Quadrupol-Massenspektrometrie zwar eine spezifischere Detektion möglich ist, die Empfindlichkeit bei relativ sauberen Proben, wie z. B. Wischproben, nur bei wenigen Substanzen signifikant besser ist als bei der Messung mit einem UV-Detektor. Mittels LC-MS/MS sind, wie zu erwarten, die besten Ergebnisse zu erzielen.

Tabelle 5-7: Nachweisgrenzen von Wischproben- und Urinprobenextrakten bei einem Signal-zu-Rausch-Verhältnis von 3:1 mittels UV-, MS- und MS/MS-Detektion.

	Wischprobenextrakte [µg/L]			Urinprobenextrakte [µg/L]	
	UV	MS	MS/MS	MS	MS/MS
Cefotiam (1)	60	100	1	160	2
Trimethoprim (2)	75	0.3	0,05	2	0,06
Ofloxacin (3)	30	25	0,2	100	0,3
Ciprofloxacin (4)	30	45	0,4	200	0,4
Cefazolin (5)	60	45	0,8	160	2
Cefuroxim (6)	50	25	0,3	75	0,4
Sulfamethoxazol (7)	75	1.2	0,1	9	0,2
Chloramphenicol (8)	30	100	2	250	3

Die schlechteren Nachweisgrenzen bei der Messung von Urinproben sind erste Hinweise auf Matrixeffekte. Beim Vergleich der Kalibrationsgeraden in Tabelle 5-8 wird deutlich, dass zur Messung von Urinproben eine Matrixkalibration notwendig ist. Trotz der Probenaufreinigung mittels Festphasenextraktion führen nicht abgetrennte Probenbestandteile zu deutlichen Signalsuppressionen, die durch eine Matrixkalibration oder die Verwendung von Internen Standards ausgeglichen werden können. Da letztere nicht zur Verfügung standen, wurde eine gewichtete Matrixkalibration (1/x) mit sehr guten Korrelationskoeffizienten von größer als 0,99 verwendet. Anhand der in Tabelle 5-8 dargestellten Achsenabschnitte und Steigungen der Regressionsgeraden werden die Matrixeffekte nochmals gut verdeutlicht.

Tabelle 5-8: Achsenabschnitt, Steigung und Bestimmtheitsmaß (R^2) der mit $1/x$ gewichteten Matrix- und Standardkalibrationen bei Messung mittels LC-MS/MS.

Substanz	Kalibration	Achsenabschnitt	Steigung	R^2
Cefotiam	Matrix	-1,01E2	2,82E2	0,9974
	Standard	-5,05E2	3,24E2	0,9988
Trimethoprim	Matrix	3,74E4	1,94E3	0,9906
	Standard	1,27E5	2,81E4	0,9975
Ofloxacin	Matrix	2,21E4	8,45E2	0,9998
	Standard	-1,53E4	1,36E4	0,9981
Ciprofloxacin	Matrix	1,53E4	1,07E3	0,9988
	Standard	-2,07E4	8,12E3	0,9968
Cefazolin	Matrix	1,38E3	9,52E1	0,9973
	Standard	6,65E2	2,38E3	0,9997
Cefuroxim	Matrix	2,66E3	2,62E1	0,9985
	Standard	2,86E3	1,09E3	0,9992
Sulfamethoxazol	Matrix	2,54E3	1,12E1	0,9900
	Standard	-1,16E3	1,55E3	0,9991
Chloramphenicol	Matrix	-1,12E2	1,27E2	0,9964
	Standard	1,42E4	2,53E3	0,9970

5.3.4 Zusammenfassende Bewertung und Fazit

Zur Bestimmung von Cefuroxim beim Umgebungsmonitoring wurde eine HPLC-UV-MS-Methode entwickelt. Bei den erstmalig durchgeführten Untersuchungen von 35 Wischproben aus vier europäischen Krankenhäusern zeigte sich, dass 89 % der Proben belastet waren. Da über die Proben und die Arbeitsbedingungen keine Informationen vorlagen, können keine weiteren Rückschlüsse auf die Kontaminationsursachen getroffen werden. Insgesamt zeigen diese hohen Belastungen mit Maximalkonzentrationen von bis zu 22.000 ng/mL, dass im Bereich der Flächenkontaminationen mit Antibiotika noch ein hoher Forschungsbedarf besteht. Aus diesem Grund wurde vorbereitend auf das in Kapitel 5.4 beschriebene Antibiotika – Monitoring die analytische Methode erweitert. Es konnte eine empfindliche Multimethode zur Bestimmung von acht strukturell unterschiedlichen Antibiotika mittels HPLC-UV, -MS und -MS/MS entwickelt werden. Die HPLC-UV- und -MS-Methoden sind zur Messung von Wischproben mit hohen Konzentrationen, wie es in den Proben der vier Krankenhäuser der Fall war oder wie es nach einer

unbeabsichtigten Substanzfreisetzung der Fall ist, geeignet. Beim Umgebungs- und Biomonitoring sollte aufgrund der zu erwartenden Konzentrationen im unteren ng/mL-Bereich und Matrixeffekten die Tandemmassenspektrometrie eingesetzt werden. Mit dem entwickelten clean-up-Verfahren ist neben der Extraktreinigung bei Wiederfindungsraten über 70 % auch eine Anreicherung um den Faktor fünf möglich. Darüber hinaus ist eine Erweiterung der Analyseverfahren um weitere Antibiotika möglich. Präzision und Genauigkeit des Analyseverfahrens zeigen, dass eine robuste Methode zur empfindlichen Bestimmung von Antibiotika beim Umgebungs- und Biomonitoring entwickelt wurde, die für die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen geeignet ist.

5.4 Antibiotika - Monitoring auf zwei Stationen eines Krankenhauses

5.4.1 Einleitung

Zur Erfassung der Arbeitsplatzbelastung und der inneren und äußeren Exposition der Mitarbeiter gegenüber Antibiotika wurde mit Hilfe der in dieser Arbeit entwickelten Analyse- und Probenahmemethoden ein kombiniertes Umgebungs- und Biomonitoring sowie eine Mitarbeiterbefragung in einem Nordrhein-Westfälischen Klinikum durchgeführt. Zum Vergleich zwischen Normal- und Intensivstation wurden Proben aus folgenden Bereichen analysiert:

- **Umgebungsmonitoring:**
 - Bestimmung der Flächenbelastung
(Arbeitsflächen, Fußböden, Arbeitsgeräte, Lichtschalter, Türgriffe, Mobiliar, Behälter etc.)
 - Bestimmung der Belastung der Arbeitskleidung

- **Biomonitoring** (Substanzspezifisches biologisches Belastungsmonitoring):
 - Bestimmung der mit dem Urin ausgeschiedenen Antibiotikamengen

Aufgrund der Vorgespräche und den zur Verfügung gestellten Verbrauchsmengen der beiden Stationen des Klinikums wurden, wie bereits in Kapitel 5.2 aufgeführt, die folgenden 15 Substanzen für das Untersuchungsprogramm ausgewählt:

Amoxicillin, Ampicillin, Cefazolin, Cefotaxim, Cefotiam, Cefuroxim,
Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Ofloxacin, Penicillin G, Penicillin V,
Piperacillin, Trimethoprim, Sulfamethoxazol und Vancomycin.

Auf der Intensivstation waren im Untersuchungszeitraum alle 15 und auf der Normalstation 25 von 38 Betten belegt.

Die gesamte Intensivstation verfügte über eine raumluftechnische Anlage. Zusätzlich wurde das Fenster eines Aufenthaltsraums zeitweise geöffnet. Im Gegensatz zur Normalstation waren auf der Intensivstation die Patientenzimmer nicht durch Türen

vom Zentralraum abgetrennt. Auf der Normalstation war insbesondere das Fenster im Zubereitungsraum im Untersuchungszeitraum tagsüber überwiegend geöffnet. Tabelle 5-9 gibt eine Übersicht über die im Rahmen der Untersuchungen auf beiden Stationen erhaltenen Fragebögen und Proben.

Tabelle 5-9: Übersicht zum durchgeführten Bio- und Umgebungsmonitoring.

	Intensivstation	Normalstation
Anzahl Studienteilnehmer	18	6
Anzahl Fragebögen	17 ¹	6
Anzahl Wischproben	21	25
Anzahl Textilproben	18	5 ²
Anzahl Urinproben	31 (von 16 Mitarbeitern)	9 (von 5 Mitarbeitern)

¹ ein Fragebogen fehlend,

² eine Stoffprobe fehlend

5.4.2 Methodenadaptierung und Revalidierung

Die unter 5.3.3 beschriebene und validierte Analysemethode wurde zur Bestimmung der für diese Studie ausgewählten Antibiotika um sieben Substanzen erweitert und revalidiert. Abbildung 5-9 zeigt die chromaographische Trennung der 15 Antibiotika am Beispiel einer Validierungsprobe.

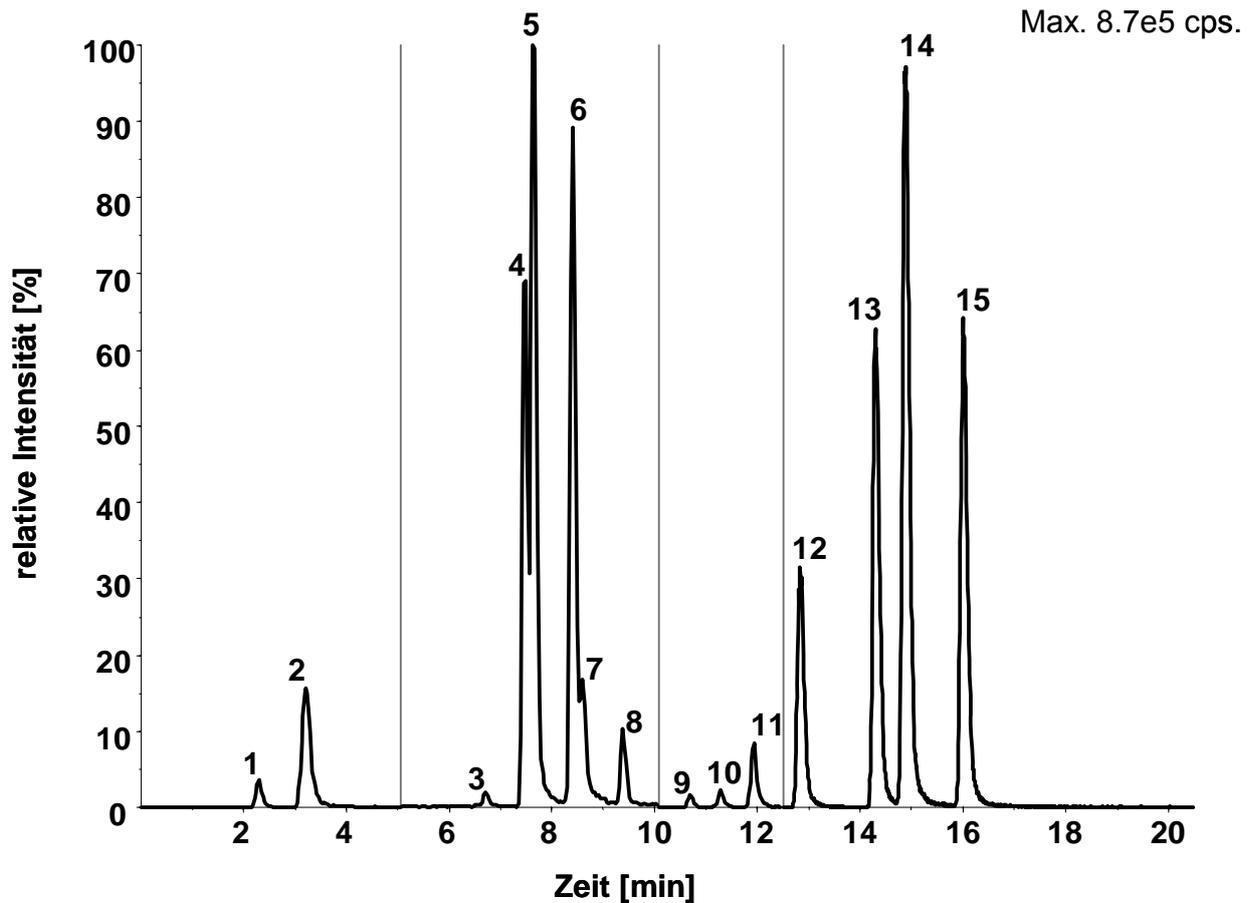


Abbildung 5-10: LC-MS/MS Chromatogramm (TIC) einer gespiketen Wischprobe ($c = 100 \mu\text{g/L}$) mit 15 Antibiotika.

125 x 2 mm Nucleodur 100-5 C18 EC HPLC-Säule. $\vartheta = 30^\circ\text{C}$, Flussrate: 300 $\mu\text{L/min}$. 1. Periode: 0 – 5 min, 2. Periode: 5 – 10 min, 3. Periode: 10 – 12.5 min, 4. Periode: 12.5 – 21 min. Gradient: 0-1 min 95 % A, 15 min 50 % A, 20 min 50 % A, 21 min 95 % A, 25 min 95 % A. Mobile Phase A: 0.1 % Ameisensäure in VE-Wasser, Mobile Phase B: 0.1 % Ameisensäure in Acetonitril.

1: Cefotiam, 2: Amoxicillin, 3: Vancomycin, 4: Trimethoprim, 5: Ampicillin, 6: Ofloxacin, 7: Ciprofloxacin, 8: Cefotaxim, 9: Cefazolin, 10: Cefuroxim, 11: Sulfamethoxazol, 12: Chloramphenicol, 13: Piperacillin, 14: Penicillin G, 15: Penicillin V

In Tabelle 5-10 sind die Validierungsdaten der überarbeiteten Analysemethode zusammengefasst. Als Bestimmungsgrenze wurde die niedrigste Konzentration der mit $1/x$ gewichteten linearen Kalibration definiert.

Tabelle 5-10: Wiederfindungsraten ($n = 3$, $c = 100 \mu\text{g/L}$), Nachweis- und Bestimmungsgrenzen von 15 Antibiotika beim Umgebungs- und Biomonitoring.

	Umgebungsmonitoring			Biomonitoring		
	WFR \pm SD [%]	NWG ¹ [$\mu\text{g/L}$]	BG ² [$\mu\text{g/L}$]	WFR \pm SD [%]	NWG ¹ [$\mu\text{g/L}$]	BG ² [$\mu\text{g/L}$]
Amoxicillin	94 \pm 11	0,5	1	58 \pm 18	2	2,5
Ampicillin	113 \pm 6	0,8	2,5	82 \pm 8	5	5
Cefazolin	102 \pm 5	0,8	2,5	63 \pm 7	2	10
Cefotaxim	97 \pm 4	0,7	2,5	60 \pm 3	3	5
Cefotiam	80 \pm 7	5	5	53 \pm 7	5	10
Cefuroxim	82 \pm 4	0,3	1	72 \pm 6	1	5
Chloramphenicol	113 \pm 2	0,6	2,5	80 \pm 6	2	2,5
Ciprofloxacin	76 \pm 3	0,4	1	83 \pm 6	2	5
Ofloxacin	94 \pm 5	0,3	1	87 \pm 7	2	5
Penicillin G	113 \pm 6	0,1	0,5	69 \pm 3	1	1
Penicillin V	112 \pm 7	0,1	0,5	71 \pm 6	1	1
Piperacillin	102 \pm 9	0,1	0,5	68 \pm 4	1	1
Trimethoprim	95 \pm 2	0,1	0,25	83 \pm 5	0,5	2,5
Sulfamethoxazol	74 \pm 7	0,2	1	58 \pm 3	1	5
Vancomycin	62 \pm 15	5	10	43 \pm 4	5	10

¹: Nachweisgrenze bei $s/n = 3:1$;

²: Als Bestimmungsgrenze wird die Konzentration definiert, die als niedrigstes Kalibrationslevel für die mit $1/x$ gewichtete lineare Matrixkalibration verwendet werden konnte.

5.4.3 Ergebnisse und Diskussion

5.4.3.1 Allgemeine Anmerkungen

Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu beachten, dass aufgrund der zur Methodenentwicklung notwendigen Vorauswahl der zu untersuchenden Substanzen ein Grossteil der im Untersuchungszeitraum in den beiden Stationen tatsächlich eingesetzten Substanzen nicht analysiert werden konnte. Von den acht auf der Intensivstation im Untersuchungszeitraum verwendeten Antibiotika (Ceftazidim, Cefuroxim, Ciprofloxacin, Clindamycin, Imipenem, Mezlocillin, Piperacillin, Sulbactam) konnten mit dem entwickelten Analysenverfahren nur **Ciprofloxacin**, **Cefuroxim** und **Piperacillin** erfasst werden. Von den vier auf der Normalstation verarbeiteten Substanzen (Ampicillin, Cefotaxim, Gentamycin, Sulbactam) waren **Ampicillin** und **Cefotaxim** unter den analysierbaren Verbindungen. Nur 5 der 15 zu diesem Zeitpunkt bestimmbareren Wirkstoffe wurden also im Untersuchungszeitraum auch tatsächlich auf einer der beiden Stationen zubereitet bzw. verabreicht. Die Analyseergebnisse der 15 Antibiotika zeigen allerdings, dass bei allen Teiluntersuchungen überwiegend auch Substanzen nachgewiesen wurden, die zwar nicht am gleichen Tag verabreicht wurden, jedoch laut Auskunft der Mitarbeiter zu den im jeweiligen Bereich routinemäßig eingesetzten Wirkstoffen gehören.

5.4.3.2 Wischprobenuntersuchungen

5.4.3.2.1 Flächenbelastung auf der Intensivstation

In Tabelle 5-11 sind für die auf der Intensivstation genommenen Wischproben die wichtigsten Probenahmedaten zusammengefasst.

Tabelle 5-11: Beschreibung der auf der Intensivstation genommenen Wischproben.

Proben- Nummer	Beschreibung	Fläche [cm²]
WPI.1	Zubereitungsraum: Arbeitsfläche 1 (vormittags)	900
WPI.2	Zubereitungsraum: Arbeitsfläche 2 (vormittags)	900
WPI.3	Zubereitungsraum: Abfallbehälter	ca.1600
WPI.4	Pflegearbeitsraum (unrein): Waschbeckenrand 1	ca. 1400
WPI.5	Pflegearbeitsraum (rein): Arbeitsfläche 3 (vormittags)	900
WPI.6	Pflegearbeitsraum (rein): Waschbeckenrand 2	ca. 1400
WPI.7	Pflegearbeitsraum (rein): Türklinke und Türrahmen	ca. 450
WPI.8	Zentralraum: Arbeitsfläche 4	400
WPI.9	Zentralraum: Arbeitsfläche Rollwagen 1	900
WPI.10	Zentralraum: Arbeitsfläche Rollwagen 2	900
WPI.11	Ablage neben dem Patientenbett 1	900
WPI.12	Abfallbehälterdeckel im Patientenzimmer 1	600
WPI.13	Telefonhörer im Zentralraum	k.A.
WPI.14	Ablage neben Patientenbett 2	900
WPI.15	Infusomat Patientenzimmer 2	k.A.
WPI.16	Zubereitungsraum: Arbeitsfläche 1 (nachmittags)	900
WPI.17	Pflegearbeitsraum (rein): Arbeitsfläche 3 (14.00 Uhr)	900
WPI.18	Pflegearbeitsraum (rein): Arbeitsfläche 5 (14.00 Uhr)	900
WPI.19	Pflegearbeitsraum (rein): Arbeitsfläche 3 (15.40 Uhr)	900
WPI.20	Pflegearbeitsraum (rein): Arbeitsfläche 5 (15.40 Uhr)	900
WPI.21	Zubereitungsraum: Arbeitsfläche 2 (nachmittags)	900

k.A.: keine Angabe

20 von 21 untersuchten Flächen waren mit mindestens einem der analysierten Antibiotika belastet. Von den 15 untersuchten Substanzen konnten 10 auf mindestens einer der beprobten Flächen nachgewiesen werden. Besonders häufig

wurden Cefuroxim, Piperacillin, Sulfamethoxazol und Vancomycin nachgewiesen. Besonders stark, d. h. mit mehreren Substanzen in vergleichsweise hoher Konzentration belastet, waren die Arbeitsflächen im Zentralraum sowie in einem Pflegearbeitsraum, die beide zur Vorbereitung und Ablage von Antibiotika-Applikationen genutzt werden. Wie in Abbildung 5-11 zu sehen ist, sind die Flächenkonzentrationen sehr unterschiedlich.

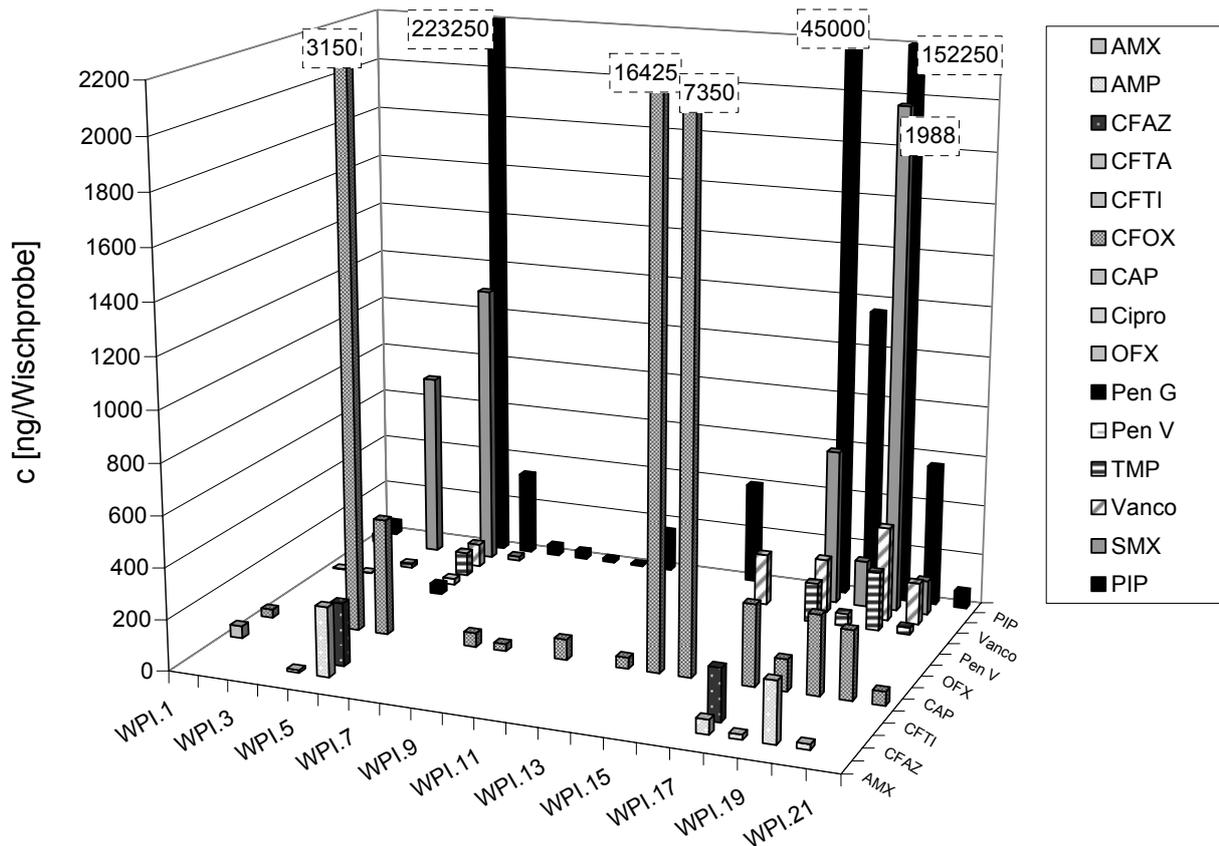


Abbildung 5-11: Flächenbelastung auf der Intensivstation.

Da nicht für alle Proben die Berechnung einer exakten Flächenbelastung möglich ist (s. Tabelle 5-11), werden die absoluten Analysenwerte [ng/Wischprobe] dargestellt.

Die höchsten Werte wurden mit 248 ng/cm^2 ($223250 \text{ ng/Wischprobe}$) für die Substanz Piperacillin auf der Arbeitsfläche 3 gefunden. Trotz zwischenzeitlicher Reinigung konnte auf dieser Arbeitsfläche auch am Nachmittag eine hohe Kontamination nachgewiesen werden. Zwischen 14:00 und 15:40 Uhr ist die Piperacillinkonzentration von 50 auf 169 ng/cm^2 angestiegen. Bei Cefuroxim waren ähnliche Tendenzen zu beobachten. Auf Arbeitsfläche 2 konnte ebenfalls nachgewiesen werden, dass durch die Verarbeitung von Cefuroxim und Piperacillin

eine Flächenkontamination mit beiden Substanzen erfolgt ist. Auf Arbeitsfläche 5 sind zwar deutliche Kontaminationen von jeweils sechs Antibiotika sowohl bei der ersten als auch bei der zweiten Probenahme nachweisbar, das Belastungsniveau ist allerdings in etwa gleich geblieben, so dass hier keine Rückschlüsse auf die Arbeitsweise gezogen werden können.

Im Vergleich dazu geringer kontaminiert waren die untersuchten Bereiche in den Patientenzimmern sowie die direkt berührten Flächen in den Arbeitsräumen (Türrahmen, Türklinken, Telefonhörer, Lichtschalter).

Auf der Mehrzahl der beprobten Flächen (13 von 21) waren ein bis drei Stoffe nachweisbar. Im Bereich der Zubereitung der Applikationen waren es dagegen bis zu neun Substanzen auf einer einzelnen Fläche.

Cefuroxim (1,5 g) und insbesondere Piperacillin (3 x 4 g) wurden im Untersuchungszeitraum in größeren Mengen zubereitet und verabreicht. Das in geringer Menge verarbeitete Ciprofloxacin (250 mg) konnte nicht nachgewiesen werden. Dagegen wurden weitere acht Antibiotika gefunden, die laut Angaben des Pflegepersonals im Untersuchungszeitraum nicht eingesetzt wurden. Es handelt sich dabei um die Wirkstoffe Ampicillin, Cefazolin, Cefotaxim, Penicillin G, Penicillin V, Sulfamethoxazol, Trimethoprim und Vancomycin. Besonders häufig und mit Maximalkonzentrationen von bis zu 2 ng/cm² wurden Ampicillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim und Vancomycin gefunden. Betroffen waren auch hier vor allem die für die Zubereitung von Applikationen genutzten Arbeitsflächen.

Die Belastungen mit diesen Substanzen können bereits vor dem erfassten Zeitraum entstanden sein. Eine andere mögliche Kontaminationsquelle sind Ausscheidungen der zuvor mit diesen Substanzen behandelten Patienten sowie kontaminierte Materialien wie z. B. Textilien. Wie die im nachfolgenden Abschnitt diskutierten Ergebnisse zeigen, können Kontaminationen mit verschiedenen Antibiotika auch durch Außenanhaftungen an angelieferten Medikamentenverpackungen entstehen.

5.4.3.2.2 Flächenbelastung auf der Normalstation

In Tabelle 5-12 sind für die auf der Normalstation genommenen Wischproben die wichtigsten Probenahmedaten zusammengefasst.

Tabelle 5-12: Beschreibung der auf der Normalstation genommenen Wischproben.

Probennummer	Beschreibung	Fläche [cm²]
WP11.1	Zubereitung: Arbeitsfläche 1 (vormittags)	900
WP11.2	Zubereitung: Arbeitsfläche 2 (vormittags)	900
WP11.3	Fußboden (Zubereitung)	900
WP11.4	Türklinke (Zubereitung)	ca. 60
WP11.5	Lichtschalter (Zubereitung)	ca. 30
WP11.6	Urinbecken (Pflegearbeitsraum)	ca. 770
WP11.7	Waschbeckenablage (Pflegearbeitsraum)	900
WP11.8	Fußboden (Entsorgungsraum)	900
WP11.9	Waschbeckenrand Stationsbad	ca. 1400
WP11.10	Wäsche- und Abfalleimer	ca. 3000
WP11.11	Arbeitsfläche Rollwagen	900
WP11.12	Schreibtischunterlage Schwesternzimmer	900
WP11.13	Waschbeckenrand Zubereitung	ca. 800
WP11.14	Wasserhahn Zubereitung	ca. 150
WP11.15	Zubereitung: Arbeitsfläche 1 (nachmittags)	900
WP11.16	Zubereitung: Arbeitsfläche 2 (nachmittags)	900
WP11.17	Nachtschrank	900

Wie in Abbildung 5-12 zu erkennen ist, waren alle 17 auf der Normalstation genommenen Wischproben mit mindestens einem Antibiotikum belastet. Auf den von Arbeits-, Ablage- und Bodenflächen stammenden Wischproben wurden insgesamt 9 der 15 nachweisbaren Substanzen gefunden. Die Wirkstoffe Vancomycin, Sulfamethoxazol, Ampicillin, Cefotaxim, Piperacillin, Trimethoprim und Cefuroxim waren auf mehr als der Hälfte dieser Flächen nachweisbar. Dagegen wurden Cefotiam, Cefazolin, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Ofloxacin und Penicillin G nicht nachgewiesen.

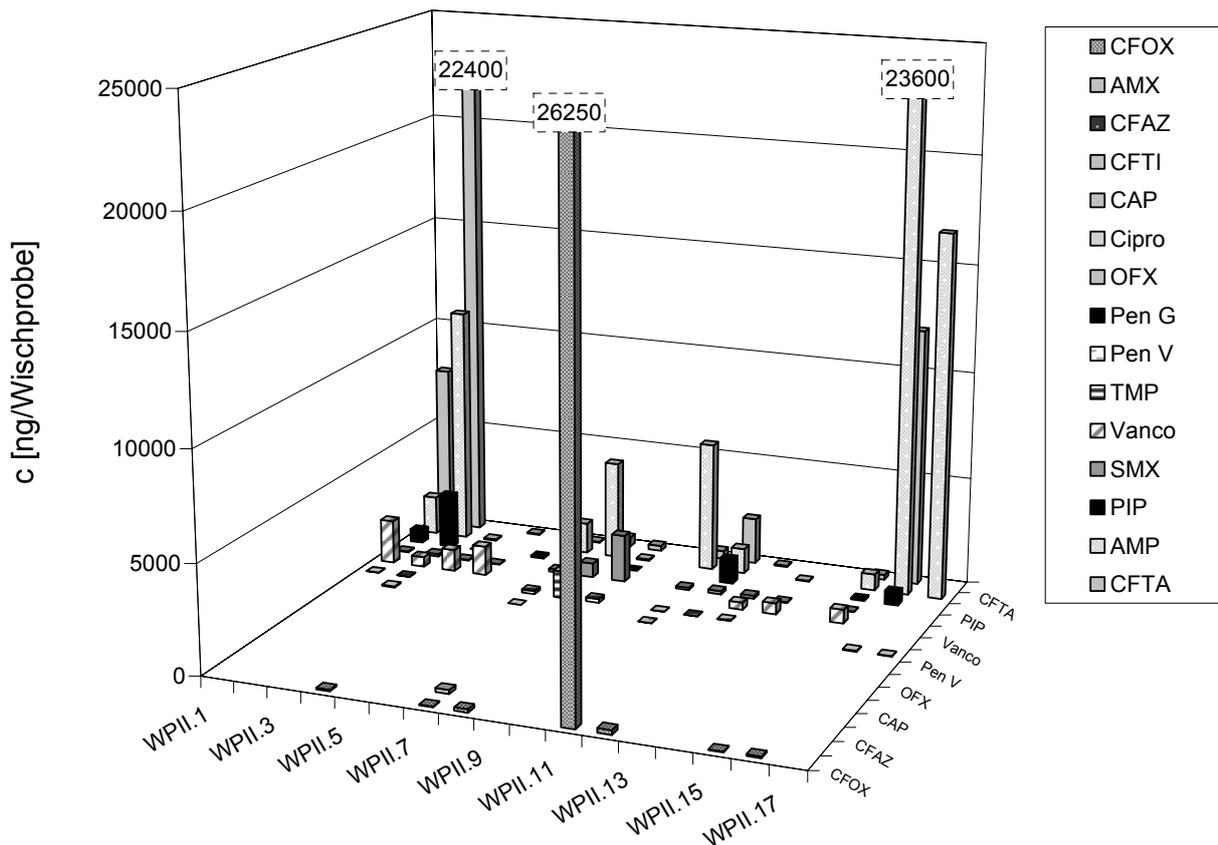


Abbildung 5-12: Flächenbelastung auf der Normalstation.

Die höchsten Flächenkonzentrationen wurden mit Werten von bis 29 ng/cm^2 ($26250 \text{ ng/Wischprobe}$) für Cefuroxim, Cefotaxim, und Ampicillin ermittelt. Diese Proben stammten von der für die Zubereitung der Applikationen genutzten Arbeitsfläche, einem Transportwagen sowie vom Nachttisch eines Patientenzimmers. Die betroffenen Flächen waren zudem jeweils mit drei bis sieben verschiedenen Antibiotika kontaminiert.

Mehrfachbelastungen in allerdings geringeren Konzentrationen fanden sich ebenfalls auf den untersuchten Fußböden, Türklinken, Spülbecken und Abfallbehältern sowie auf einem Schreibtisch.

Im Untersuchungszeitraum wurden von den hier analysierten Substanzen nur Ampicillin und Cefotaxim zubereitet bzw. appliziert. Die weiteren acht nachgewiesenen Verbindungen müssen daher zu einem früheren Zeitpunkt bzw. durch Sekundärkontamination, z. B. über Patientenausscheidungen, oder aufgrund von Außenkontaminationen der Primärverpackungen, auf die untersuchten Oberflächen gelangt sein. Beim Vergleich der beiden vormittags und nachmittags beprobten Arbeitsflächen ist deutlich zu erkennen, dass an diesem Tag nur die

beiden genannten Antibiotika verwendet wurden. Die Ampicillinbelastung ist am Nachmittag (26 bzw. 19 ng/cm²) auf beiden Flächen deutlich höher als am Vormittag (1,3 bzw. 12 ng/cm²). Im Gegensatz zum Vormittag (8,6 bzw. 25 ng/cm²) zeigte sich bei Cefotaxim am Nachmittag ein unterschiedliches Ergebnis. Während auf Arbeitsfläche 1 eine leichte Zunahme auf 13 ng/cm² zu beobachten ist, war nach der Reinigung und dem normalen Arbeiten im Bereich der Arbeitsfläche 2 dort kein Cefotaxim (< 0,02 ng/cm²) mehr nachweisbar. Am Beispiel des Ampicillins ist die arbeitsbedingt entstehende Oberflächenkontamination sehr gut zu beweisen. Die Cefotaximuntersuchungen machen deutlich, dass im Bereich der Arbeitsfläche 2 am beprobten Tag nicht mehr mit diesem Wirkstoff oder mit Cefotaxim belasteten Materialien gearbeitet wurde.

Insgesamt wurden auf der Normalstation geringere Flächenkonzentrationen der untersuchten Antibiotika nachgewiesen als auf der Intensivstation. Allerdings waren auf der Normalstation anteilig mehr Flächen mit einer vergleichsweise hohen Anzahl verschiedener Antibiotika belastet. Bei beiden Stationen wiesen die für die Zubereitung der Applikationen genutzten Flächen sowohl die höchsten absoluten Belastungen als auch die größte Anzahl verschiedener Wirkstoffe auf.

5.4.3.3 Belastung der Arbeitskleidung

5.4.3.3.1 Intensivstation

Alle 18 von der Intensivstation stammenden Stoffproben waren mit mindestens einer, in der Regel aber mehreren der untersuchten Substanzen belastet. Auf 14 dieser Stoffproben wurden jeweils drei bis fünf verschiedene Wirkstoffe nachgewiesen. Piperacillin fand sich mit einer Ausnahme auf allen, Cefotaxim, Sulfamethoxazol und Cefuroxim auf der Mehrzahl der getragenen Stoffstücke. Die Substanzen Amoxicillin, Cefazolin, Cefotiam, Chloramphenicol, Ofloxacin, Penicillin G und Vancomycin wurden dagegen nicht detektiert.

Die in Abbildung 5-13 dargestellten Analyseergebnisse erreichten Spitzenwerte von 288.000 ng/Stoffprobe entsprechend 970 ng/cm². Von den nachweisbaren Antibiotika wurden nur drei Substanzen von insgesamt vier Mitarbeitern eingesetzt (Zubereitung

und/oder Applikation). Es lässt sich in diesen Fällen durchweg eine klare Korrelation zu den auf den Stoffproben gefundenen Konzentrationen nachweisen, d. h. der Umgang mit diesen Substanzen führte zu Spitzenbelastungen, die jeweils um mehrere Zehnerpotenzen über den Werten liegen, die bei Mitarbeitern ohne intensiveren Kontakt zu Reinsubstanzen bzw. Applikationen gefunden wurden (19.000-288.0000 ng pro Stoffprobe gegenüber 10 – 820 ng pro Stoffprobe).

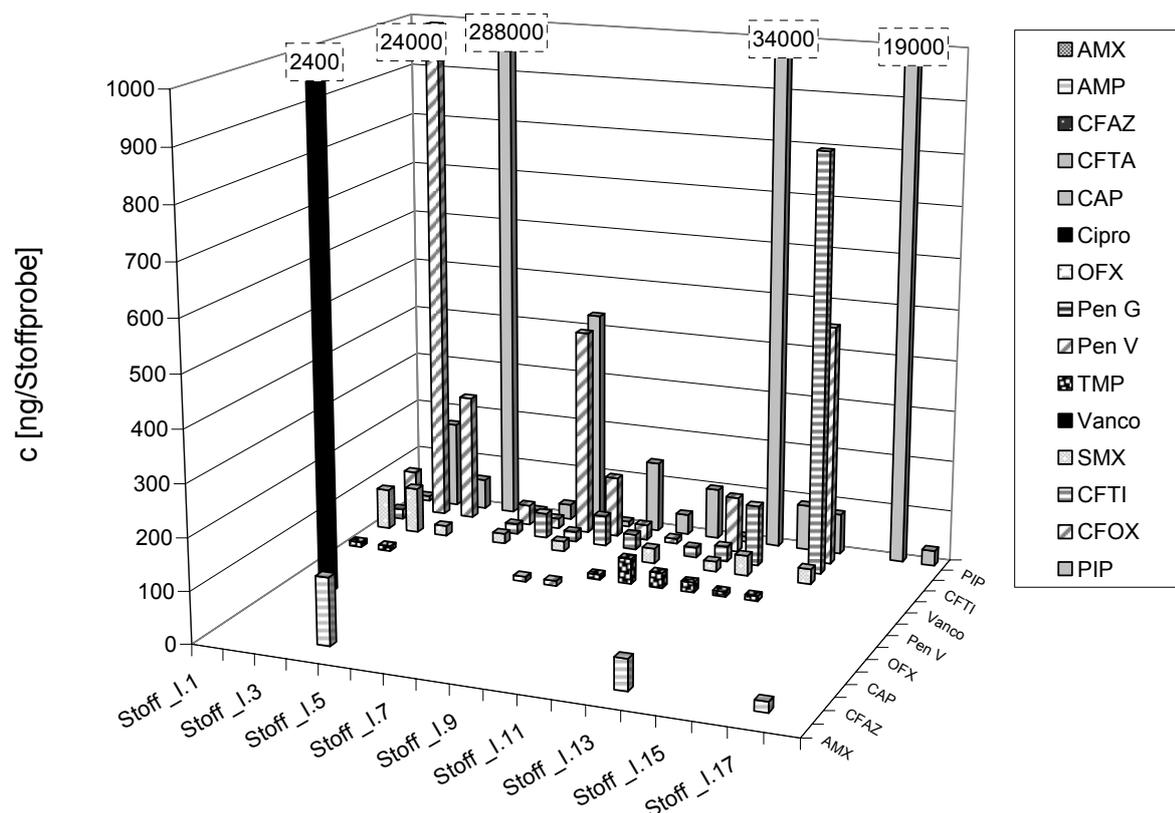


Abbildung 5-13: Belastung der Stoffproben auf der Intensivstation.

Sieben Mitarbeiter hatten im Untersuchungszeitraum ausschließlich andere als die hier untersuchten Antibiotika zubereitet bzw. appliziert. Fünf weitere waren laut Angaben nicht mit der Zubereitung und Verabreichung von Applikationen, sondern lediglich mit der Patientenpflege, Büro- und Reinigungsarbeiten oder administrativen Tätigkeiten befasst. Die von diesen Personen getragenen Stoffstücke weisen dennoch durchweg Belastungen mit bis zu sechs Wirkstoffen auf, so dass generell von einer arbeitsbedingten Exposition gegenüber Antibiotika auszugehen ist.

5.4.3.3.2 Normalstation

Wie in Abbildung 5-14 zu erkennen ist, waren auch die fünf untersuchten Stoffproben der Normalstation mit jeweils fünf bzw. sechs verschiedenen Antibiotika belastet. Die Substanzen Ampicillin, Cefotaxim, Sulfamethoxazol und Trimethoprim wurden auf allen, Piperacillin auf vier und Vancomycin auf zwei Proben gefunden. Alle übrigen analysierten Verbindungen waren nicht nachweisbar. Die Höchstwerte liegen mit 400.000 ng Ampicillin und 210.000 ng Cefotaxim pro Stoffstück - entsprechend 1.800 und 900 ng/cm² - im Bereich der auch auf der Intensivstation gefundenen Belastungen.

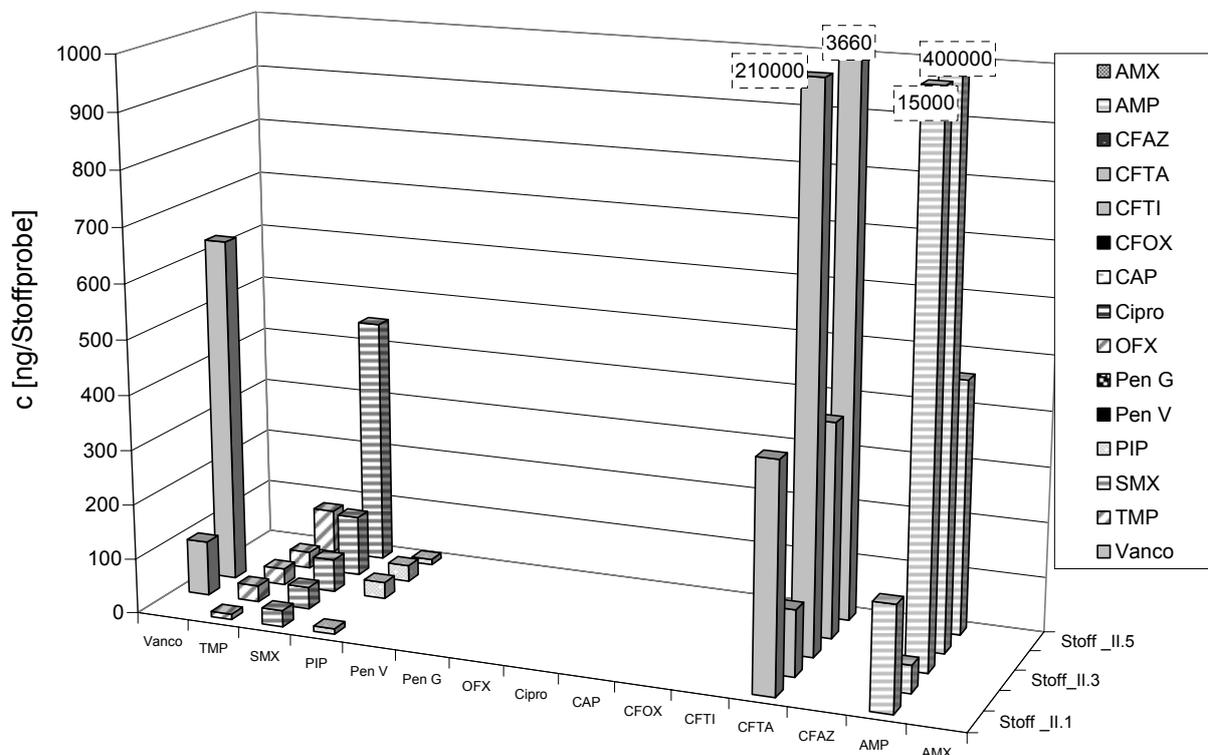


Abbildung 5-14: Belastung der Stoffproben auf der Normalstation.

Von den untersuchten und nachgewiesenen Antibiotika wurden auf der Station Ampicillin und Cefotaxim im Untersuchungszeitraum zubereitet und verabreicht. Die anderen nachgewiesenen Substanzen wurden zwar im Untersuchungszeitraum nicht eingesetzt, sind aber ansonsten auf der Station Standard-Arzneimittel mit einem relativ hohen Einsatzgrad. Bei den Mitarbeitern, die mit dieser Substanz gearbeitet hatten, fanden sich durchweg höhere Belastungen des getragenen Stoffstückes

(3.660 – 210.000 ng/Stoffprobe). Die Belastungen dieser Stoffstücke mit nicht verarbeiteten Substanzen waren mit 10 bis 630 ng pro Stoffprobe im Vergleich dazu durchweg deutlich niedriger. Dies zeigt auch hier wieder einen eindeutigen Zusammenhang zwischen dem direkten Umgang mit den Wirkstoffen und der gefundenen Belastung.

5.4.3.4 Biomonitoring

5.4.3.4.1 Intensivstation

Auf der Intensivstation wurden von 16 der 18 teilnehmenden Mitarbeiter jeweils 1-4 und insgesamt 31 im Untersuchungszeitraum gesammelte Urinproben abgegeben. Die in Abbildung 5-15 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass in sieben der untersuchten Proben jeweils ein Antibiotikum nachgewiesen werden konnte. Es handelt sich dabei um die Substanzen Amoxicillin (3×), Trimethoprim (2×), Piperacillin und Vancomycin.

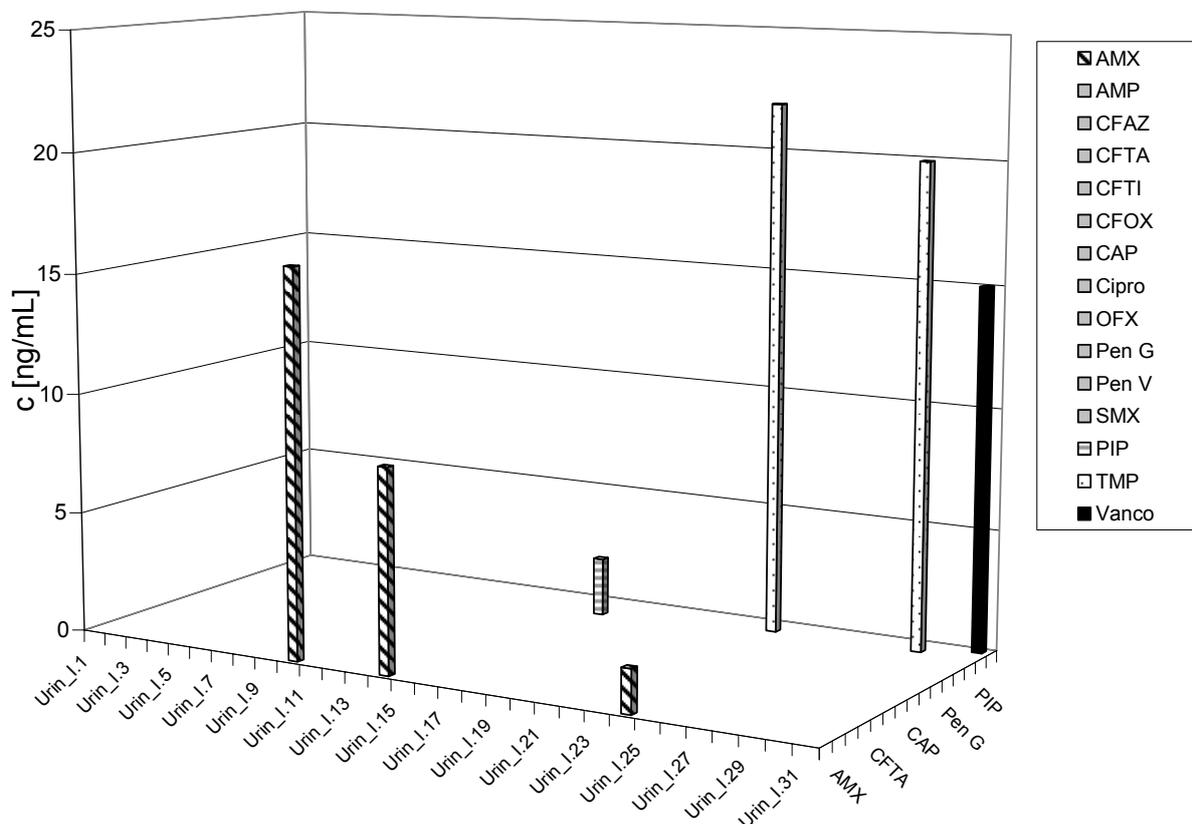


Abbildung 5-15: Belastung der Urinproben auf der Intensivstation.

Alle positiven Urinproben stammen von unterschiedlichen Mitarbeitern. Fünf der sieben Personen hatten weitere Urinproben gesammelt, in denen jedoch keine weiteren Belastungen nachweisbar waren. Die gefundenen Konzentrationen lagen mit 1,8 bis 22 ng/mL im unteren nachweisbaren Bereich. Die in der Summe ausgeschiedenen Mengen lagen bei 1,5 µg, 5,9 µg und 2,4 µg. Von den vier im Urin nachgewiesenen Antibiotika wurde nur das Piperacillin im Untersuchungszeitraum zubereitet und verabreicht. Aufgrund der Oberflächenbefunde ist ein Kontakt zu allen Substanzen allerdings gegeben gewesen, so dass von einer arbeitsbedingten Substanzaufnahme ausgegangen werden kann.

5.4.3.4.2 Normalstation

Auf der Normalstation beteiligten sich fünf Mitarbeiter am Biomonitoring. Sie gaben jeweils ein bis drei Urinproben ab. In drei, von verschiedenen Personen stammenden Proben, wurde jeweils eine der untersuchten Substanzen gefunden. Nachgewiesen wurden die Antibiotika Amoxicillin, Ampicillin und Chloramphenicol in Konzentrationen zwischen 10 und 15 ng/mL (s. Abbildung 5-16).

Die absoluten Werte für die ausgeschiedenen Mengen lagen zwischen 0,3 und 7,8 µg. Von zwei Mitarbeitern standen weitere Urinproben zur Verfügung, die jedoch negativ waren. Von den gefundenen Substanzen wurde nur das Ampicillin von fünf der teilnehmenden Mitarbeiter zubereitet bzw. appliziert.

Zwischen den Ergebnissen des durchgeführten biologischen Belastungsmonitorings und der erfragten Expositionssituation der jeweiligen Mitarbeiter lässt sich keine eindeutige Korrelation feststellen wie bei der Kontamination der Kleidung. Von den hier detektierten Substanzen wurden nur Ampicillin und Piperacillin auch im Untersuchungszeitraum zubereitet und appliziert. Die Mehrzahl der im Urin nachgewiesenen Substanzen wurde jedoch auch auf den Flächen und/oder Stoffproben gefunden.

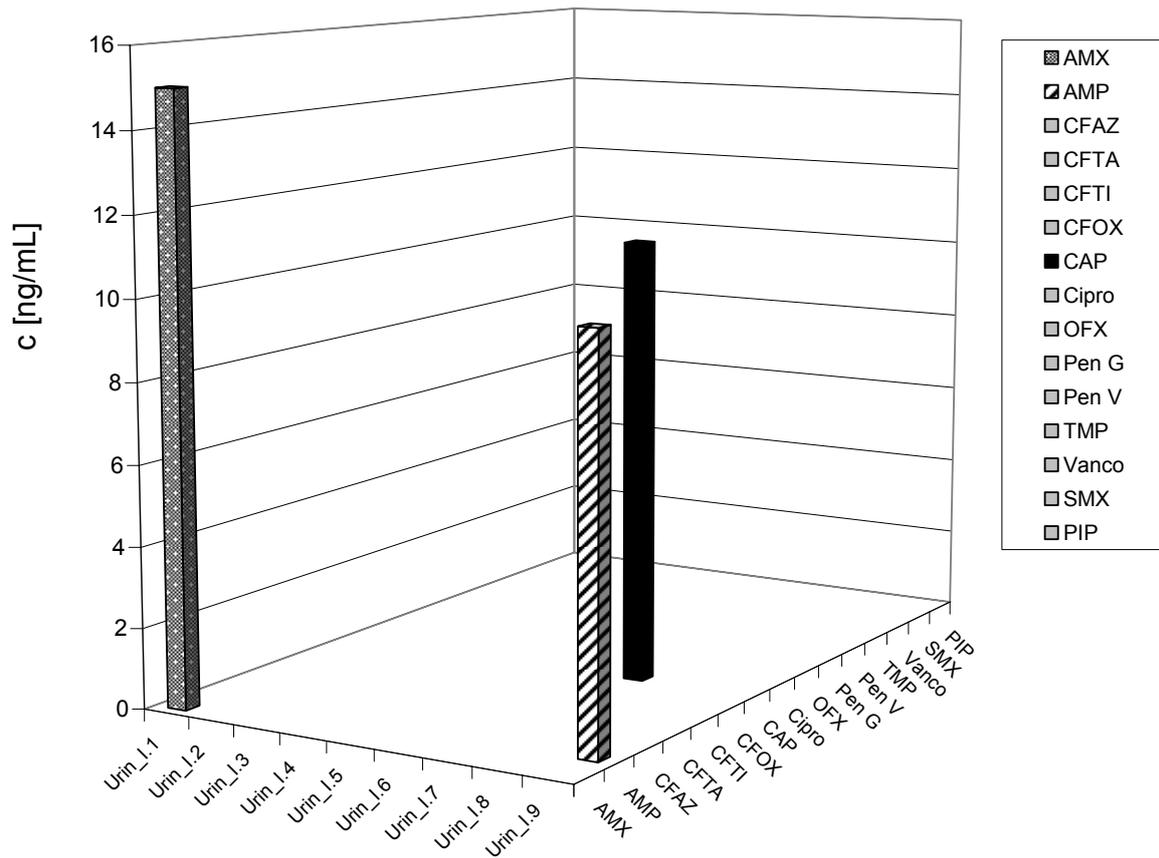


Abbildung 5-16: Belastung der Urinproben auf der Normalstation.

Überraschend ist der Nachweis von Chloramphenicol, das im Umgebungsmonitoring nicht detektiert und auch in den Tagen vor der Untersuchung nicht eingesetzt wurde. Eine arbeitsbedingte Aufnahme erscheint daher unwahrscheinlich. Hier ist auch eine Aufnahme über die Nahrung durch belastetes Kalbfleisch oder Schrimps aus Südostasien prinzipiell denkbar. Diese Annahme wird unterstützt durch die zu diesem Zeitpunkt in der Presse veröffentlichten Lebensmittelskandale. Da die Proben anonymisiert wurden, konnte im Nachhinein keine entsprechende Korrelation zwischen Nahrungsaufnahme und Urinbelastung stattfinden. Auch in der Literatur sind hierzu bislang ebenfalls keine Daten zu finden.

Angeht es um die für die meisten Antibiotika kurzen pharmakokinetischen Halbwertszeiten und der Tatsache, dass in den zuvor bzw. danach abgegebenen Urinproben derselben Person keine Belastungen nachweisbar waren, ist ein Zusammenhang zwischen Arbeitsplatzexposition und positiven Befund jedoch wahrscheinlich.

Insgesamt ist ein Zurückrechnen auf die aufgenommenen Mengen aufgrund der fehlenden Kenntnis des Aufnahmepfades (oral, dermal, inhalativ oder über Schleimhäute) und damit der Resorptionsrate kaum möglich. Des Weiteren wurden die Daten zur Bioverfügbarkeit und renalen Ausscheidung der Arzneimittelwirkstoffe nur für den pharmazeutisch relevanten Konzentrationsbereich und nicht für den hier vorliegenden subtherapeutischen Bereich ermittelt. Bei den meisten Untersuchungen (z. B. beim Biomonitoring von Zytostatika) wird allerdings von einer ähnlichen Pharmakokinetik ausgegangen.

5.4.4 Zusammenfassende Bewertung und Fazit

Die erstmalig durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass unter den gegenwärtigen Arbeitsbedingungen ein hoher Prozentsatz der Arbeitsflächen ebenso wie die Arbeitskleidung der Beschäftigten mit Antibiotika belastet ist. Eine Korrelation zwischen den gefundenen Belastungen und den Angaben zu Art und Menge der verarbeiteten Substanzen und der Tätigkeit der einzelnen Person ist erkennbar. Die im Untersuchungszeitraum zubereiteten bzw. applizierten Substanzen wurden häufig und in vergleichsweise hohen Konzentrationen gefunden. Zusätzlich zu den am gleichen Tag verarbeiteten Substanzen konnten insbesondere auf Flächen und Textilien eine Vielzahl weiterer Antibiotika nachgewiesen werden. Die Diskussion der Ergebnisse mit dem Stationspersonal ergab, dass fast alle weiteren gefundenen Stoffe im jeweiligen Bereich regelmäßig eingesetzt werden. In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage nach weiteren indirekten Kontaminationspfaden und –mechanismen aber auch nach der Effektivität der derzeitigen Flächenreinigungsverfahren. Insbesondere die vielfachen Befunde von „Altkontaminationen“ macht die Notwendigkeit zur Verbesserung der Reinigungsverfahren deutlich.

Eine innere Exposition der Beschäftigten ist nachweisbar. Die Konzentrationen liegen jedoch im unteren ng/mL-Bereich und damit um mindestens eine Größenordnung unter den auf Flächen und Stoffproben gefundenen Werten. Auch die Anzahl verschiedener Antibiotika, die beim Biomonitoring nachgewiesen wurde, ist deutlich

niedriger. Eine Belastung mit mehreren Substanzen, wie bei der Mehrzahl der Flächen und Textilproben, wurde in keinem Fall beobachtet.

Der Vergleich der Ergebnisse für die beiden untersuchten Stationen zeigt nur wenig signifikante Unterschiede. Insbesondere das Verhältnis belasteter zu unbelasteten Proben ist bei allen Teiluntersuchungen für beide Stationen fast identisch.

In Tabelle 5-13 sind die personenbezogenen Untersuchungsergebnisse, d. h. die im Untersuchungszeitraum zubereiteten bzw. applizierten Substanzen und die Belastungen der Stoff- und Urinproben der jeweiligen Person einander gegenübergestellt. Dieser Vergleich zeigt, dass insbesondere bei den Belastungen der Arbeitskleidung, indirekt bestimmt auf den getragenen Stoffstücken, ein deutlicher Zusammenhang mit den verrichteten Tätigkeiten besteht. Bei der inneren Belastung, erfasst über die renale Ausscheidung, sind dagegen nur selten Zusammenhänge erkennbar.

Tabelle 5-13: Gegenüberstellung der Expositions- und Belastungssituation der 24 Studienteilnehmer

Nr.	Exposition ¹	Arbeitskleidung	Urin
1	keine	Cefotaxim, Cefuroxim, Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim	n.n.
2	Cefuroxim, Ciprofloxacin	Cefuroxim, Ciprofloxacin , Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim	n.n.
3	Sonstige ²	Cefuroxim, Piperacillin, Sulfamethoxazol	n.b.
4	Piperacillin	Ampicillin, Piperacillin	Amoxicillin
5	Sonstige ²	Cefuroxim, Cefotaxim, Piperacillin, Sulfamethoxazol	n.n.
6	Keine	Cefuroxim, Cefotaxim, Piperacillin, Vancomycin	n.n.
7	Keine	Cefuroxim, Cefotaxim, Penicillin V, Piperacillin, Sulfamethoxazol	Amoxicillin
8	Keine	Cefuroxim, Cefotaxim, Penicillin V, Piperacillin , Sulfamethoxazol, Vancomycin	Piperacillin
9	Sonstige ²	Cefuroxim, Cefotaxim, Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim	n.n.
10	Sonstige ²	Cefuroxim, Cefotaxim, Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim	n.b.
11	Sonstige ²	Cefotaxim, Penicillin V, Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim	Trimethoprim

Nr.	Exposition ¹	Arbeitskleidung	Urin
12	k.A.	Cefuroxim, Cefotaxim, Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim	Amoxicillin
13	Piperacillin	Ampicillin, Cefotaxim, Piperacillin , Sulfamethoxazol, Trimethoprim	n.n.
14	Sonstige ²	Cefotaxim, Piperacillin, Trimethoprim	n.n.
15	Sonstige ²	Cefuroxim, Cefotaxim, Piperacillin, Sulfamethoxazol	Trimethoprim
16	Keine	Cefotaxim	n.b.
17	Piperacillin	Ampicillin, Piperacillin	n.n.
18	Keine	Cefotaxim, Piperacillin	Vancomycin
19	Ampicillin, Cefotaxim	Ampicillin, Cefotaxim , Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim	Amoxicillin
20	Ampicillin, Cefotaxim	n.b.	n.b.
21	Keine	Ampicillin, Cefotaxim, Sulfamethoxazol, Trimethoprim, Vancomycin	n.n.
22	Ampicillin, Cefotaxim	Ampicillin, Cefotaxim , Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim, Vancomycin	<i>Chloramphenicol</i>
23	Ampicillin	Ampicillin , Cefotaxim, Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim, Vancomycin	n.n.
24	Ampicillin, Cefotaxim	Ampicillin, Cefotaxim , Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim, Vancomycin	Ampicillin

¹ zubereitete und/oder applizierte Substanzen.

² Sonstige, mit den zum Studienzeitpunkt zur Verfügung stehenden Verfahren nicht nachweisbare, Antibiotika.

k.A.: keine Angaben

n.n.: nicht nachweisbar (< Nachweisgrenze)

n.b.: nicht bestimmt (keine Textil bzw. Urinproben abgegeben)

Insgesamt liegen die gefundenen Werte in der Größenordnung von Untersuchungen beim Zytostatikamonitoring (s. Kapitel 2.3 und 5.5.7). Allerdings ist insbesondere bei den Flächen und Textilien, aber auch bei den Urinproben, der Anteil positiver Befunde deutlich höher. Hier spiegeln sich insbesondere die sehr viel höheren Verbrauchsmengen und der geringe Einsatz persönlicher und technischer Schutzausrüstung wieder.

Abbildung 5-17 zeigt zusammenfassend die anteilig belasteten Proben der verschiedenen Untersuchungen.

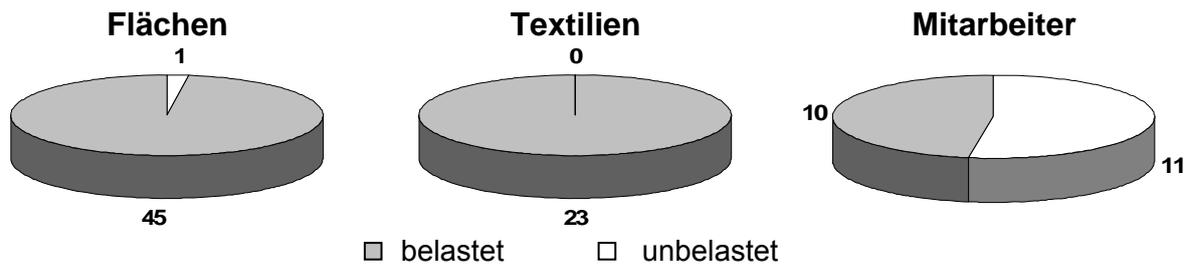


Abbildung 5-17: Zusammenfassung der Belastungssituation beim Umgebungs- und Biomonitoring in einem Nordrhein-Westfälischen Krankenhaus.

Neben den oben erwähnten Einschränkungen durch die analytischen Möglichkeiten und die Art der im Untersuchungszeitraum eingesetzten Antibiotika ist bei derartigen, im Routinebetrieb durchgeführten Studien zu beachten, dass die Ergebnisse immer nur eine Momentaufnahme darstellen. So lagen Anzahl und Menge der verarbeiteten Antibiotika auf der Normalstation nach Angaben der Verantwortlichen deutlich unter den dort üblichen Durchschnittswerten. Die vorliegenden Ergebnisse sind als Einzelbefunde zu sehen, die zunächst keine Verallgemeinerung erlauben. Eine toxikologische Bewertung dieser Ergebnisse im Sinne einer Abschätzung eventueller gesundheitlicher Risiken ist derzeit nicht möglich. Insbesondere vor dem Hintergrund zunehmender Antibiotikaresistenzen sollten Untersuchungen zur Aufklärung von Zusammenhängen zwischen der Entstehung von Resistenzen und eingesetzten Reinigungs- und Hygienemaßnahmen sowie Antibiotika-Oberflächenbelastungen durchgeführt werden. Unter dem Arbeitsschutzgesichtspunkt ist eine arbeitsbedingte Belastung der Mitarbeiter zu vermeiden. Neben der Resistenzproblematik stellen Allergien ein erhebliches Gefährdungspotential für die Beschäftigten im Gesundheitswesen dar.

5.5 Umgebungsmonitoring zum Nachweis von Zytostatika auf unterschiedlichen Oberflächen

5.5.1 Einleitung

Die zusammenfassende Darstellung der bisher durchgeführten Analyseverfahren zur Bestimmung von Zytostatika beim Umgebungsmonitoring in den Kapiteln 2.2.3 und 2.3.2 zeigt, dass insbesondere die Entwicklung von Multimethoden als auch die Validierung der einzelnen Verfahrensschritte notwendig ist. Entsprechend der in Kapitel 5.2 getroffenen Substanzauswahl wird im Folgenden eine Multimethode für die Zytostatika 5-Fluorouracil, Chlorambucil, Cyclophosphamid, Cytarabin, Etoposid, Ifosfamid und Methotrexat entwickelt.

5.5.2 Materialauswahl zur Probenahme

Je nach Fragestellung werden in der Literatur zur Wischprobenahme unterschiedliche Materialien verwendet. Neben Watte können dies gefaltete Filterpapiere oder handelsübliche Reinigungstücher sein. Beim Zytostatikamonitoring werden i. d. R. Filterpapiere oder Reinigungstücher verwendet [12, 36, 38, 39, 457]. Nachteilig bei Filterpapieren ist deren geringe Benetzbarkeit, so dass mit diesen meistens nur kleine Flächen von 100 bis maximal 400 cm² beprobt werden können. Da Wischtücher ein höheres Flüssigkeitsvolumen aufnehmen können, sind mit diesen auch Probenahmen bis zu Flächengrößen von 2500 cm² möglich. Zur Evaluierung geeigneter Probenahmematerialien wurden unterschiedliche Materialien auf ihre Eignung hin untersucht. In Abbildung 5-18 sind die Wiederfindungsraten mit Standardabweichungen einer Dreifachbestimmung von Zytostatika auf dotierten Metalloberflächen (200 cm²) dargestellt. Zur Probenahme wurde eine verdünnte HCl-Lösung (pH 3) verwendet. Die Extraktion erfolgte jeweils mit VE-Wasser.

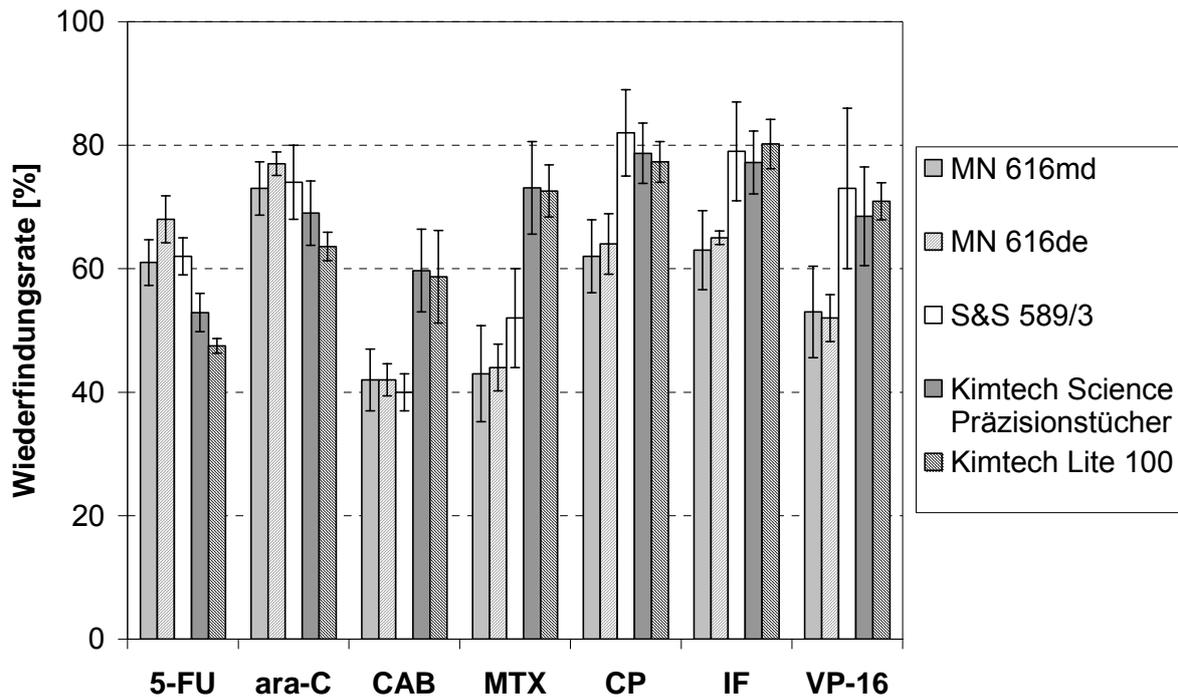


Abbildung 5-18: Wiederfindungsraten von Zytostatika auf dotierten Metalloberflächen bei der Probenahme mit unterschiedlichen Wischmaterialien.

Die beiden Kimberley-Clark - Wischtücher (Kimtech Science Präzisionstücher und Kimtech Lite 100) verhalten sich sehr ähnlich. Beim Vergleich der Wiederfindungsraten zeigt sich, dass bei den polaren Verbindungen 5-FU und Cytarabin die Filterpapiere etwas besser abschneiden und bei den unpolaren Verbindungen die Wischtücher sowie das Filterpapier von Schleicher & Schuell. Ausschlaggebend für die Auswahl der Kimtech Lite 100 Wischtücher sind die wesentlich besseren Wiederfindungsraten bei Chlorambucil und MTX, das subjektiv beste Handling bei der Probenahme und der Möglichkeit aufgrund des größeren Tuchs auch größere Flächen von bis zu 2500 cm² zu beproben. Bei Wiederfindungsraten zwischen 52 % und 83 % liegen die relativen Standardabweichungen mit 12 % lediglich beim Chlorambucil über 10 %, bei allen anderen Zytostatika liegt diese unter 7 %.

5.5.3 Auswahl des Probenahmelösungsmittels

Im Gegensatz zu Einzelkomponentenmethoden ist bei der Entwicklung einer Multi-komponentenmethode darauf zu achten, dass ein guter Kompromiss zwischen Wiederfindungsrate und Reproduzierbarkeit für alle Substanzen erzielt wird. Da der Versand von organischen Lösungsmitteln problematisch ist, soll bei der Probenahme auf Essigsäureethylester, Methanol oder andere organische Lösungsmittel möglichst verzichtet werden. Für die Probenahme von Antibiotika hat sich VE-Wasser bewährt (s. Kapitel 5.3 und 5.4). Für Cyclophosphamid ist die Probenahme mit alkalischen Lösungen beschrieben [12]. Für die in dieser Arbeit nicht betrachteten Platin-Zytostatika ist eine saure Probenahme beschrieben [27]. Zur Evaluierung eines geeigneten wässrigen Lösungsmittels bei der Probenahme wurden pH abhängige Untersuchungen mit verdünnter NaOH-Lösung (pH 9), VE-Wasser (pH ~ 6,5) und verdünnter HCl-Lösung (pH 3) durchgeführt. In der folgenden Abbildung 5-19 sind die Wiederfindungsraten mit Standardabweichungen der Dreifachbestimmung der Zytostatika von dotierten Metalloberflächen dargestellt. Die Extraktion erfolgte jeweils mit VE-Wasser.

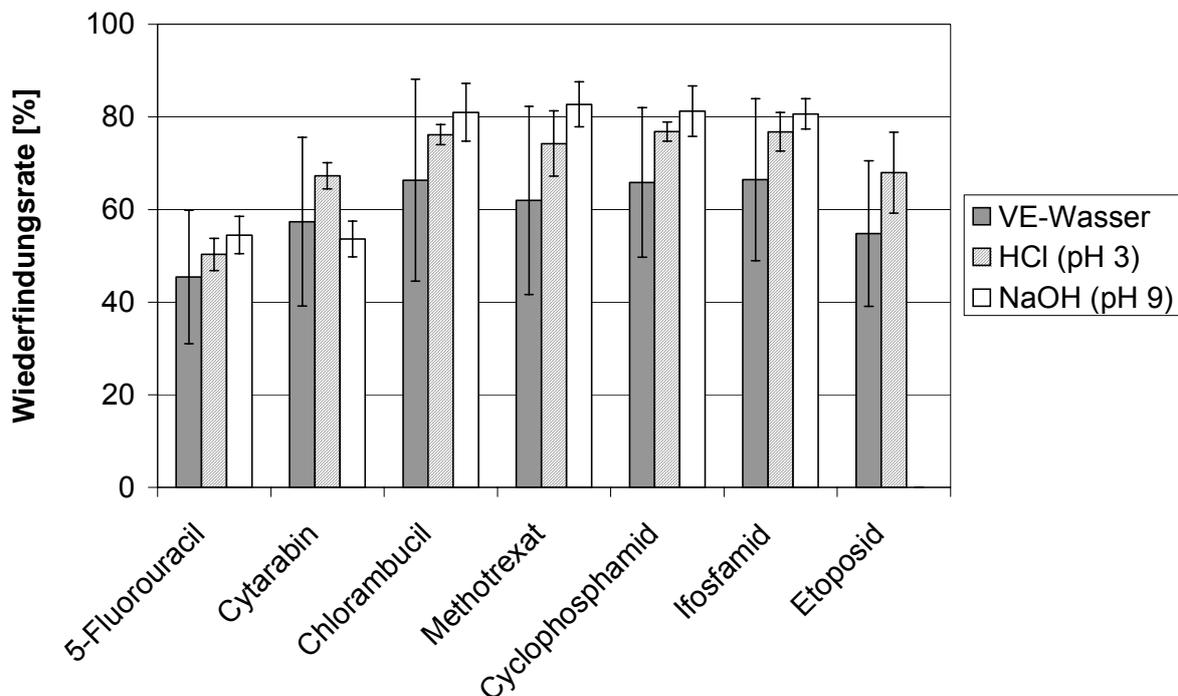


Abbildung 5-19: Einfluss der Probenahmelösung.

Die Reproduzierbarkeiten sind sowohl im Sauren als auch im Alkalischen besser als bei der Verwendung von VE-Wasser. Für viele Verbindungen ist die alkalische Probenahmelösung am besten geeignet. Da das unpolarere Etoposid unter diesen Bedingungen nicht bestimmt werden kann, wird für die weiteren Untersuchungen die saure Probenahmelösung ausgewählt.

5.5.4 Flächenvergleich

Die in den beiden vorangegangenen Kapiteln dargestellten Untersuchungen wurden auf Metalloberflächen durchgeführt. Da dieser Werkstoff zumeist nur in den zur Zubereitung verwendeten LAF-Werkbänken und in seltenen Fällen auch auf den Arbeitsoberflächen der Apotheken vorkommt, wurden die in Abbildung 5-20 dargestellten Validierungsexperimenten für typische Oberflächen in Apotheken und auf Stationen durchgeführt.

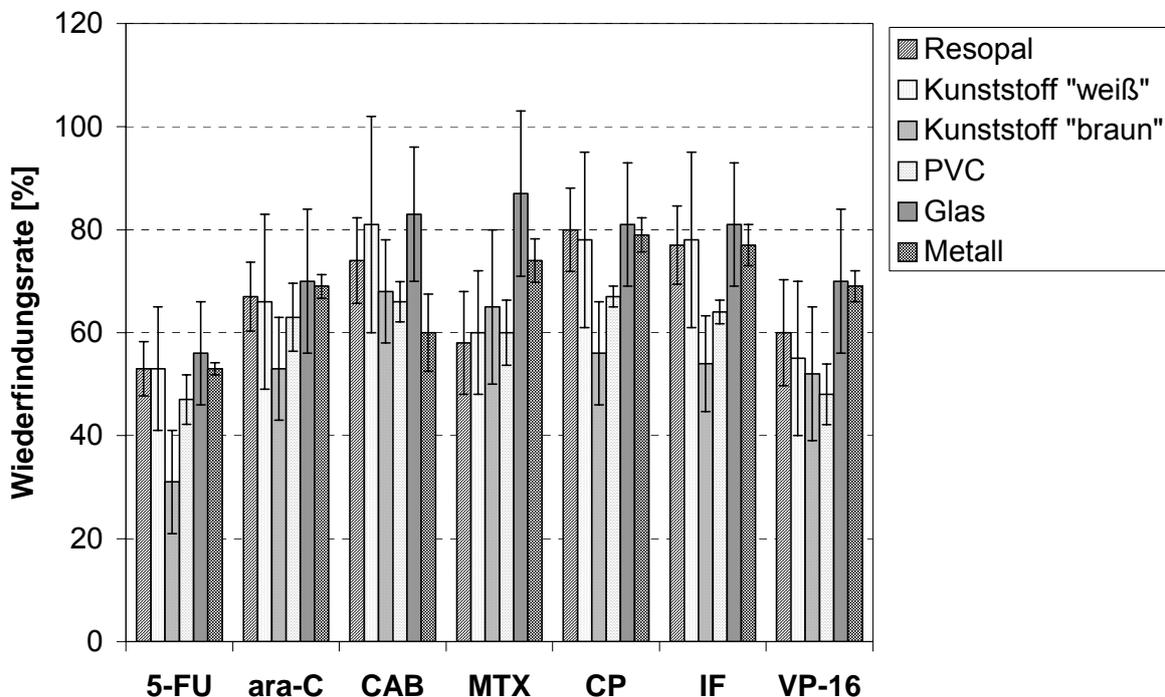


Abbildung 5-20: Einfluss der beprobten Fläche auf die Wiederfindungsrate bei der Zytostatika-Probenahme.

Der Vergleich zeigt, dass bis auf die „braune“ Kunststoffoberfläche die Wiederfindungsraten bei den unterschiedlichen Flächen in einem ähnlichen Bereich lagen. Allerdings sind bei den rauen Kunststoff- und Resopal-Oberflächen größere Standardabweichungen zu beobachten. Da die Probenahme aus Kostengründen in den meisten Fällen von den Apothekern oder PTAs selbst durchgeführt wird, ist neben dem Flächeneinfluss sicherlich auch noch der Einfluss des Probenehmers zu beachten. Insgesamt zeigt dieses Beispiel, dass die größten Einflussfaktoren und Unsicherheiten bei der Probenahme festzustellen sind. Aus diesem Grund ist eine einfache und eindeutige Arbeitsanweisung (SOP) zur erfolgreichen Durchführung einer Monitoring-Untersuchung sehr wichtig. Im Anhang (Kapitel 6.3.2) sind das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Probenahmeset zusammen mit der Arbeitsanweisung dargestellt.

Anhand der in Kapitel 5.5.7 dargestellten eigenen Messwerte und dem Vergleich mit Messwerten anderer Arbeiten [12, 14, 15, 27, 29, 34, 277, 285, 306, 458-460] ist feststellbar, dass ähnlich wie bei den in dieser Arbeit untersuchten Antibiotika auch Zytostatikakontaminationen über mehrere Dekaden variieren. Dies macht deutlich, dass mit dem entwickelten Probenahmeverfahren auch ein Vergleich der Belastungssituation unterschiedlicher Oberflächen möglich ist. Selbst eine für den ungünstigsten Fall angenommene Messunsicherheit von 50 % hat nur bei wenigen Werten einen Einfluss auf die Bewertung der Belastungssituation in unterschiedlichen Apotheken oder Stationen. Zur Validierung von Reinigungsverfahren, wie es in den Niederlanden seit 2002 vorgeschrieben ist [461], muss der Flächeneinfluss bei der Ergebnisbewertung allerdings berücksichtigt werden.

5.5.5 Validierung des Extraktionsverfahrens

Die vorangegangenen Untersuchungen haben den Einfluss des pH Wertes auf die Substanzstabilität sowie die Wiederfindungsraten gezeigt. Zur Optimierung des Extraktionsverfahrens wurden die in Abbildung 5-21 dargestellten pH abhängige Untersuchungen mit VE-Wasser, verdünnter HCl bei pH 3 und 1 mol/L HCl in 50 mL PE-Tubes und 100 mL Urinbechern durchgeführt. Dabei wurden drei dotierte Kimwipe Lite 100 Wischtücher mit jeweils 30 mL Lösungsmittel versetzt und 15 Minuten im Ultraschallbad extrahiert.

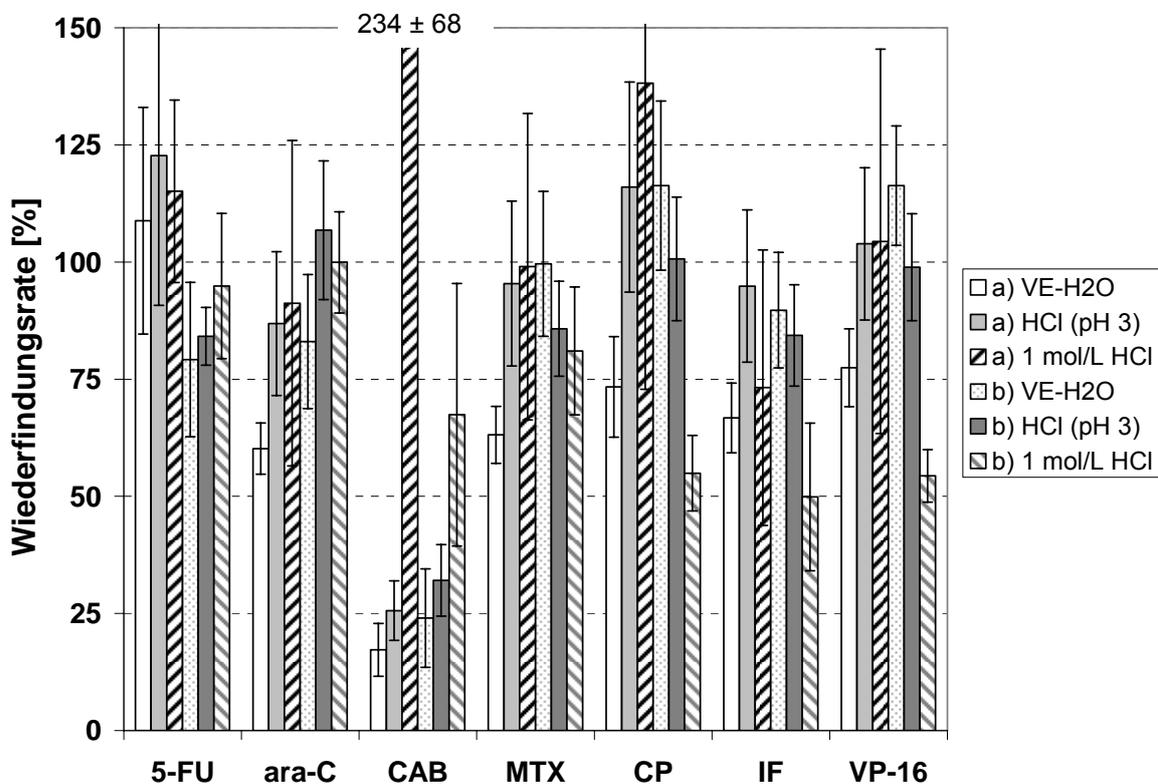


Abbildung 5-21: Optimierung des Extraktionsverfahrens in Urinbechern (a) und PE-Tubes (b).

c = 91ng/mL, n = 3.

Die Auswertung in Abbildung 5-21 zeigt, dass wie zur Probenahme auch zur Extraktion eine salzsaure Lösung bei pH 3 am besten geeignet ist. Bei der Extraktion in den Urinbechern sind sowohl die Wiederfindungsraten als auch die Standardabweichungen besser. Der Grund hierfür liegt wahrscheinlich in der besseren Verteilung des Lösungsmittels. In den PE-Tubes sind die Wischtücher

aufgrund des schmalen Innendurchmessers von 30 mm stärker zusammengepresst als in den Urinbechern mit einem ID von 45 mm. Die relativen Standardabweichungen mit der pH 3 Lösung liegen mit 16 bis 26 % deutlich schlechter als bei der Verwendung der Urinbecher (RSD: 7-14 %, Chlorambucil: 24 %). Im Vergleich zu den in den vorangegangenen Kapiteln dargestellten Experimenten fallen die Wiederfindungsraten für Chlorambucil auf. Nur bei Verwendung der einmolaren HCl-Lösung im Urinbecher werden die erwarteten Ergebnisse erzielt. Bei VE-Wasser und pH 3 sind die Wiederfindungsraten viel zu niedrig und bei 1 mol/L HCl im PE-Tube sind die Werte mit 234 ± 68 % viel zu hoch. Anhand dieses sehr hohen Wertes kann allerdings die Ursache für die schlechten Chlorambucil-Werte eingegrenzt werden. Bei Chlorambucil wird nicht wie bei den anderen Substanzen das protonierte oder deprotonierte Quasimolekülion in Q₁ selektiert, sondern bei beiden MRM-Übergängen das Hydrolyseprodukt nach Abspaltung beider Chloratome als Vorläuferion ausgewählt. Vermutlich wurde bei der Herstellung der Standardlösung zur Dotierung als auch Kalibrierung ein zu frischer Standard eingesetzt, bei dem die Hydrolyse noch nicht vollständig abgeschlossen war. Durch Zusatz der starken Säure erfolgte die Hydrolyse des Chlorambucils in der Probe, nicht aber bei der zur Kalibration eingesetzten Standardlösung. Zur Bewertung der Versuchsergebnisse wurde Chlorambucil aus diesem Grund nicht herangezogen.

Mit dem ausgewählten Extraktionsverfahren (pH 3 Lösung im 90 mL Urinbecher) wurden Wiederholungsuntersuchungen bei drei unterschiedlichen Konzentrationen durchgeführt. Bei dem in Abbildung 5-22 dargestellten Ergebnissen liegen die Wiederfindungsraten von Chlorambucil als auch den anderen Zytostatika bei relativen Standardabweichungen von 7,2 bis 15 % zwischen 77 und 99 %. Dies zeigt, dass die entwickelte Extraktionsmethode zur Untersuchung von Wischproben sehr gut geeignet ist.

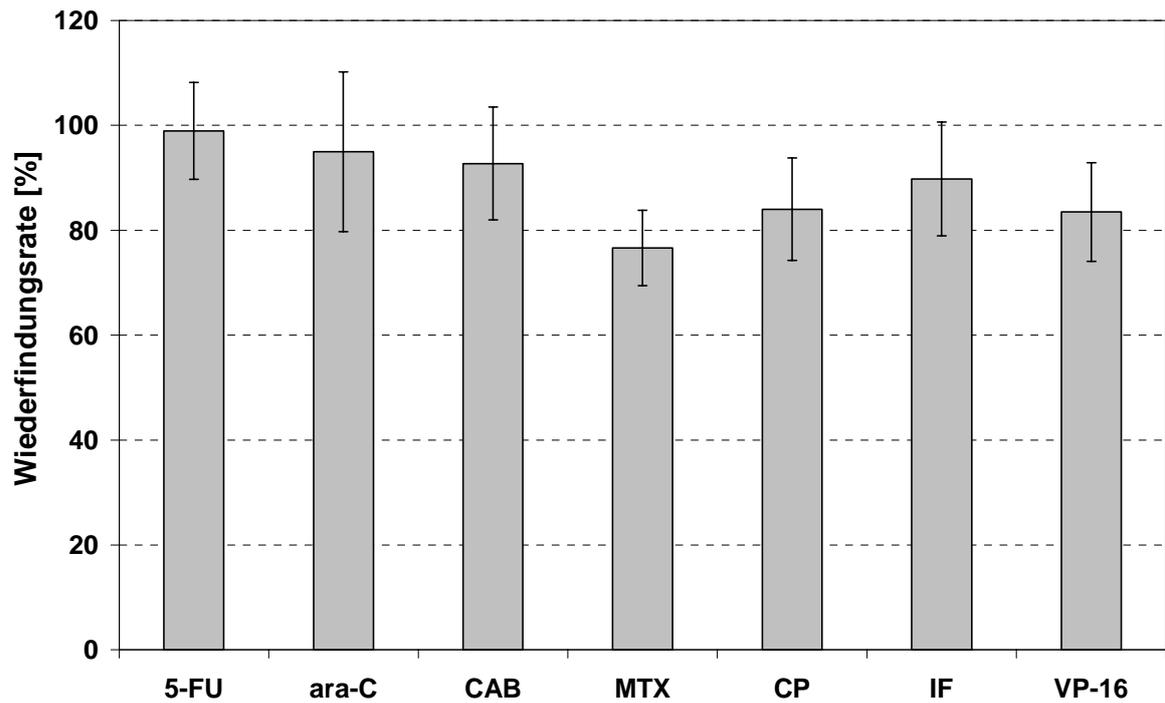


Abbildung 5-22: Konzentrationsunabhängige Wiederfindungsraten des Extraktionsverfahrens im Bereich von 91 bis 455 ng/mL (n=12).

5.5.6 LC-MS/MS - Methode

Die Bestimmung der sieben Zytostatika erfolgte nach Optimierung der chromatographischen und massenspektrometrischen Bedingungen mit einem Wasser-Acetonitril-Gradienten auf einer 125 x 2 mm Nucleodur 100-5 C18ec HPLC-Säule und Elektrosprayionisation mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer. Die detaillierten MS/MS-Messbedingungen sind in Tabelle 5-14 zusammengefasst.

Tabelle 5-14: Optimierte MS/MS-Messbedingungen zur Bestimmung von sieben Zytostatika.

	Q/V ¹	Q ₁ [amu]	Q ₃ [amu]	DP [V]	FP [V]	CE [eV]	CXP [V]	NWG [ng/mL]
5-FU	Q	129	42	-50	-350	-28	-5	1
	V	129	59	-50	-350	-28	-5	
ara-C	Q	244	112	16	120	19	8	0,4
	V	244	95	16	120	59	8	
CAB*	Q	266	248	-31	-190	-26	-17	2
	V	266	194	-31	-190	-28	-17	
MTX	Q	453	324	-56	-300	-30	-23	0,1
	V	453	174	-56	-300	-46	-23	
IF	Q	261	92	36	200	37	8	0,1
	V	261	154	36	200	33	10	
CP	Q	261	140	31	60	31	10	0,1
	V	261	233	31	60	23	16	
VP-16	Q	589	229	16	130	21	16	0,1
	V	589	185	16	130	47	12	

* Nach Hydrolyse im wässrigen wird das Dihydrolyseprodukt von Chlorambucil analysiert.

In Abbildung 5-23 ist ein Beispielchromatogramm mit den chromatographischen Details der entwickelten Zytostatika – Methode dargestellt.

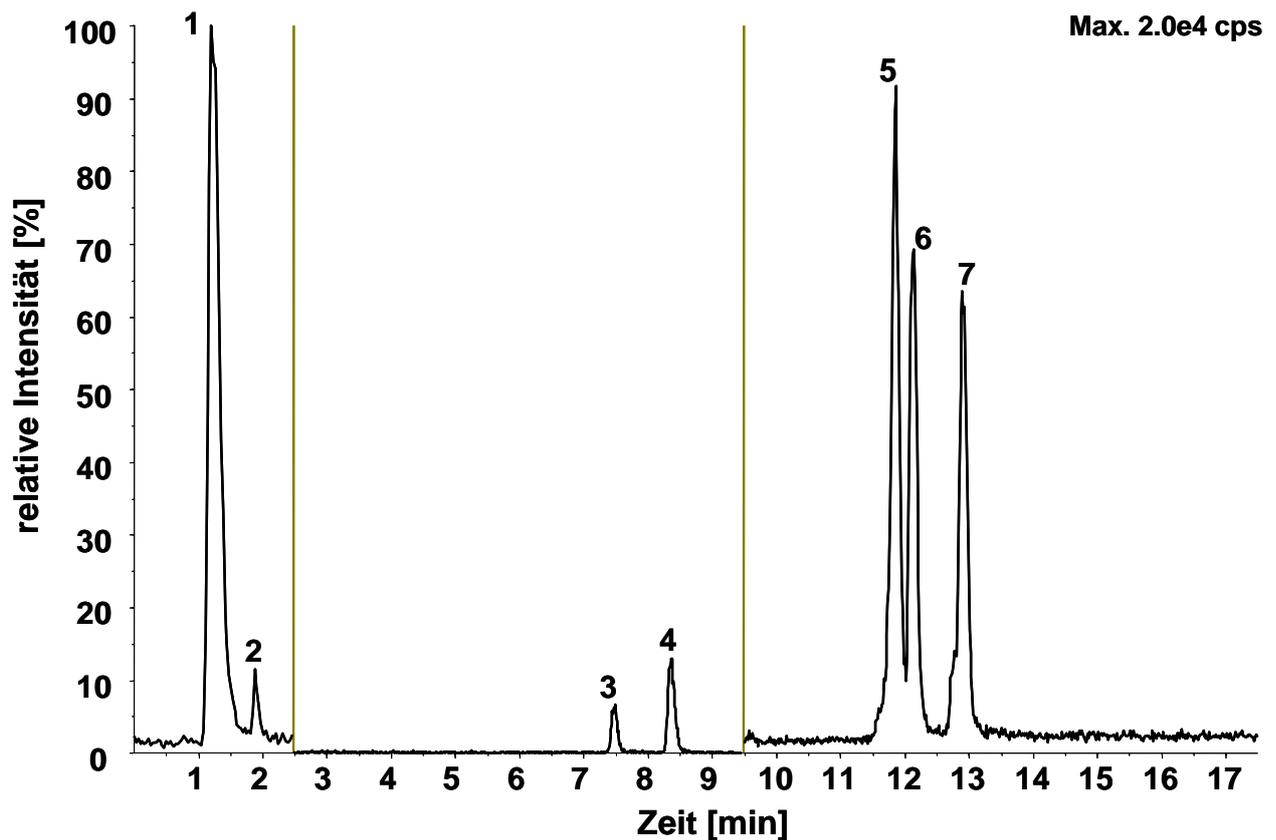


Abbildung 5-23: LC-MS/MS Chromatogramm (TIC) eines Zytostatika-Standards.

$c = 10 \text{ ng/mL}$. 125 x 2 mm Nucleodur 100-5 C18 ec HPLC-Säule. $\vartheta = 30 \text{ }^\circ\text{C}$, Flussrate: 300 $\mu\text{L/min}$.
1. Periode: 0 – 2,5 min, 2. Periode: 2,5 – 9,5 min, 3. Periode: 9,5 – 17,5 min. Gradient: 0-2 min 95 % A, 12 min 50 % A, 15 min 50 % A, 16 min 95 % A, 20 min 95 % A. Mobile Phase A: 0,1 % Ameisensäure in VE-Wasser, Mobile Phase B: 0,1 % Ameisensäure in Acetonitril.

1: Cytarabin, 2: 5-Fluorouracil, 3: Chlorambucil, 4: Methotrexat, 5: Ifosfamid, 6: Cyclophosphamid, 7: Etoposid.

Die Auswertung erfolgt mittels gewichteter Standardkalibrierung (1/x) über die Analyst Software.

5.5.7 Zytostatika – Kontaminationen in Apotheken und Krankenhäusern

Die entwickelte Analysemethode wurde zur Untersuchung von Flächenkontaminationen in Apotheken und Kliniken eingesetzt. Zwischen 2002 und 2006 wurden insgesamt 714 Wischproben mittels LC-MS/MS untersucht. Je nach Fragestellung erfolgte allerdings nicht die Messung und Auswertung aller sieben Zytostatika. Zur Bewertung der einzelnen Messwerte und ggf. als Grundlage zur Bildung von Orientierungswerten werden in Tabelle 5-15 und Abbildung 5-24 die 2644 Einzelmesswerte ohne Berücksichtigung der Probenahmeorte zusammengefasst. Proben ohne definierte Flächenangabe, wie z. B. Türklinken, Telefonhörer usw. wurden bei dieser Auswertung nicht berücksichtigt. Bei der Berechnung der Percentile wurden negative Proben auf den Wert 0 gesetzt.

Tabelle 5-15: Statistische Auswertung der Zytostatikaanalysen.

	5-FU	IF	CP	VP-16	MTX	ara-C	CAB	Σ
n	588	561	487	380	332	139	157	2644
pos.	121	81	143	20	25	14	0	404
max. [ng/cm ²]	796	130	120	0,28	14	0,080	-	796*
95. Perc. [ng/cm ²]	0,517	0,047	0,379	0,000	0,060	0,022	-	0,159*
90. Perc. [ng/cm ²]	0,180	0,024	0,100	-	-	0,002	-	0,028*
75. Perc. [ng/cm ²]	-	-	0,001	-	-	-	-	-

* Maximalwert und Percentile einer substanzunabhängigen Betrachtung der 2644 Einzelmesswerte.

Insgesamt sind 15 % der Proben positiv. In Abbildung 5-24 werden die Daten in einer logarithmischen Box-Whisker Darstellung gezeigt. Im Gegensatz zu den Percentilberechnungen in Tabelle 5-15 wurden hier negative Proben mit dem Analysewert der Nachweisgrenze berücksichtigt.

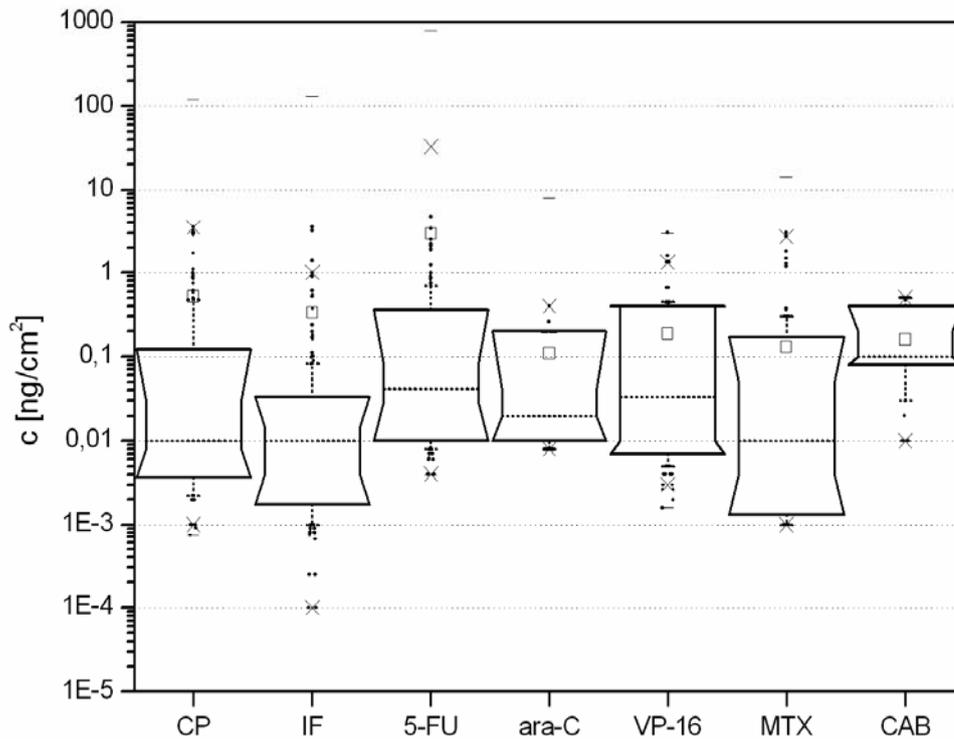


Abbildung 5-24: Box-Whisker-Darstellung der Zytostatika-Messwerte (Wischproben).

Die unteren und oberen Grenzen der Boxen geben den 10. bzw. 90. Perzentil, die Ecken der Einkerbungen den 25. bzw. 75. Perzentil, die Linie innerhalb der Boxen den Median und die Whisker die Grenzen des 5. und 95. Perzentils wieder. Das 99. Perzentil ist als Kreuz und der Maximalwert Linie über den Boxen gekennzeichnet. Die Einzelwerte außerhalb der Boxen sind als Punkte dargestellt.

Bei der statistischen Auswertung sind nur geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Zytostatika feststellbar. Unter Berücksichtigung der Nachweisgrenzen liegt das 95. Perzentil bei allen Substanzen im Bereich von $0,08$ bis $0,7 \text{ ng}/\text{cm}^2$ und das 90. Perzentil zwischen $0,03$ und $0,4 \text{ ng}/\text{cm}^2$. Obwohl alle Untersuchungen negativ waren, liegen die Perzentile für Chlorambucil aufgrund der schlechteren Nachweisgrenzen deutlich höher. Neben der schlechteren Empfindlichkeit ist vor allem die Tatsache, dass Chlorambucil nur noch in Tablettenform appliziert wird, der Grund dafür, dass im Rahmen dieser Arbeit keine Flächenbelastungen nachgewiesen werden konnten. Durch den Wegfall der Zubereitung können Belastungen nur noch durch Schweiß und Erbrochenes bei der Patientenwäsche sowie über die Ausscheidungen auf Toiletten und in Abwässern entstehen. Für

zukünftige Messprogramme ist die Untersuchung auf Chlorambucil aus diesen Gründen nur noch in besonderen Einzelfällen sinnvoll.

Für den Umgang mit Zytostatika gibt es aufgrund fehlender toxikologischer Daten noch keine Referenz- oder Grenzwerte für Flächenkontaminationen. Entsprechend GefStoffV besteht beim Umgang mit CMR-Stoffen die Forderung nach einer Nullexposition der Mitarbeiter, so dass dies bei konsequenter Umsetzung auch zur Forderung nach einer absolut unbelasteten Arbeitsumgebung führt. Da der Begriff „unbelastet“ nicht einem belastbaren Wert zugeordnet werden kann, sollte entsprechend den Vorgaben der GefStoffV in allen Bereichen mit CMR-Stoffen auf eine Minimierung der Belastung durch technische und persönliche Schutzausrüstung sowie intensive Schulung der Mitarbeiter geachtet werden. Der Erfolg dieser Maßnahmen kann durch die in dieser Arbeit entwickelten Methoden zum Umgebungsmonitoring überprüft werden.

Im Fall von unbeabsichtigten Substanzfreisetzungen ist zur Untersuchung von Substanzaufnahmen bei dem betroffenen Mitarbeitern ein Biomonitoring und zur Kontrolle der Reinigungsmaßnahmen ein Umgebungsmonitoring zu empfehlen. Auch hier stellt sich wieder die Frage, ab welcher Belastung eine Oberfläche als gereinigt gilt. Selbst in den Niederlanden, wo seit dem 01.01.2002 die Kontrolle und Validierung von Reinigungsmaßnahmen mit substanzspezifischem Umgebungsmonitoring vorgeschrieben ist, gibt es hierfür noch keine Grenz- oder Richtwerte [461].

Ein anderer Ansatz ist die statistische Betrachtung der Messwerte. So stellt z. B. der statistische Ansatz bei der Bewertung von Innenraumbelastungen ein mittlerweile anerkanntes Verfahren zur Ermittlung von Orientierungswerten dar. Hierbei wird bei einem genügend großen Datensatz das 10. Percentil als Hintergrundwert, der Median als Normalwert und das 90. Percentil als Auffälligkeitswert bezeichnet [462]. Da es im Gegensatz zu Innenraumschadstoffen bei Zytostatika keinen natürlichen Hintergrundwert gibt, eignet sich vor allem das 90. Percentil als Orientierungswert für eine vergleichende Bewertung von Flächenbelastungen. Für die in dieser Arbeit betrachteten Substanzen liegt das 90. Percentil ohne Berücksichtigung der Nachweisgrenzen zwischen 0 und $0,18 \text{ ng/cm}^2$. Bei einer substanzunabhängigen Betrachtung des Gesamtdatensatzes liegt der 90. Percentil bei $0,028 \text{ ng/cm}^2$. Zur Festlegung eines Orientierungswertes auf statistischer Basis sollte der Datensatz um Platinmesswerte sowie die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen erweitert werden.

Durch Diskussion mit den Standesorganisationen und Berufsgenossenschaften kann auf Grundlage dieser statistischen Daten sowie unter Berücksichtigung des Stands der Technik zukünftig die Bildung von Orientierungswerten erfolgen.

5.5.8 Zusammenfassende Bewertung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit konnte erstmals eine LC-MS/MS-Multimethode zur Bestimmung der Zytostatika 5-Fluorouracil, Chlorambucil, Cyclophosphamid, Cytarabin, Etoposid, Ifosfamid und Methotrexat aus einer Wischprobe entwickelt werden. Die Validierungsuntersuchungen haben gezeigt, dass insbesondere die Probenahme auf unterschiedlichen Oberflächen einen großen Einfluss auf die Wiederfindungsraten haben. Wie bei fast allen anderen analytischen Fragestellungen, entsteht auch beim Umgebungsmonitoring die größte Messunsicherheit bei der Probenahme. Bei der Betrachtung der eigenen Werte (s. Abbildung 5-24) und den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen [12, 14, 15, 29, 277, 285, 306, 457-460] wird deutlich, dass sich die Belastungssituation sowohl an verschiedenen Probenahmestellen innerhalb als auch außerhalb der Apotheke häufig über mehrere Dekaden unterscheidet. Bei der Gesamtbewertung der Belastungssituation in einer Apotheke oder einer Station ist aufgrund der großen Unterschiede zwischen „sauberen“ Oberflächen und belasteten Oberflächen die durch den Flächeneinfluss entstehende Messunsicherheit zu vernachlässigen.

Problematisch bei der Bewertung von Einzelergebnissen ist, dass entsprechend GefStoffV beim Umgang mit CMR-Stoffen die Forderung nach einer Nullexposition besteht und aufgrund fehlender Daten bisher keine Schwellen- oder Richtkonzentration festgesetzt werden kann. Eine Minimierung der Expositionen und somit auch Senkung des Risikos beim Umgang mit CMR-Stoffen kann durch den Einsatz technischer und persönlicher Schutzausrüstung entsprechend dem Stand der Technik und intensive Schulung der Mitarbeiter erreicht werden. Die Überprüfung der Arbeitssituation und des Erfolgs der getroffenen Maßnahmen ist durch ein Umgebungsmonitoring sehr einfach möglich. Im Fall von unbeabsichtigten Substanzfreisetzungen ist zur Untersuchung von Substanzaufnahmen bei dem betroffenen Mitarbeitern ein Biomonitoring und zur Kontrolle der Reinigungsmaßnahmen ein Umgebungsmonitoring zu empfehlen.

Bei einer substanzunabhängigen statistischen Betrachtung der gesamten Messwerte liegt der 90. Percentil bei 0,028 ng/cm². Da die Bestimmung von Zytostatika in Wischproben in Deutschland nur von der LMU München und dem IUTA angeboten werden, müssen für eine repräsentative statistische Auswertung die Messwerte dieser Arbeit sowie der beiden Institute sowie die Ende 2007/Anfang 2008 zur Verfügung stehenden Ergebnisse der MEWIP-Studie gemeinsam betrachtet werden. In Abstimmung mit Landesorganisationen und Berufsgenossenschaften kann auf Grundlage dieser Datenanalyse sowie unter Berücksichtigung vom Stand der Technik die Bildung von substanzabhängigen und ggf. auch substanzunabhängigen Orientierungswerten erfolgen.

Im Zuge von Konzeption und der ersten Datenerhebung zur MEWIP-Studie wurde die Substanzauswahl für die Zytostatika-Multikomponentenanalyse nochmals überarbeitet. Wie bereits erläutert, sind Messungen für Chlorambucil, das mittlerweile ausschließlich in Tablettenform verabreicht wird, im Apothekenbereich nicht mehr sinnvoll. Des Weiteren wird auch Cytarabin nur noch von 14 % der befragten Apotheken eingesetzt, so dass beide Substanzen für die neue Studie keine Berücksichtigung mehr gefunden haben. Stattdessen wurden die in den letzten Jahren immer häufiger eingesetzten Taxane **Docetaxel** und **Paclitaxel** sowie das von den Verbrauchsmengen mittlerweile an dritter Stelle liegende **Gemcitabin** ausgewählt. In Abbildung 5-25 ist als Ausblick auf zukünftige Arbeiten ein LC-MS/MS Chromatogramm der neuen Multimethode dargestellt. Die beiden polaren Verbindungen 5-FU und Gemcitabin werden chromatographisch nicht getrennt. Chlorambucil wurde bei dieser Messung noch mit analysiert.

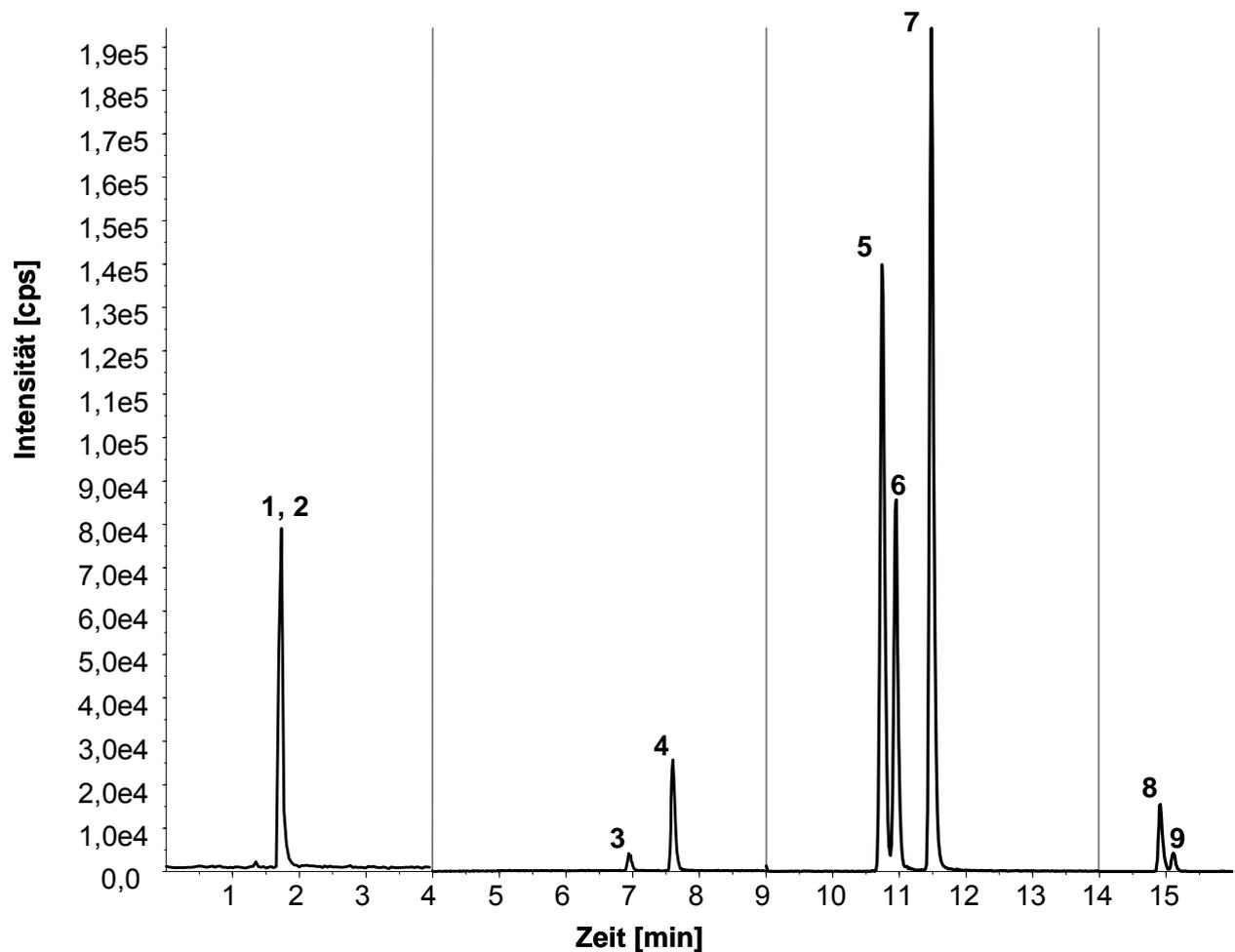


Abbildung 5-25: LC-MS/MS Chromatogramm (TIC) der MEWIP-Methode.

Matrixstandard: $c = 50 \text{ ng/mL}$. $50 \times 3 \text{ mm}$ Shim-Pack XR-ODS, $2,2 \mu\text{m}$ HPLC-Säule. $\vartheta = 30 \text{ }^\circ\text{C}$, Flussrate: $300 \mu\text{L/min}$. 1. Periode: 0 – 4 min, 2. Periode: 4 – 9 min, 3. Periode: 9 – 14 min, 4. Periode: 14 – 16 min. Gradient: 0-1 min 95 % A, 15 min 50 % A, 20 min 50 % A, 21 min 95 % A, 25 min 95 % A. Mobile Phase A: 0,1 % Ameisensäure in VE-Wasser, Mobile Phase B: 0,1 % Ameisensäure in Acetonitril.

1: 5-Fluorouracil, 2: Gemcitabin, (3: Chlorambucil), 4: Methotrexat, 5: Ifosfamid, 6: Cyclophosphamid, 7: Etoposid, 8: Paclitaxel, 9: Docetaxel.

5.6 Entwicklung eines Verfahrens zur oxidativen Behandlung von Krankenhausabwasser-Teilströmen

5.6.1 Einleitung

Im Gegensatz zur end-of-pipe Behandlung in einer Kläranlage entspricht die direkte Behandlung von hochbelasteten Krankenhausabwasser-Teilströmen dem auch in der Industrie angewandten Nachhaltigkeitsprinzip der Vermeidung von Schadstoffeinträgen am Entstehungsort. Die Teilstrombehandlung hat den Vorteil, dass hier nur die hoch belasteten Toilettenabwässer, nicht aber die Spül-, Küchen- und Wäschereiabwässer behandelt werden müssen. Auch sind die zu behandelnden Volumenströme wesentlich kleiner als bei Behandlung ganzer Krankenhaus- oder gar Kläranlagenabläufe.

Bei der Entwicklung und Bewertung von Verfahren zur Eliminierung von Arzneimitteln aus Krankenhausabwasser-Teilströmen ist die einfache und schnelle Kontrolle des Substanzabbaus notwendig. Aus diesem Grund wurde eine LC-MS/MS-Multimethode für ausgewählte Antibiotika und Zytostatika ohne aufwändige Probenvorbereitung entwickelt.

Für die Oxidation der vorwiegend renal ausgeschiedenen Arzneimittel ist zunächst die Abtrennung der Feststoffe notwendig. Da die untersuchten Substanzen sehr gut wasserlöslich sind und die Adsorption an die abgesetzten Feststoffe zu vernachlässigen ist, wurde für die Untersuchung der flüssige Überstand verwendet. Erste Sedimentationsversuche zeigten, dass ohne den Einsatz von aufwändigen Filtrationstechniken eine 24-stündige Absetzstufe ausreichend ist. Die Untersuchungen wurden zunächst im Labormaßstab mit dotierten Leitungs- und Toilettenabwässern durchgeführt. Im zweiten Schritt erfolgte die Übertragung auf den halbertechnischen Maßstab. Neben der Substanzanalytik wurden zur Bewertung der Versuche CSB, BSB₅, Leuchtbakterienhemmung und Genotoxizität vor und nach der Abwasserbehandlung untersucht. Anhand dieser Werte lassen sich Rückschlüsse auf die Effektivität des Oxidationsprozesses und die Zerstörung der toxischen Inhaltsstoffe ziehen.

5.6.2 Entwicklung einer LC-MS/MS-Multimethode zur AOP-Verfahrenskontrolle

Zur Kontrolle der Wirksamkeit eines neuen Behandlungsverfahrens war die Entwicklung einer einfachen und robusten Multi-Methode notwendig. Da die Konzentrationen in hochbelasteten Teilströmen zwischen 100 und 1000 µg/L liegen, kann auf eine aufwändige Probenaufkonzentrierung verzichtet werden. Aus diesem Grund wurde die Eignung der Direktanalyse nach Filtration durch einen 0,45 µm Celluloseacetat-Spritzenfilter mittels ESI-LC-MS/MS untersucht. Ähnlich wie bei den im Arbeitsschutz verwendeten Analyseverfahren erfolgt die chromatographische Trennung mit einem 0,1 % Ameisensäure enthaltenden Wasser-Acetonitril-Gradienten unter Verwendung einer C₁₈-HPLC-Säule bei 30 °C. Zur Empfindlichkeitssteigerung ist die Messung der spezifischen MRM-Übergänge in drei Zeitfenstern mit Polaritätswechsel notwendig. Bei der Methodenentwicklung zeigten sich hier auch erste Limitierungen bei dem verwendeten API 3000 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer. Aufgrund der gerätebedingten langen Umschaltzeit von 700 ms beim Polaritätswechsel müssen entweder auf Kosten des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses die Verweilzeiten wesentlich verkürzt oder die Anzahl der MRM-Übergänge reduziert werden. Da bei der Verfahrenskontrollanalytik der Substanzabbau von vorher dotierten Substanzen beobachtet werden muss und eine eindeutige Identifizierung der Substanzen nicht notwendig ist, wird auf die Messung eines zweiten Ions zur Verifizierung der Ergebnisse verzichtet. In Abbildung 5-26 ist das LC-MS/MS-Chromatogramm einer dotierten Toilettenabwasserprobe dargestellt. Die detaillierten Messparameter sind im Anhang (Tabelle 6-6) aufgeführt.

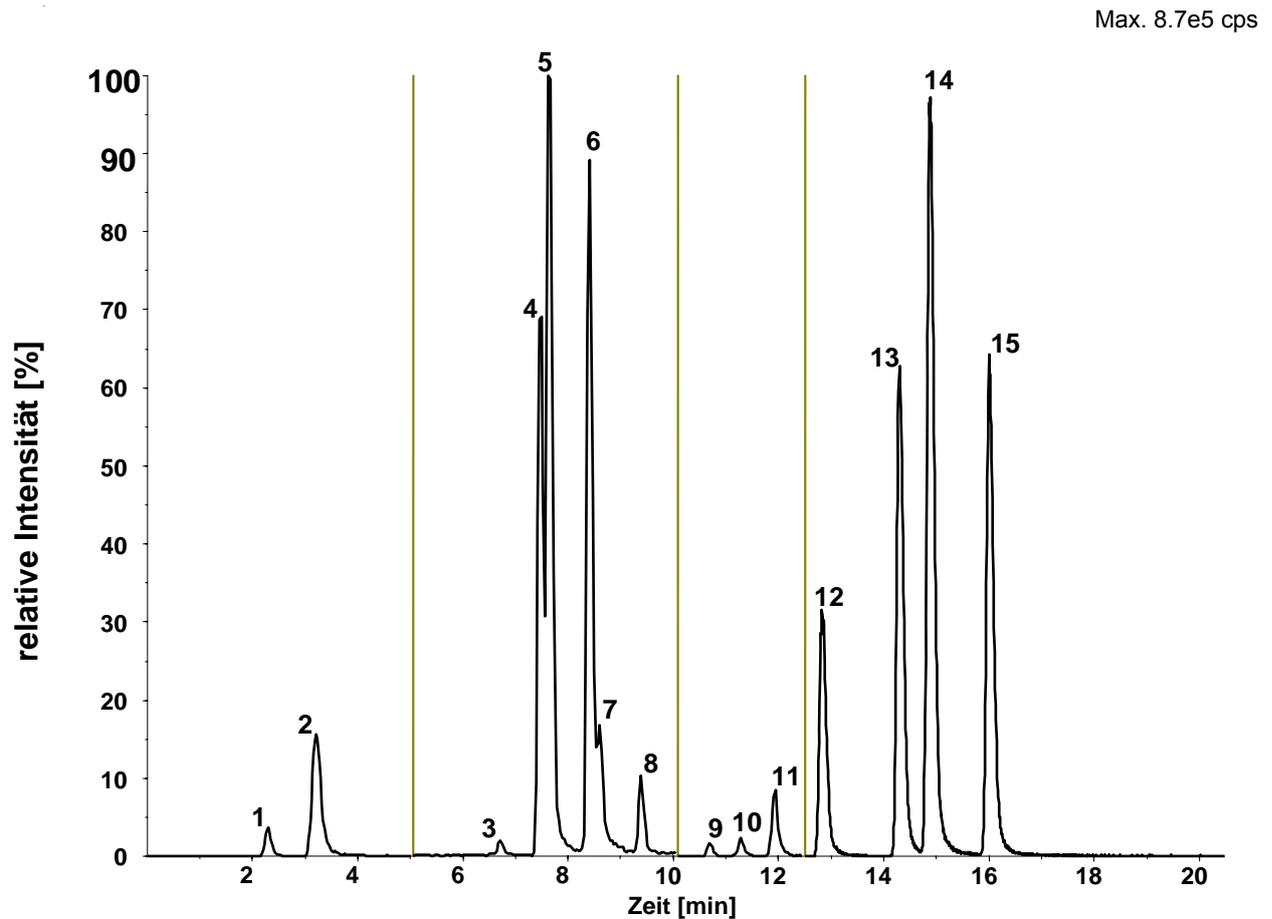


Abbildung 5-26: LC-MS/MS-Chromatogramm (TIC) eines dotierten Toilettenabwasers (100 µg/L).

1: Cytarabin, 2: 5-Fluorouracil, 3: Amoxicillin, 4: Chlorambucil, 5: Trimethoprim, 6: Methotrexat, 7: Ofloxacin, 8: Ciprofloxacin, 9: Cefuroxim, 10: Sulfamethoxazol, 11: Ifosfamid, 12: Chloramphenicol, 13: Cyclophosphamid, 14: Etoposid, 15: Penicillin V.

Die Nachweisgrenzen dieser Multi-Methode liegen substanz- und matrixabhängig zwischen 0,2 µg/L und 5 µg/L. Wie erwartet, ist aufgrund des hohen Urinanteils in den Proben zur Quantifizierung eine gewichtete Matrix-Kalibration (1/x) notwendig.

5.6.3 Ergebnisse der Experimente im Labormaßstab

Die Verfahrensentwicklung erfolgte zunächst im Labormaßstab. Neben zwei Strahlertypen, Quecksilber-Niederdruckstrahler (Hg-Nd) und Quecksilber-Mitteldruckstrahler (Hg-Md), in Kombination mit Wasserstoffperoxid wurde auch die Ozonisierung untersucht. Die ersten Versuche wurden zunächst in dotiertem Trinkwasser durchgeführt. Die Konzentration der sieben Zytostatika betrug jeweils 100 µg/L und die der acht Antibiotika jeweils 1000 µg/L. Wie in Abbildung 5-27 am Beispiel des Versuchs mit einem Hg-Nd-Strahler in Kombination mit Wasserstoffperoxid zu erkennen ist, werden alle untersuchten Substanzen innerhalb von 40 Minuten abgebaut.

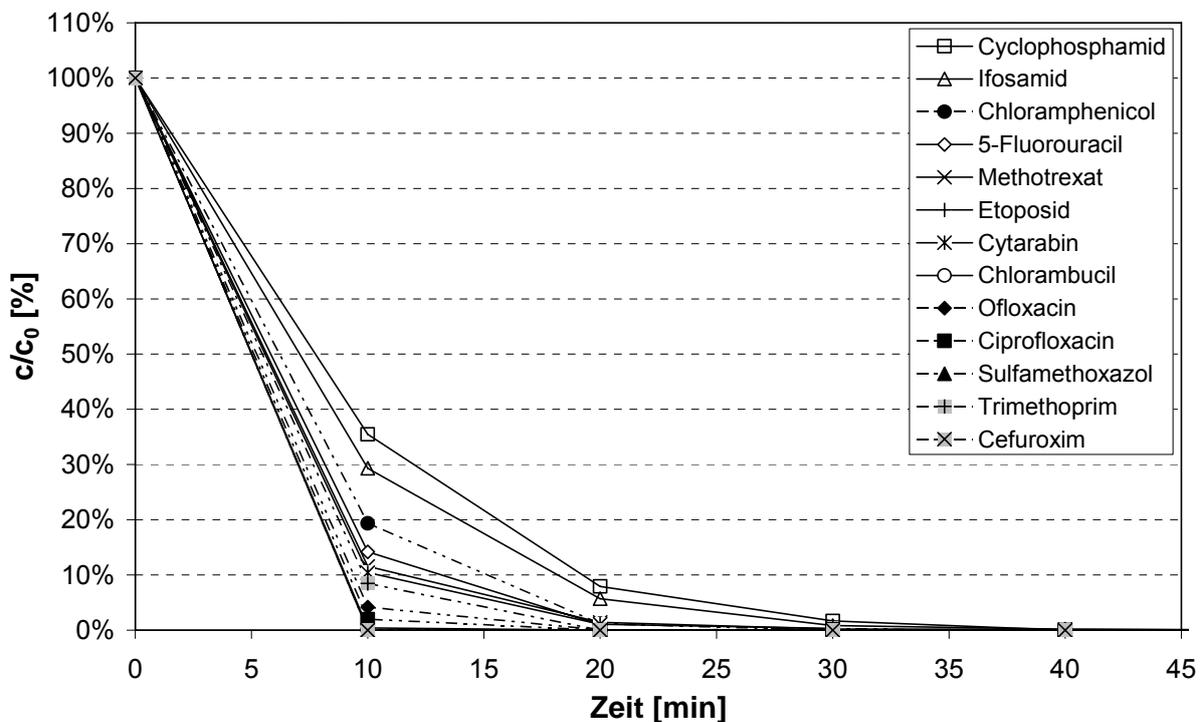


Abbildung 5-27: Abbau von Zytostatika und Antibiotika in Leitungswasser mit einem Hg-Nd-Strahler im Labormaßstab.

c_0 (Antibiotika) = 1000 µg/L, c_0 (Zytostatika) = 100 µg/L, $c(\text{H}_2\text{O}_2)$ = 0,5 g/L, V = 800 mL, T = 25 °C.

Die Proben wurden vor und nach der Oxidation auf ihre ökotoxikologische und genotoxische Wirkung hin untersucht. In Tabelle 5-16 wird deutlich, dass das dotierte Leitungswasser vor der Oxidation eine sehr hohe aquatische Toxizität aufweist. Die Proben vor Oxidation wiesen jeweils einen GL-Wert von 200 auf, wohingegen nach der Oxidation jeweils nur noch ein GL-Wert von 12 vorlag. Für die Genotoxizität

konnten ähnliche Ergebnisse beobachtet werden. Auch hier findet eine erhebliche Reduktion der Toxizität von $G_{EU} = 1536$ auf $G_{EU} = 12$ durch die oxidative Behandlung der Proben statt.

Tabelle 5-16: Leuchtbakterienhemmung und Genotoxizität dotierter Leitungswasserproben vor und nach oxidativer Behandlung.

	vor Oxidation	nach Oxidation
Leuchtbakterienhemmung [GL-Wert]	200	12
umu – Test [G_{EU}]	1536	12

Die folgenden Experimente zur Temperaturabhängigkeit des Abbaus wurden mit dotierten Toilettenabwässern bei 20, 30 und 40 °C durchgeführt. Zur besseren Übersicht sind in Abbildung 5-28 nur die beiden am schwersten abzubauenen Substanzen, das Zytostatikum Cyclophosphamid und das Antibiotikum Chloramphenicol, zusammengefasst.

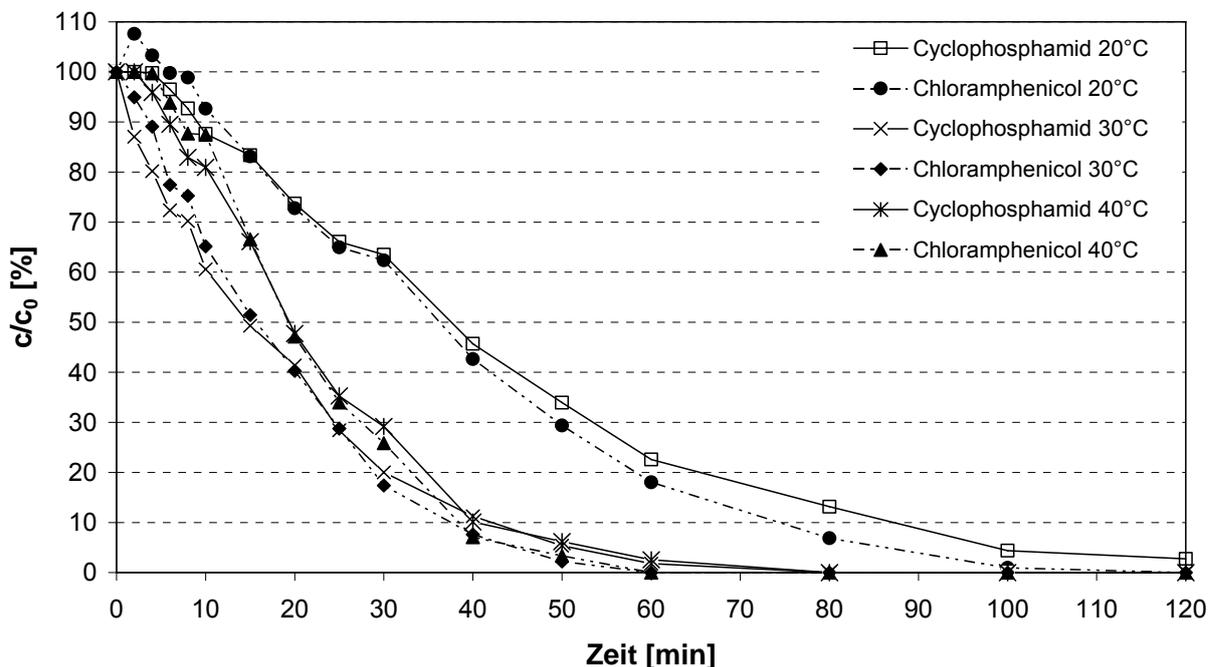


Abbildung 5-28: Temperaturabhängigkeit des Substanzabbaus mit einem Hg-Nd-Strahler und Wasserstoffperoxid.

c_0 (Antibiotika) = 1000 µg/L, c_0 (Zytostatika) = 100 µg/L, $V = 0,8$ L Toilettenabwasser, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 2,5$ g/L.

Bei den Versuchen bei 30 und 40 °C lassen sich kaum Unterschiede feststellen, wohingegen bei 20 °C der Substanzabbau deutlich langsamer ist. Überraschend

erscheint bei dieser Darstellung, dass das Abbauverhalten für die beiden strukturell sehr unterschiedlichen Substanzen bei den gewählten Versuchsbedingungen ähnlich verläuft. Durch die im Vergleich zu den anderen Arzneimitteln und den meisten Matrixbestandteilen wesentlich schlechtere Oxidierbarkeit, erfolgt die unselektive Reaktion der Hydroxylradikale mit den beiden Substanzen mit ähnlichen Geschwindigkeitskonstanten.

Die Untersuchungen im Labormaßstab haben gezeigt, dass der Hg-Nd-Strahler im Vergleich zu den hier nicht gezeigten Untersuchungen zur Ozonisierung und der Behandlung mit einem Hg-Md-Strahler im Laborreaktorsystem am effektivsten ist. In Abbildung 5-29 sind die Abbaukurven der untersuchten Zytostatika und Antibiotika mit dem optimierten Laborverfahren dargestellt. Ein vollständiger Abbau (> 99,9 %) wird in Toilettenabwässern nach ca. 100 Minuten Behandlungszeit erzielt.

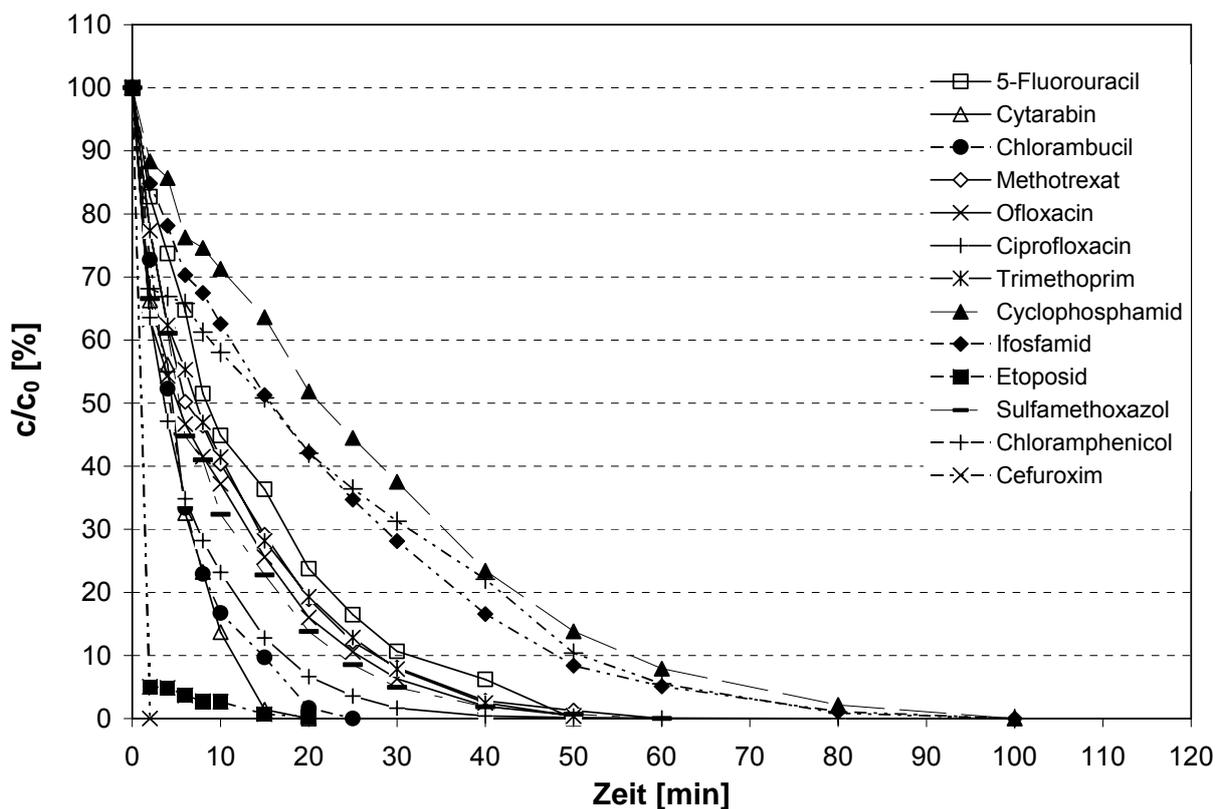


Abbildung 5-29: Antibiotika- und Zytostatikaabbau in dotierten Toilettenabwasser mit dem optimierten Laborsystem.

Hg-Nd-Strahler, c_0 (Antibiotika) = 1000 µg/L, c_0 (Zytostatika) = 100 µg/L, $V = 3$ L, $T = 30$ °C, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 2$ g/L.

Die in Tabelle 5-17 aufgeführten Summenparameter bestätigen den Abbauerfolg. So wird die Genotoxizität der Probe um 99,9 Prozent reduziert und auch die Leuchtbakterienhemmung reduziert sich von 36 auf 12 Prozent.

Tabelle 5-17: Summenparameter und Genotoxizität zu dem in Abbildung 5-29 dargestellten Versuch.

	pH	CSB [mg/L]	BSB ₂₈ [mg/L]	BSB/CSB [%]	Hemmung* [%]	umu-Test [G _{EU}]
vor Oxidation	8,3	300	148	49	36	1536
nach Oxidation	7,8	220	41	19	12	1,5

* Bei der Bestimmung der Leuchtbakterienhemmung wurden keine Verdünnungsstufen vorgenommen.

5.6.4 Verfahrensevaluierung im halbtechnischen Maßstab

Nach der erfolgreichen Optimierung im Labormaßstab erfolgten zur Auslegung einer Pilotanlage Vorversuche mit technischen UV-Strahlern. Wesentlicher Unterschied besteht in einer optimierten Reaktorgeometrie. Hierdurch konnte die Schichtdicke von ca. 25 mm im Laborsystem auf 5,5 mm reduziert werden. Die Versuche mit dem technischen Hg-Nd-Strahler zeigten, dass trotz höherer spezifischer Leistung und optimierter Reaktorgeometrie kein schnellerer Substanzabbau als im Laborreaktorsystem erzielt wurde. Dies zeigt, dass bei den gewählten Bedingungen aufgrund der guten Durchmischung im Laborsystem die Reaktorgeometrie noch nicht den entscheidenden Einfluss auf die Bildung und Verteilung der für die Abbaureaktion benötigten Hydroxylradikale hat. Dagegen konnten mit einem neu entwickelten Vakuum-UV-Quecksilber-Mitteldruckstrahler (VUV-Hg-Md) die besten Ergebnisse erzielt werden. Beim ersten Versuch wurde aufbauend auf den Erkenntnissen aus den Laborversuchen eine Wasserstoffperoxidkonzentration von 1 g/L gewählt. Da innerhalb von weniger als fünf Minuten ein vollständiger Substanzabbau erzielt wurde, war aufgrund zu weniger Messpunkte die Bestimmung einer Abbaukurve nicht möglich. Zudem kam es aufgrund unzureichender Kühlung innerhalb der Versuchsdauer von 70 Minuten zu einer Temperaturerhöhung von 30 °C auf 70 °C. Die in Tabelle 5-18 gezeigte Genotoxizität weist eine Reduktion von 99,6 Prozent

nach Versuchsende auf. Auch der nötige Verdünnungsfaktor als Maß der Leuchtbakterienhemmung konnte von 16 auf 2 verringert werden.

Tabelle 5-18: Summenparameter und Genotoxizität beim Abbau von Antibiotika und Zytostatika mit einem Vakuum-UV-Hg-Md-Strahler ($V = 4 \text{ L}$, $1 \text{ g/L H}_2\text{O}_2$).

	pH	CSB [mg/L]	BSB ₂₈ [mg/L]	Leuchtbakterien- hemmtest [GL]	umu-Test [G _{EU}]
vor Oxidation	8,58	279	80	16	384
nach Oxidation	8,26	(29)*	125	2	1,5

* Fehlanalyse. Der CSB muss größer als der BSB sein.

Die CSB-Reduktion lag bei allen anderen Versuchen zwischen 10 und 50 %. Die BSB-Erhöhung zeigt eine Verbesserung der biologischen Abbaubarkeit der Abwasserinhaltsstoffe.

Beim nachfolgenden Versuch mit einer reduzierten Wasserstoffperoxidkonzentration von 90 mg/L und Einsatz einer Leitungswasserkühlung, konnten die in Abbildung 5-30 dargestellten Abbaukurven ermittelt werden. Bei einem Abwasservolumen von 6 L sind bereits nach 20 Minuten alle Arzneimittelwirkstoffe nicht mehr nachweisbar.

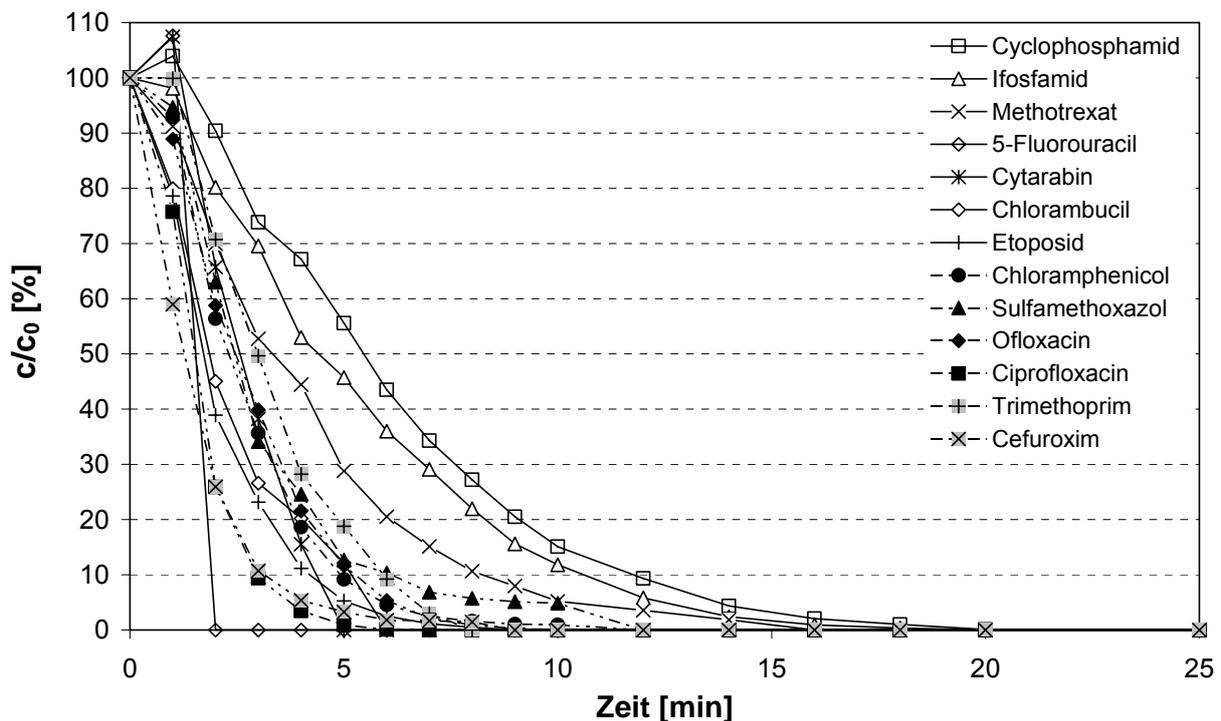


Abbildung 5-30: Abbau von Antibiotika und Zytostatika mit einem VUV-Hg-Md-Strahler.

$V = 6 \text{ L}$ Toilettenabwasser, $T = 22\text{-}38 \text{ °C}$, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 90 \text{ mg/L}$. $c_0(\text{Antibiotika}) = 1000 \text{ µg/L}$,
 $c_0(\text{Zytostatika}) = 100 \text{ µg/L}$.

Die Möglichkeit des photooxidativen Abbaus ohne Katalysatorzusatz wurde sowohl mit den Labor-Strahlern als auch mit den technischen Strahlern untersucht. Dabei zeigte sich, dass im Labormaßstab nur ein leichter photooxidativer Abbau zu beobachten ist. Dies bedeutet, dass der Substanzabbau hauptsächlich durch Reaktionen mit den gebildeten Hydroxylradikale erfolgt. Dahingegen konnte der VUV-Hg-Md-Strahler ohne Zusatz von H_2O_2 erfolgreich zur Photooxidation eingesetzt werden. Die Antibiotika wurden innerhalb von 40 Minuten vollständig abgebaut, wohingegen die drei Zytostatika Cytarabin, Cyclophosphamid und Ifosfamid nach 60 Minuten Versuchsdauer noch mit 3 bis 11 Prozent nachweisbar waren. Wie anhand der Abbaukurven in Abbildung 5-31 zu sehen ist, sind die übrigen Zytostatika bereits nach 30 Minuten Photooxidation abgebaut.

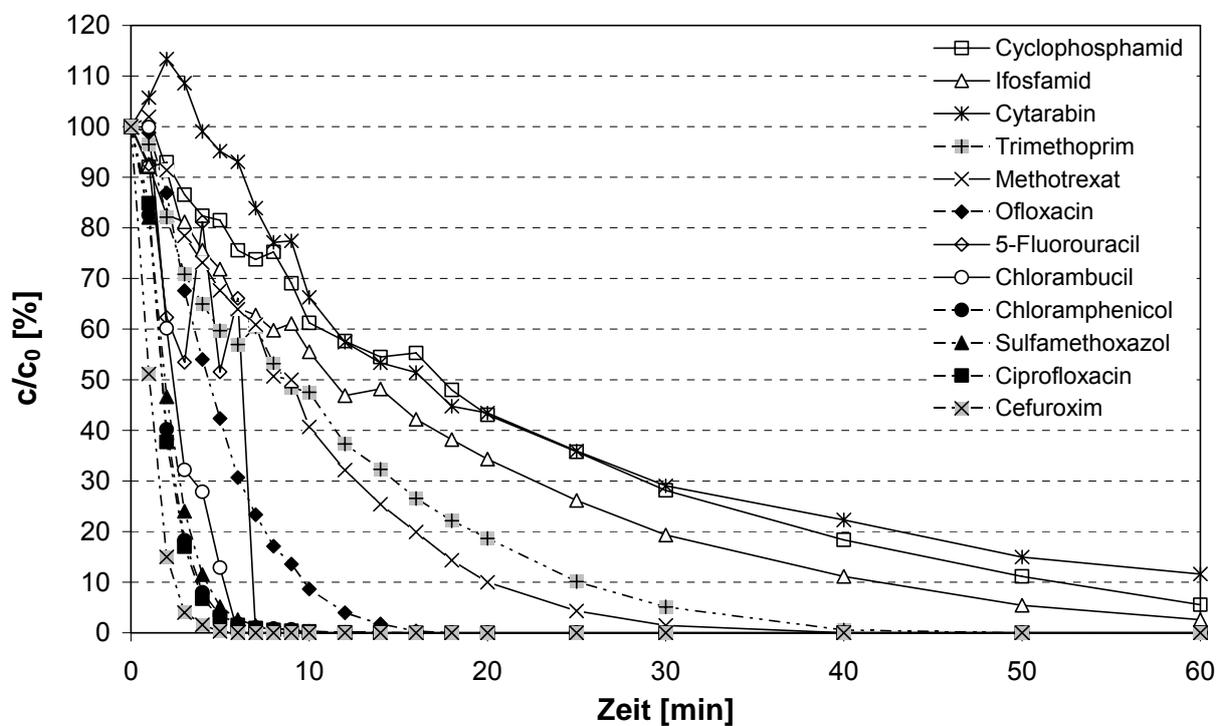


Abbildung 5-31: Photooxidativer Abbau von Antibiotika und Zytostatika in Toilettenabwasser mit einem VUV-Hg-Md-Strahler. $V = 6 \text{ L}$ Toilettenabwasser, $T = 40 \text{ }^\circ\text{C}$,

c_0 (Antibiotika) = $1000 \text{ } \mu\text{g/L}$, c_0 (Zytostatika) = $100 \text{ } \mu\text{g/L}$.

Als weitere AOP-Verfahrensvariante wurde die Ozonisierung untersucht. Aufgrund des im Labormaßstab unzureichenden Ozoneitragssystems wurde das in Abbildung 5-32 dargestellte Experiment mit einer Blasensäule bei der Firma Wedeco durchgeführt.

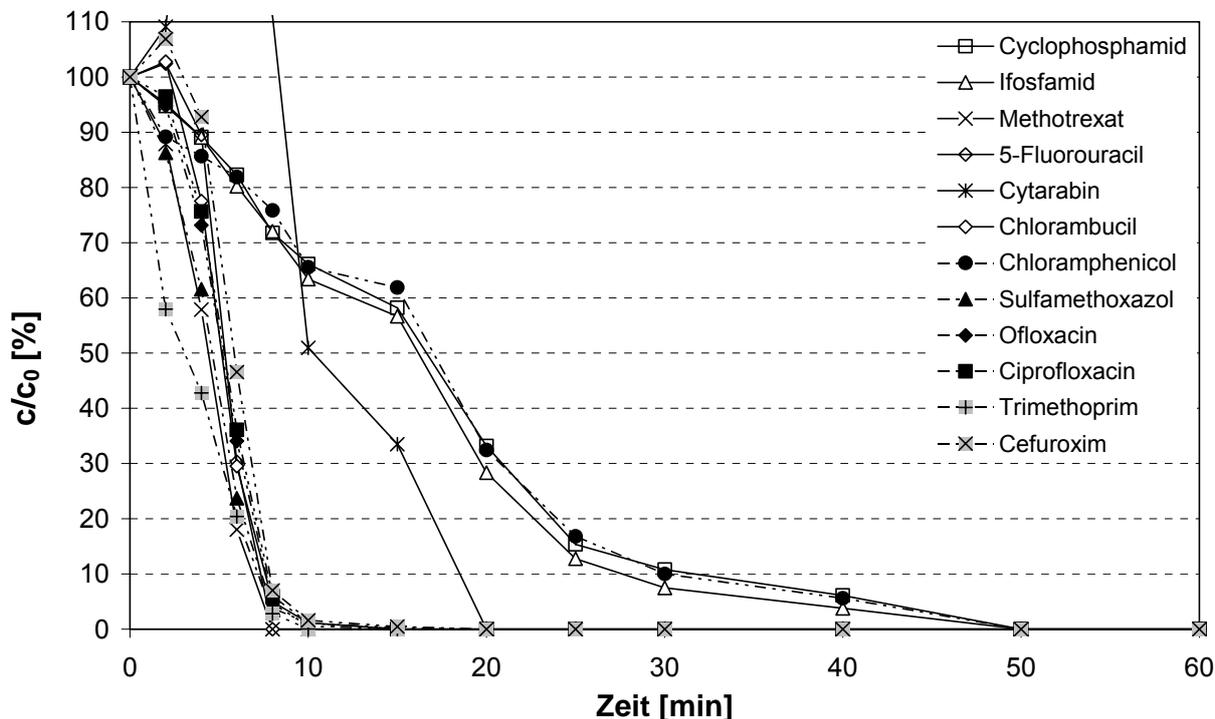


Abbildung 5-32: Abbau von Antibiotika und Zytostatika bei der Ozonisierung.

$V = 4$ L Toilettenabwasser, $T = 20$ °C, c_0 (Antibiotika) = 1000 µg/L, c_0 (Zytostatika) = 100 µg/L. Beim anfänglichen Konzentrationsanstieg von Cytarabin handelt es sich um ein Artefakt.

Im Vergleich zu den Laborversuchen ist der Abbau mit Ozon insgesamt etwas langsamer als mit der Kombination aus UV-Strahler und Wasserstoffperoxid. Auch hier zeigen die ökotoxikologischen Tests, dass die Proben nach Behandlung keine mutagenen oder genotoxischen Eigenschaften mehr aufweisen. Dies entspricht einer Abnahme von über 99 Prozent. Auch bei dem Leuchtbakterienhemmtest konnte eine deutliche Reduktion beobachtet werden.

Tabelle 5-19: Summenparameter und Genotoxizität zu dem in Abbildung 5-32 dargestellten Versuch.

	pH	CSB [mg/L]	BSB ₂₈ [mg/L]	BSB/CSB [%]	Leuchtbakterien- hemmtest [GL]	umu-Test [G _{EU}]
vor Ozonisierung	8,17	307	173	56	6	768
nach Ozonisierung	7,67	161	60	37	2	1,5

5.6.5 Zusammenfassende Bewertung und Ausblick

Zur Kontrolle der Wirksamkeit des Behandlungsverfahrens wurde eine substanzspezifische Analysenmethode für Pharmazeutika in Abwasser mittels LC-MS/MS ohne zusätzliche Probenvorbereitung entwickelt. Die Nachweisgrenzen dieser Methode liegen substanz- und matrixabhängig zwischen 0,1 µg/L und 5 µg/L. Zur exakten Quantifizierung ist eine gewichtete Matrix-Kalibration notwendig. Neben der direkten Analyse von Krankenhausabwasser-Teilströmen ist durch Ergänzung einer geeigneten Probenvorbereitung (clean-up und Aufkonzentrierung) mittels Festphasenextraktion auch die Bestimmung von wesentlich niedrigeren belasteten Kläranlagenabläufen oder Oberflächengewässern möglich.

Eine aufwändige Feststoffseparierung, wie sie z. B. die Membranfiltration darstellt, ist nicht notwendig. Nach 6 bis 10-stündiger Sedimentation des Toilettenabwassers ist eine direkte Behandlung des Überstandes möglich. In den Laborversuchen wurden für sieben Zytostatika und acht Antibiotika die Effektivität des Abbaus in Abhängigkeit von der verwendeten UV-Strahlung, Art und Menge des Oxidationsmittels, Behandlungsdauer und Temperatur sowie der Einfluss verschiedener Reaktionsvolumina untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass ein Abbau (> 99 %) sowie eine effektive Reduktion der ökotoxikologischen Eigenschaften mit verschiedenen Verfahrensvarianten erreichbar ist. Je nach Art des eingesetzten Oxidationsmittels (Ozon, O₃ oder Wasserstoffperoxid, H₂O₂) und der verwendeten UV-Strahlung (Quecksilber-Niederdruckstrahler, Hg-Nd oder –Mitteldruckstrahler, Hg-Md) sind Behandlungszeiten zwischen 10 und 90 Minuten erforderlich. Als Leitsubstanz für die vergleichende Bewertung der Versuche wurde das am schwersten zu oxidierende Cyclophosphamid ausgewählt. In Abbildung 5-33 werden die Ergebnisse der untersuchten Verfahrensvarianten anhand der auf das Abwasservolumen normierten Halbwertszeit τ verglichen.

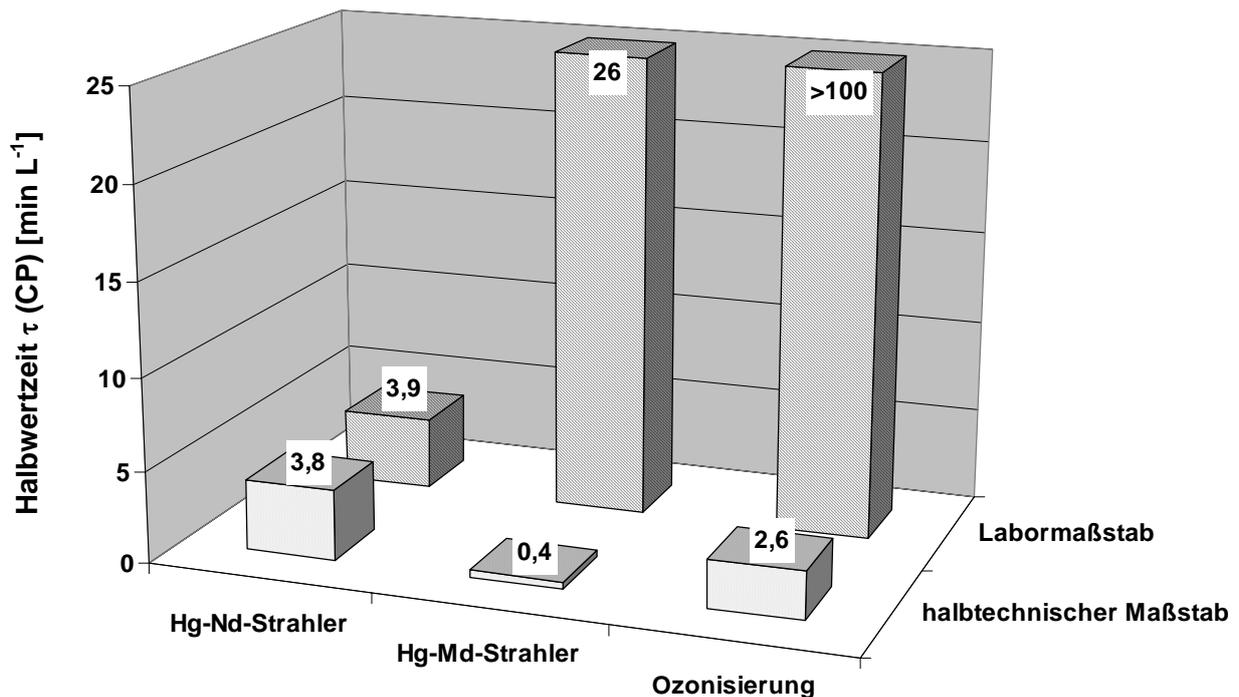


Abbildung 5-33: Vergleich der verschiedenen AOP-Varianten anhand der auf das Abwasservolumen normierten Halbwertszeit τ von Cyclophosphamid bei der Behandlung von dotierten Toilettenabwässern.

$c_0(\text{CP}) = 100 \mu\text{g/L}$.

Als Fazit der Untersuchungen ist festzuhalten, dass die drei Verfahrensvarianten Hg-Nd-Strahler + H_2O_2 , Hg-Md-Strahler + H_2O_2 und Ozonisierung zum Abbau von Antibiotika und Zytostatika aus Krankenhausabwasser-Teilströmen geeignet sind. Schlechtere Ergebnisse wurden mit den in dieser Arbeit nicht gezeigten Kombinationen aus Ozon/UV bzw. $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ erzielt. Die teilweise sehr deutlichen Unterschiede zwischen den Laborergebnissen und ersten Untersuchungen mit halbtechnischen Anlagen liegen zum Einen in der deutlich höheren spezifischen Leistung und der Emission im Vakuum-UV-Bereich des Hg-Md-Strahlers und zum Anderen in der Verwendung eines besseren Ozon-Gaseintragssystems begründet. Die im Rahmen dieser Arbeit im Labormaßstab durchgeführte Verfahrensentwicklung stellt die Grundlage für den Bau der in Abbildung 5-34 skizzierten Pilotanlage dar.

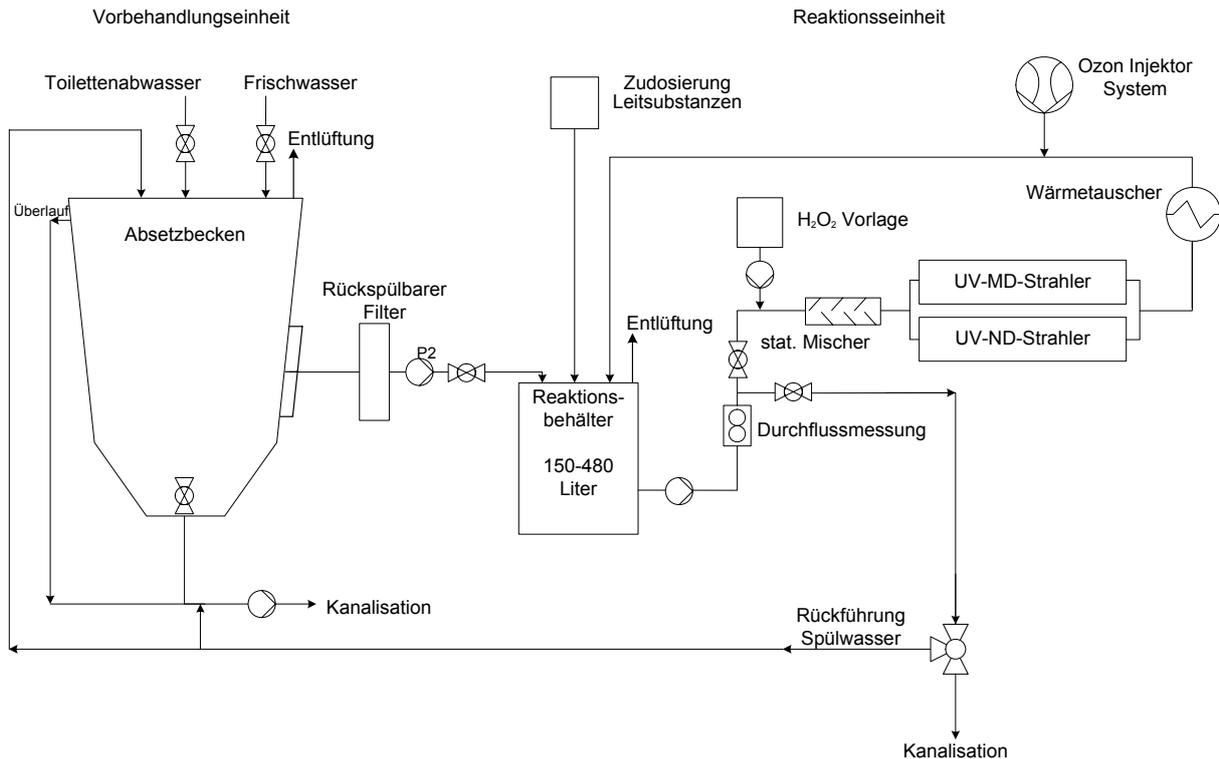


Abbildung 5-34: Ausblick - Schematischer Aufbau einer Demonstrationsanlage zur Eliminierung von Arzneimitteln aus Krankenhausabwasser-Teilströmen mittels erweiterter Oxidationsverfahren.

Mit dieser Pilotanlage kann in zukünftigen Arbeiten das hier entwickelte AOP-Verfahren auf den technischen Maßstab übertragen und die Verfahrensparameter in Hinblick auf Effektivität und Wirtschaftlichkeit zur Entfernung von persistenten, hochwirksamen Arzneimittelwirkstoffen aus Krankenhausabwasser-Teilströmen optimiert werden.

Da die größten Arzneimittelfrachten, insbesondere für mittlerweile ubiquitär verbreitete Wirkstoffe wie Carbamazepin, Diclophenac oder Sulfamethoxazol aus dem häuslichen Abwasser stammen, ist in Hinblick auf die Umsetzung der EU Wasserrahmenrichtlinie bis 2015 die Einführung einer zusätzlichen oxidativen Behandlungsstufe zur Eliminierung von Mikroverunreinigungen (Arzneimittelwirkstoffe, Personal Care Produkte und Industriechemikalien) in Kläranlagenabläufen notwendig. Zur Etablierung der verschiedenen Behandlungstechnologien und deren toxikologischen Bewertung sind allerdings noch weiterführende Untersuchungen notwendig.

5.7 Kapitelübergreifende Diskussion der analytischen Methoden

Im Rahmen dieser Arbeit wurden für Untersuchungen bei Arbeits- und Umweltschutzfragestellungen neue flüssigchromatographische Multimethoden zum Nachweis von Antibiotika und Zytostatika entwickelt und angewandt.

Sowohl bei der Untersuchung von Umweltproben als auch im Arbeitsschutz besteht die Notwendigkeit, immer empfindlichere Analysemethoden zu entwickeln. Die Spurenanalyse von polaren, stark wasserlöslichen Arzneimitteln ist erst durch die Entwicklung der Elektrosprayionisierung [148] und Verbesserung der MS-Gerätetechnik [147, 463, 464] möglich geworden. Am Beispiel von Wisch- und Urinproben konnte gezeigt werden, dass aufgrund von Selektivität und Nachweisstärke sowohl UV- als auch einfache MS-Detektion nicht ausreichend sind. Auch konnte mit dem verwendeten Single-Quadrupol-Gerät kein Polaritätswechsel in einem Lauf vorgenommen werden. Ein weiterer Nachteil des in der Zwischenzeit vom Markt genommenen Gerätes der Fa. Thermo Quest (jetzt Thermo Fischer Scientific) stellte die Auslegung als GC-MS und LC-MS Kombinationsgerät dar. Der Umbau führte immer wieder zu längeren Ausfallzeiten. Auch war die Robustheit der entwickelten LC-MS-Methoden für die Anwendung in Routinemethoden nicht ausreichend. Bei Geräten neuerer Bauart wird aufgrund der bekannten Probleme beim Wechsel zwischen GC- und LC-Kopplung auf den Bau von Kombinationsgeräten i. d. R. verzichtet. Auch ist ein Polaritätswechsel bei neueren Geräten sowohl mit einfachen als auch Triple-Quadrupol-Massenspektrometern möglich. Zur Kopplung von HPLC und Massenspektrometer wird neben der Elektrosprayionisation (ESI) die chemische Ionisierung bei Atmosphärendruck (APCI) eingesetzt. Im Gegensatz zu Elektrospray werden hier Verdampfung und Ionisierung getrennt. Insbesondere bei stark Matrixbelasteten Proben treten weniger Interferenzen durch Ionensuppression oder Adduktbildung als bei ESI auf [465]. Allerdings ist die APCI insbesondere für labile oder sehr polare Verbindungen wie z. B. Peptide, Zucker, β -Lactame oder einige Glucuronide nicht so universell einsetzbar wie die etwas schonendere Ionisierung im Elektrospray. Obwohl für einzelne Komponenten wie z. B. 5-FU [466] und Sulfamethoxazol [208] empfindlichere APCI-Methoden zur Verfügung stehen, konnte aufgrund der o. g. Einschränkungen, dass einige der ausgewählten Substanzen nicht mittels APCI ionisierbar sind, für die Entwicklung von

Multimethoden in dieser Arbeit nur die Elektrosprayionisation eingesetzt werden. Zur Korrektur von Matrixeffekten ist insbesondere bei der Untersuchung von Urin- und Toilettenabwasserproben die Herstellung von Matrixkalibrationen notwendig. In Abbildung 5-35 als ein Beispiel für die beobachteten Matrixeffekte die Signalsuppression von Cyclophosphamid in dotierten Toilettenabwässern dargestellt.

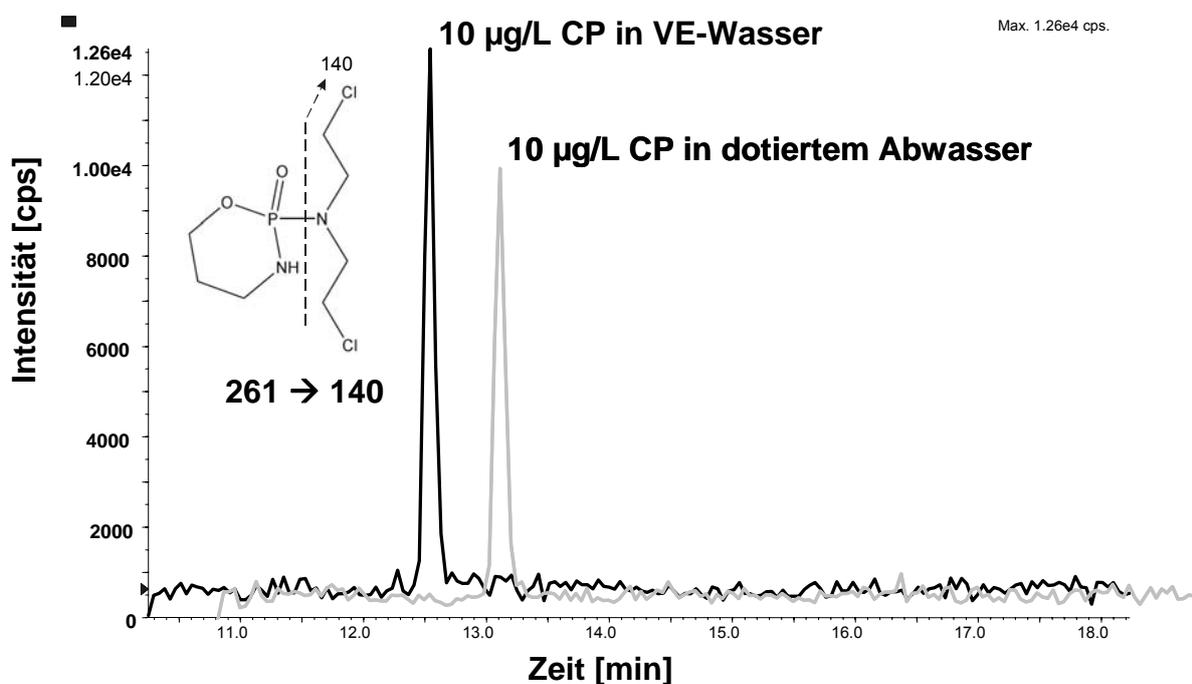


Abbildung 5-35: Signalsuppression durch Matrixeffekte in Toilettenabwässern am Beispiel des zur Quantifizierung verwendeten MRM 261 → 140 amu von Cyclophosphamid (CP).

Obwohl es sich bei Wischproben nicht um eine so komplexe Matrix wie bei Urin- oder Toilettenabwässern handelt, stellte sich im Zuge dieser Arbeit heraus, dass auch hier eine Matrixkalibration anhand von dotierten Wischtuchextrakten zur exakten Quantifizierung notwendig ist.

Mit modernen Triple-Quadrupol-Geräten können durch die selektive Messung im MRM-Modus Multimethoden zur Messung von bis zu 300 Analyten entwickelt werden. Multimethoden mit einer so hohen Analytenzahl werden oft in der Lebensmittelanalytik [467] aber auch im forensischen Bereich [241] zum Screening auf möglichst viele Substanzen eingesetzt. Zur Quantifizierung sind solche Multimethoden allerdings nur bedingt geeignet. Die MS/MS-Messung einer Substanz sollte neben dem Massenübergang zur Quantifizierung immer auch bei einem zweiten MRM zur Verifizierung erfolgen. Bei der Entwicklung von Multimethoden von

strukturell sehr unterschiedlichen Substanzen besteht die Notwendigkeit eines Polaritätswechsels als auch die gleichzeitige Messung von möglichst vielen MRM-Übergängen. Insbesondere der Trend zu kleineren Partikelgrößen zur Erhöhung der chromatographischen Trenneffizienz führt bei kürzeren Laufzeiten zu schmalen Peaks. Auch bei Unterteilung der Analysen in mehrere Zeitfenster und Reduzierung der Verweilzeiten werden insbesondere durch lange Umschaltzeiten und viele gleichzeitig zu messende MRM-Übergänge die Grenzen der modernen Gerätetechnik schnell erreicht, so dass zur Quantifizierung nicht immer die notwendigen 10 Datenpunkte je Peak zur Verfügung stehen. Da bei den verfahrenstechnischen Analysen zur Optimierung des AOP-Verfahrens keine unbekanntes Proben untersucht wurden, wurde zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses und dementsprechend der Nachweisempfindlichkeit auf die Messung eines zweiten MRM Übergangs verzichtet. Eine Multimethode zum Nachweis von Antibiotika und Zytostatika in Wasserproben ist in der Literatur bisher noch nicht beschrieben worden. Wie in Kapitel 2.2 bereits ausgeführt, wurden bisher entweder nur Antibiotika [41, 42, 44, 163] oder bei der Multikomponentenanalyse von Arzneimitteln aus der heterogenen Gruppe der Zytostatika auch Cyclo- und Ifosphamid mittels LC-MS analysiert [261, 266-274].

Zur Multikomponentenanalyse von 5-Fluorouracil, Methotrexat und Cyclophosphamid wurde parallel zu dieser Arbeit von Sabatini et al. eine LC-MS/MS Methode zur Bestimmung von Wischproben mit Nachweisgrenzen von 33 ng/mL für 5-FU und 1,1 ng/mL für CP und MTX mit einem API 2000 entwickelt [282]. Mit den in dieser Arbeit entwickelten Analysemethoden ist der Nachweis der drei Zytostatika um den Faktor 11 bis 33 empfindlicher möglich. Der Hauptgrund für diese Unterschiede liegt in der Verwendung eines empfindlicheren API 3000 TQMS, dass nach Herstellerangaben um den Faktor 5 bis 10 nachweisstärker ist. Die weitere Verbesserung liegt wahrscheinlich an den besseren chromatographischen Bedingungen (Sabatini et al haben eine Mikro-HPLC verwendet) sowie der MS-Optimierung.

Bisher wurde noch keine vergleichbare Analysemethoden zur Bestimmung von bis zu neun Zytostatika beim Umgebungsmonitoring veröffentlicht. Das selbe gilt für die in dieser Arbeit erstellten und angewandten Multimethoden zum Nachweis von Antibiotika beim Umgebungs- und Biomonitoring. Die instrumentellen Nachweisgrenzen liegen je nach Substanz zwischen 0,05 und 5 ng/mL bzw 1 und 100 pg on column. In Tabelle 5-20 ist eine Übersicht der MRM-Übergänge und

instrumentellen Nachweisgrenzen für alle in dieser Arbeit untersuchten Substanzen angegeben.

Tabelle 5-20: Übersicht der MRM-Übergänge und instrumentellen Nachweisgrenzen der in dieser Arbeit untersuchten Substanzen.

Substanz		CAS	M [g/mol]	Ionisierung: MRM [amu]	IDL ¹ [pg]
5-Fluorouracil	5-FU	51-21-8	130,08	ESI: 129 → 42, 59	20
Amoxicillin	AMX	26787-78-0	365,40	ESI ⁺ : 366 → 208, 349	10
Ampicillin	AMP	69-53-4	349,40	ESI: 348 → 207, 74	16
Cefazolin	CFAZ	27164-46-1	454,50	ESI: 453 → 321, 167	16
Cefotaxim	CFTX	64485-93-4	455,46	ESI: 454 → 239, 394	14
Cefotiam	CFTI	61622-34-2	525,63	ESI ⁺ : 526 → 306, 174	20
Cefuroxim	CFUX	55268-75-2	424,39	ESI: 423 → 207, 318	6
Chlorambucil	CAB	305-03-3	304,21	ESI: 266 ² → 248, 194	40
Chloramphenicol	CAP	56-75-7	323,13	ESI: 322 → 152, 257	12
Ciprofloxacin	Cipro	85721-33-1	331,14	ESI ⁺ : 332 → 289, 318	8
Cyclophosphamid	CP	50-18-0	261,09	ESI ⁺ : 261 → 140, 233	2
Cytarabin	ara-C	147-94-4	243,22	ESI ⁺ : 244 → 112, 95	8
Docetaxel	Doce	114977-28-5	807,89	ESI ⁺ : 830 ³ → 549, 248	10
Etoposid	VP-16	33419-42-0	588,56	ESI ⁺ : 589 → 229, 185	2
Gemcitabin	Gem	122111-03-9	263,20	ESI ⁺ : 264 → 112, 95	4
Ifosfamid	IF	3778-73-2	261,09	ESI ⁺ : 261 → 92, 154	2
Methotrexat	MTX	59-05-2	454,44	ESI: 453 → 324, 174	2
Ofloxacin	Oflox	82419-36-1	361,37	ESI ⁺ : 362 → 318, 261	4
Paclitaxel	Pacli	33069-62-4	853,92	ESI ⁺ : 876 ³ → 308, 591	5
Penicillin G	Pen G	69-57-8	334,39	ESI: 333 → 192, 74	2
Penicillin V	Pen V	87-08-1	350,39	ESI: 349 → 208, 93	2
Piperacillin	Pip	66258-76-2	516,55	ESI: 516 → 233, 330	2
Sulfamethoxazol	SMX	723-46-6	253,28	ESI ⁺ : 254 → 156, 92	4
Trimethoprim	TMP	738-70-5	290,32	ESI ⁺ : 291 → 261, 230	1
Vancomycin	Vanco	1404-90-6	1485,73	ESI ⁺ : 725 → 144, 100	100

¹ IDL: Instrumentelle Nachweisgrenze des TQMS

² Dihydroxyverbindung nach Hydrolyse von Chlorambucil

³ Natrium-Addukt

6 Anhang

6.1 Analysevorschriften und Messparameter

6.1.1 Bestimmung von Antibiotika in Wisch- und Textilproben mittels LC-MS/MS (Umgebungsmonitoring)

Zur Validierung des Probenahmeverfahrens werden die Testflächen mit einer methanolischen Standardlösung dotiert und im Abzug bei Raumtemperatur ca. eine Stunde zur Trocknung gelagert.

Die Wischprobenahme erfolgt mit fusselfreien Kimtech Lite 100 Wischtüchern, die jeweils mit 1 mL einer sauren Lösung (VE-Wasser mit HCl auf pH 3 eingestellt) befeuchtet werden. Der Wischvorgang erfolgt über die gesamte Oberfläche in eine Richtung. Der Vorgang wird durch Wischen mit jeweils einem frischen Wischtuch in eine andere Richtung zweimal wiederholt (s. SAA in Kapitel 6.3.2). Die drei Tücher werden in ein Kunststoffgefäß gegeben und mit 30 mL VE-Wasser 15 Minuten im Ultraschallbad extrahiert. Die Textilproben werden direkt in den PE-Bechern mit 50 mL VE-Wasser 15 Minuten im Ultraschallbad extrahiert. Zur analytischen Bestimmung werden beide Materialien durch einen 0,45 µm Celluloseacetat-Spritzenfilter filtriert und bis zur Injektion von 20 µL im Autosampler bei 6-8 °C gelagert. Rückstellproben werden nach der Extraktion ebenfalls filtriert und bei -18 °C eingefroren. Die chromatographische Trennung der 15 Antibiotika erfolgt mit dem in Tabelle 6-1 dargestellten Wasser-Acetonitril-Gradienten auf einer 125x2 mm Nucleodur® 100-5 C18 ec HPLC-Säule mit einer Flussrate von 300 µL/min bei 30 °C.

Tabelle 6-1: HPLC-Gradient zur Bestimmung von Antibiotika.

Zeit [min]	Mobile Phase A* [%]	Mobile Phase B* [%]
0	95	5
1	95	5
15	50	50
20	50	50
21	95	5
25	95	5

* Mobile Phase A: 0,1 % HCOOH in H₂O, Mobile Phase B: 0,1 % HCOOH in ACN.

Nach Ionisierung mittels TurbolonSpray® bei 400°C erfolgt die Messung in vier Zeitfenstern mit Polaritätswechsel sowohl im positiven und negativen MRM-Modus mit dem Analysensystem 2 (API 3000 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer). Die Ionisierungsspannung beträgt bei ESI⁻ -4500 V und bei ESI⁺ 5000 V. Umschalt- (settling time) und Verweilzeit (dwell time) betragen 700 bzw. 100 ms. Die numerischen Gaseinstellungen betragen Nebulizer Gas = 15, Curtain Gas = 12 und Collision Gas = 6. Zur exakten Quantifizierung ist eine gewichtete Matrix-Kalibration (1/x) notwendig. Die Auswertung erfolgt mittels Analyst™. In Tabelle 6-2 sind die MS/MS-Messbedingungen zusammengefasst.

Tabelle 6-2: MS/MS-Detektionsparameter zur Bestimmung von 15 Antibioika.

	Q/V*	Q ₁ [amu]	Q ₃ [amu]	DP [V]	FP [V]	CE [eV]	CXP [V]
Amoxicillin	Q	366	208	46	310	14	2
	V	366	349	36	230	13	26
Ampicillin	Q	348	207	-31	-200	-18	-17
	V	348	74	-31	-200	-38	-17
Cefazolin	Q	453	321	-31	-260	-10	-17
	V	453	167	-31	-260	-20	-17
Cefotaxim	Q	454	239	-31	-200	-16	-17
	V	454	394	-31	-200	-10	-29
Cefotiam	Q	526	306	46	280	15	22
	V	526	174	46	280	21	12
Cefuroxime	Q	423	207	-51	-320	-18	-17
	V	423	318	-51	-320	-12	-21
Chloramphenicol	Q	322	152	-76	-330	-14	-29
	V	322	257	-76	-330	-24	-17
Ciprofloxacin	Q	332	289	56	230	31	18
	V	332	318	56	230	27	18
Ofloxacin	Q	362	318	71	340	29	20
	V	362	261	71	340	39	14
Penicillin G	Q	333	192	-31	-200	-16	-17
	V	333	74	-31	-200	-36	-17
Penicillin V	Q	349	208	-31	-180	-38	-15
	V	349	93	-31	-180	-14	-17
Piperacillin	Q	516	233	-31	-220	-24	-19
	V	516	330	-31	-220	-18	-21
Sulfamethoxazol	Q	254	156	56	350	23	10
	V	254	92	56	350	39	6
Trimethoprim	Q	291	261	71	340	33	14
	V	291	230	71	340	37	16
Vancomycin	Q	725	144	51	340	21	10
	V	725	100	51	340	59	8

*Q/V: MRM zur Quantifizierung bzw. Verifizierung.

6.1.2 Bestimmung von Antibiotika in Urinproben mittels LC-MS/MS (Biomonitoring)

Die Urinproben werden bis zur Analyse bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Die Probenvorbereitung beim Biomonitoring erfolgt mittels Festphasenextraktion. Die Bakerbond C18 SPE-Kartuschen (1000 mg Sorbens, 6 mL Vorratsvolumen) werden mit zweimal 3 mL Methanol und zweimal 3 mL VE-Wasser konditioniert. Die Urinproben werden mit verd. HCl auf pH 6 eingestellt und 5 mL Probe langsam durch die Kartusche gesaugt. Nach 5 Minuten Trocknung erfolgt die Elution der Antibiotika mit 5 mL einer Methanol:Tetrahydrofuran (1:1, v/v) Lösung. Der Extrakt wird im Stickstoffstrom bei $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zur Trockene eingedampft und in 1 mL VE-Wasser wieder gelöst. Vor der Injektion wird die Probe durch einen $0,45\text{ }\mu\text{m}$ Celluloseacetat Spritzenfilter filtriert. Die analytische Bestimmung erfolgt entsprechend der beim Umgebungsmonitoring beschriebenen Methode (siehe Kapitel 6.1.1). Zur Quantifizierung muss die Messung mit einer frischen Matrixkalibration erfolgen.

6.1.3 Bestimmung von Zytostatika in Wischproben (Umgebungsmonitoring)

Die Probenahme erfolgt mit fussselfreien Kleenex Lite 100 Wischtüchern, die jeweils mit 1 mL einer sauren Lösung (VE-Wasser mit HCl auf pH 3 eingestellt) befeuchtet werden. Der Wischvorgang erfolgt über die gesamte Oberfläche in eine Richtung. Der Vorgang wird durch Wischen mit jeweils einem frischen Wischtuch in eine andere Richtung zweimal wiederholt (s. SAA in Kapitel 6.3.2). Die drei Tücher werden in ein Kunststoffgefäß gegeben und mit 30 mL der pH3 Lösung 15 Minuten im Ultraschallbad extrahiert. Zur LC-MS/MS-Messung wird 1 mL durch einen 0,45 µm Celluloseacetat-Spritzenfilter in ein Autosampler-Vial filtriert und bis zur Injektion von 20 µL im Autosampler bei 6-8 °C gelagert. Rückstellproben werden ebenfalls direkt filtriert und bei -18 °C eingefroren.

Die chromatographische Trennung erfolgt mit dem in Tabelle 6-3 dargestellten Wasser-Acetonitril-Gradienten auf einer 125x2 mm Nucleodur® 100-5 C18 ec HPLC-Säule mit einer Flussrate von 300 µL/min bei 30 °C.

Tabelle 6-3: HPLC-Gradient zur Bestimmung von sieben Zytostatika.

Zeit [min]	Mobile Phase A* [%]	Mobile Phase B* [%]
0	95	5
2	95	5
12	50	50
15	50	50
16	95	5
20	95	5

* Mobile Phase A: 0,1 % HCOOH in H₂O, Mobile Phase B: 0,1 % HCOOH in ACN.

Nach Ionisierung mittels TurbolonSpray® bei 450°C erfolgt die Messung in drei Zeitfenstern mit Polaritätswechsel sowohl im positiven und negativen MRM-Modus mit dem Analysensystem 2 (API 3000 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer). Die Ionisierungsspannung beträgt bei ESI⁻ -4500 V und bei ESI⁺ 5000 V. Umschalt-(settling time) und Verweilzeit (dwell time) betragen 700 bzw. 100 ms. Die numerischen Gaseinstellungen betragen Nebulizer Gas = 15, Curtain Gas = 12 und

Collision Gas = 6. Zur exakten Quantifizierung ist eine gewichtete Matrix-Kalibration (1/x) notwendig. Die Auswertung erfolgt mittels Analyst™. In Tabelle 6-4 sind die MS/MS - Messbedingungen zusammengefasst.

Tabelle 6-4: MS/MS-Einstellungen zur Bestimmung von sieben Zytostatika.

	Q/V ¹	Q ₁ [amu]	Q ₃ [amu]	DP [V]	FP [V]	CE [eV]	CXP [V]
5-Fluorouracil	Q	129	42	-50	-350	-28	-5
	V	129	59	-50	-350	-28	-5
Chlorambucil²	Q	266	248	-31	-190	-26	-17
	V	266	194	-31	-190	-28	-17
Cyclophosphamid	Q	261	140	31	60	31	10
	V	261	233	31	60	23	16
Cytarabin	Q	244	112	16	120	19	8
	V	244	95	16	120	59	8
Docetaxel³	Q	830	549	100	330	35	38
	V	830	248	100	330	45	18
Etoposid	Q	589	229	16	130	21	16
	V	589	185	16	130	47	12
Gemcitabin	Q	264	112	56	280	27	8
	V	264	95	56	280	59	6
Ifosfamid	Q	261	92	36	200	37	8
	V	261	154	36	200	33	10
Methotrexat	Q	453	324	-56	-300	-30	-23
	V	453	174	-56	-300	-46	-23
Paclitaxel³	Q	876	308	100	310	43	18
	V	876	591	100	310	35	36

¹ Q/V: MRM zur Quantifizierung bzw. Verifizierung.

² Messung der Dihydroxyverbindung nach Hydrolyse von Chlorambucil in Q₁.

³ Selektion des Natrium-Addukts in Q₁

6.1.4 Bestimmung von Antibiotika und Zytostatika in Toilettenabwässern

Zur Kontrolle der Wirksamkeit des Behandlungsverfahrens ist die Anwendung einer einfachen und robusten Multi-Methode ohne aufwändige Probenvorbereitung notwendig. Nach Filtration durch einen 0,45 µm Celluloseacetat-Spritzenfilter werden 20 µL der Probe direkt mittels LC-MS/MS (Analysensystem 2) analysiert. Die chromatographische Trennung erfolgt mit einem 0,1 % Ameisensäure enthaltenden Wasser-Acetonitril-Gradienten (Tabelle 6-5) auf einer 125x3 mm Nucleodur 100-5 C18 ec HPLC-Säule mit einer Flussrate von 400 µL/min bei 30°C. Nach Ionisierung mittels TurbolonSpray® bei 500°C erfolgt die Messung in drei Zeitfenstern sowohl im positiven und negativen MRM-Modus mit Polaritätswechselzeiten (settling time) und Verweilzeiten (dwell time) von 700 bzw. 100 ms. Die numerischen Gaseinstellungen betragen Nebulizer Gas = 15, Curtain Gas = 12 und Collision Gas = 6. Zur Quantifizierung ist eine gewichtete Matrix-Kalibration (1/x) notwendig. Zur Empfindlichkeitssteigerung wird die Analyse der 15 Substanzen in drei Zeitfenster unterteilt und auf die Messung eines zweiten MRM-Übergangs verzichtet. Zur Bestimmung von unbekanntem Proben sollte ein zweiter Massenübergang zur Verifizierung hinzugefügt werden. Bei niedrig konzentrierten Proben ist ggf. die Aufkonzentrierung mittels Festphasenextraktion notwendig. Ein Beispielchromatogramm ist in Kapitel 5.6.2 (Abbildung 5-26) dargestellt.

Tabelle 6-5: HPLC-Gradient zur Bestimmung von Antibiotika und Zytostatika.

Zeit [min]	Mobile Phase A* [%]	Mobile Phase B* [%]
0	95	5
2	95	5
12	50	50
15	50	50
16	95	5
20	95	5

* Mobile Phase A: 0,1 % HCOOH in H₂O, Mobile Phase B: 0,1 % HCOOH in ACN.

Tabelle 6-6: MS/MS-Einstellungen und Nachweisgrenzen (s/n = 3:1) der Analyse-
methode für die Untersuchung von Zytostatika und Antibiotika.

	Q₁ [amu]	Q₃ [amu]	DP [V]	FP [V]	CE [eV]	CXP [V]	NWG [ng/mL]
5-Fluorouracil	129	42	-50	-350	-28	-5	0,5
Amoxicillin	366	208	46	310	19	14	2
Cefuroxim	423	207	-51	-320	-18	-15	0,5
Chlorambucil*	266	248	-31	-190	-26	-17	0,5
Chloramphenicol	321	152	-76	-330	-24	-17	0,5
Ciprofloxacin	332	289	56	340	27	24	2
Cyclophosphamid	261	140	31	60	31	10	0,2
Cytarabin	244	112	16	120	19	8	0,5
Etoposid	589	229	16	130	21	16	2
Ifosfamid	261	92	36	200	37	8	0,2
Methotrexat	453	324	-56	-300	-30	-23	0,5
Ofloxacin	362	318	61	340	27	24	2
Penicillin V	349	208	-56	-350	-14	-17	1
Sulfamethoxazol	254	156	71	350	23	12	0,5
Trimethoprim	291	261	56	320	35	20	0,2

* Messung der Dihydroxyverbindung nach Hydrolyse von Chlorambucil.

6.2 AOP - Versuche

6.2.1 Aufbau der Versuchsanlagen

Für die Untersuchungen zum Abbau von Antibiotika und Zytostatika mittels erweiterter Oxidationsverfahren (AOP) standen die in Kapitel 4.2.2 aufgeführten Versuchsanlagen zur Verfügung. Nachfolgend sind diese nochmals detaillierter dargestellt. In der Laboranlage wurde mit Quecksilber-Niederdruck- und Quecksilber-Mitteldruck-Strahlern der Fa. Heraeus gearbeitet. Die genaue Charakterisierung der beiden UV-Strahler ist in Abbildung 6-1 angegeben.

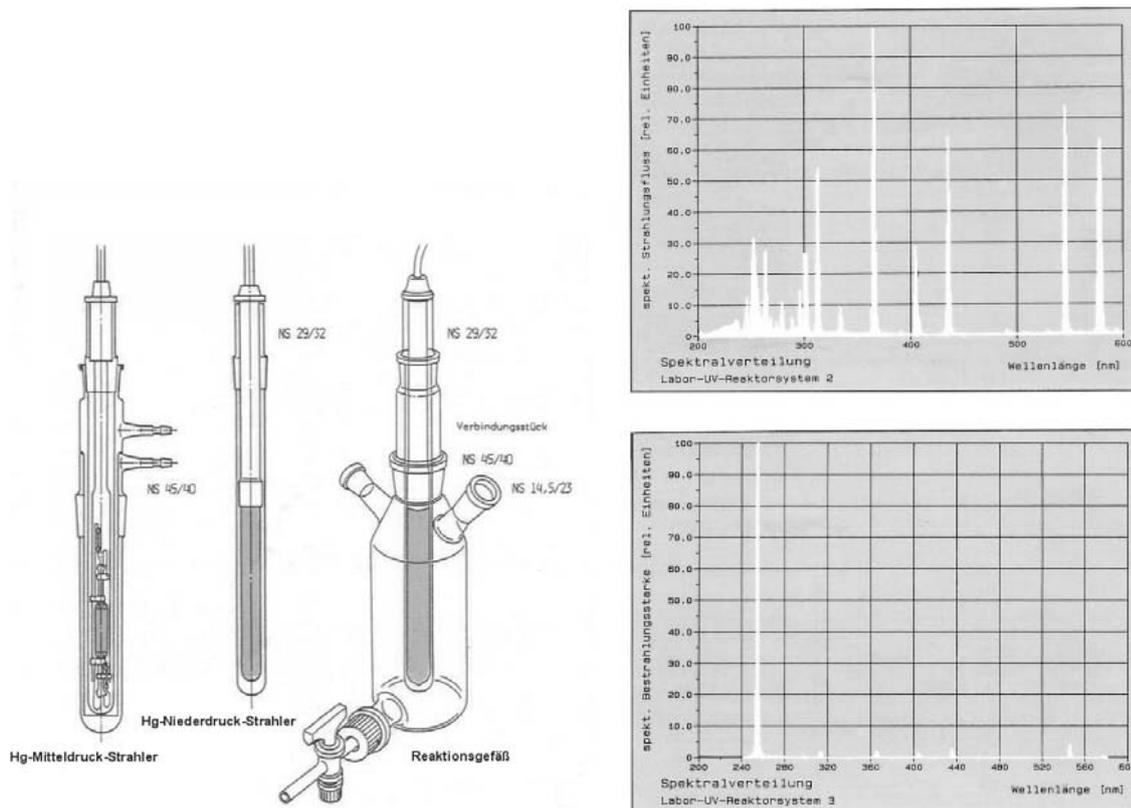


Abbildung 6-1: Strahler und Laborreaktor der Fa. Heraeus sowie Emissionsspektren der beiden Strahler.

oben: TQ 150 Hg-Md-Strahler, $P = 150$ W, Strahlungsfluss: 6,2 W UV-C, 3,6 W UV-B, 4,5 W UV-A;
 unten: TNN 15/32 Hg-Nd-Strahler, $P = 15$ W, Strahlungsfluss: 3 W (254 nm).

Zur Bestimmung von Abbaukinetiken ist es notwendig, den Laborreaktor mit einer externen Temperierung auszustatten. Das Volumen des Gesamtsystems erhöht sich

hierdurch auf ca. 1,1 L. Das Volumen des Reaktionsteils beträgt bei den Versuchen mit dem Mitteldruckstrahler 800 mL und mit dem Niederdruckstrahler 950 mL. Für Versuche mit höheren Volumina wird ein zusätzlicher Vorratsbehälter mit einem maximalen Volumen von fünf Litern an die Laboranlage angeschlossen. In Abbildung 6-2 ist die in dieser Arbeit verwendete Laborversuchsanlage schematisch dargestellt.

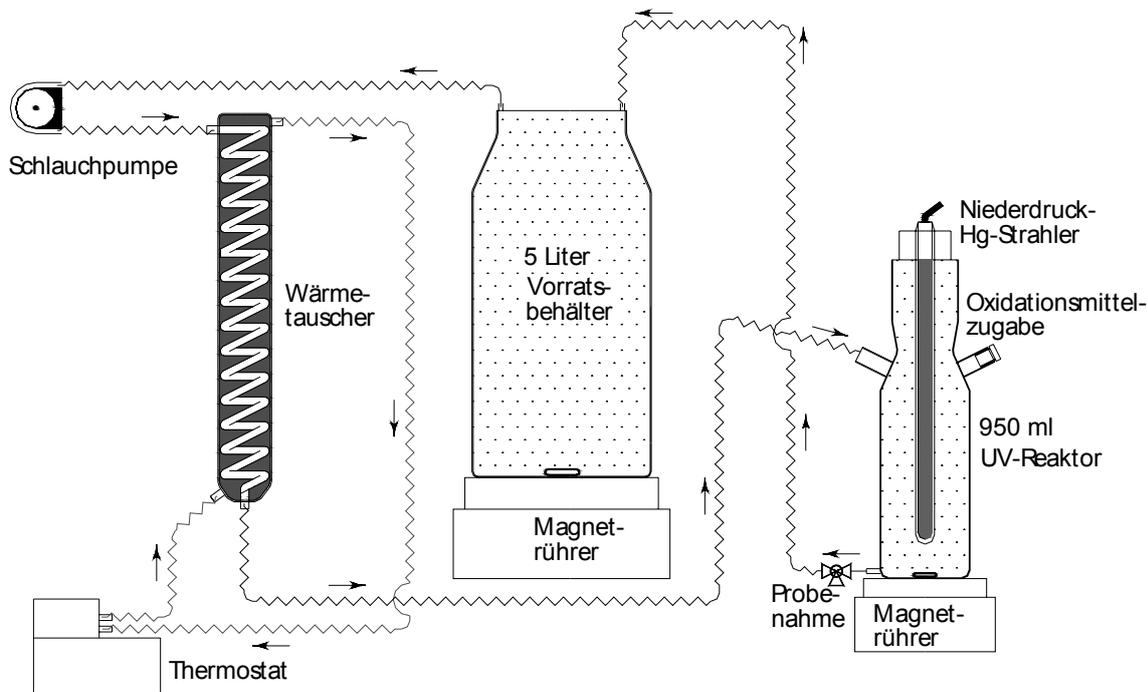


Abbildung 6-2: Schematische Darstellung der Laborversuchsanlage.

Zur Auslegung einer Pilotanlage wurden orientierende Versuche mit zwei technischen Durchflussreaktoren der Fa. UMEX durchgeführt. In Abbildung 6-3 ist die verwendete halbtechnische Anlage mit dem Vakuum-UV-Quecksilber-Mitteldruckstrahler ABOX[®] MS 2 dargestellt. Die detaillierten Spezifikationen der verwendeten UV-Strahler sind in Tabelle 4-1 zusammengefasst.



Abbildung 6-3: Halbtechnischer Versuchsanlage zur UV-Oxidation.

Strahler (links) mit Vorratsgefäß und Kühler der Fa. UMEX. Hg-Md-Strahler: $P = 800 \text{ W}$, UVC 160 W, UVC photochemisch. 48 W, $V_{\text{Reaktor}} = 375 \text{ mL}$.

Die Versuche zur Ozonisierung wurden mit einem ANSEROS COM-CD-HF 2 Ozongenerator ($c = 115 \text{ g O}_3/\text{m}^3$, $0,04 \text{ Nm}^3/\text{h}$ Volumenstrom, Gaseintrag in den Laborreaktor über eine G3-Glasfritte mit einem Durchmesser von 1 cm) sowie einer Laboranlage der Fa. WEDECO durchgeführt (Spezifikationen: siehe Abbildung 6-4).

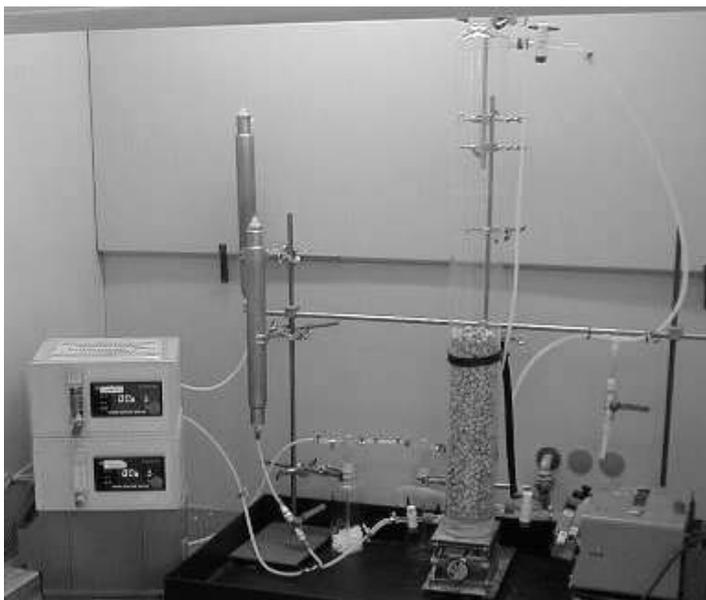


Abbildung 6-4: Laborversuchsstand (Blasensäule) zur Ozonisierung der Fa. Wedeco. Wasservolumen: 4 - 6 L, Gasvolumenstrom: $0,03 \text{ m}^3/\text{h}$, $c = 70 \text{ g O}_3/\text{m}^3$, Feed- und Off-Gas-Messung von O_3 zur Bestimmung des Ozonverbrauchs.

6.2.2 Versuchsdurchführung

Nachfolgend sind für die Durchführung der Laborexperimente die einzelnen Arbeitsschritte und Probenahmen skizziert. Für die Versuche mit den halbtechnischen Anlagen und Ozon müssen ggf. die Zeitintervalle der Probenahme sowie die anlagenspezifischen Einstellungen verändert werden.

- Thermostat einschalten, Temperatur einstellen (z. B. 30 °C),
- Reaktor mit dem dotierten Abwasser befüllen,
- Schlauchpumpe anschalten (Durchflusseinstellung: 50% → ca. 180 mL/min),
- Nach ca. 5 Minuten Durchmischung erfolgt die erste Probenahme (Nullwert bei 0 min), Filtration der Probe über einen 0,45 µm Spritzenfilter,
- Zugabe von Wasserstoffperoxid,
- Anschalten der UV-Lampe,
- Vor der Abnahme der Proben über den 3-Wege Hahn, etwas Vorlauf in ein Abfallgefäß laufen lassen. Entnahme der Proben nach 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 80, 100 und 120 Minuten. Alle Proben werden über einen 0,45 µm Spritzenfilter filtriert.
- Probenahmen vor und nach dem Versuch:
 - o Substanzanalytik (LC-MS/MS): 1 mL Autosamplervial
 - o Summenparameter: 800 – 1000 mL
 - o Genotoxizität: 50 – 100 mL
 - o Rückstellprobe: 100 – 500 mL
- Bis auf die LC-MS/MS-Proben muss enthaltenes Restperoxid in den Proben nach der oxidativen Behandlung mit Kappazym bis zu einer maximalen Konzentration von 5-10 mg/L Peroxid zerstört werden. Die Kontrolle erfolgt mit Teststreifen der Fa. Macherey-Nagel.
- Bis auf die direkt gemessenen LC-MS/MS-Proben werden alle Proben bis zur Analyse bei – 18 °C gelagert und transportiert.

6.2.3 Kinetische Auswertung der AOP-Versuche

Zur kinetischen Auswertung der AOP-Versuche können unterschiedliche Modelle angewendet werden. Die einfachste Methode ist die Annahme einer Kinetik erster Ordnung [468-470]. Die Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit k erfolgt durch Integration von Gleichung (1):

$$-\frac{dc}{dt} = k \cdot c_0 \quad (1)$$

$$\int_{c_0}^c \frac{dc}{c_0} = -k \cdot \int_0^t dt \Rightarrow \ln \frac{c}{c_0} = -k \cdot t \Rightarrow \ln \frac{c_0}{c} = k \cdot t \quad (2)$$

Wird $\ln \frac{c_0}{c}$ gegen die Zeit t aufgetragen, so ergibt die lineare Regression eine Gerade mit der Steigung k . Zur Bestimmung der Halbwertzeit wird $c = \frac{c_0}{2}$ in Gleichung (3) eingesetzt. Hieraus ergibt sich für die Halbwertzeit τ Gleichung (4).

$$\ln \frac{c_0}{c} = k \cdot t \quad (3)$$

$$\tau = \frac{\ln 2}{k} \quad (4)$$

Durch die in Abbildung 6-5 dargestellte Auftragung von $\ln(c/c_0)$ gegen t kann gezeigt werden, dass es sich bei fast allen Substanzen um einen Abbau erster Ordnung handelt. Nur bei den sehr schnell abgebauten Substanzen Cefuroxim (aufgrund zu weniger Datenpunkte nicht dargestellt) und Etoposid stimmen Annahme und Experiment nicht überein.

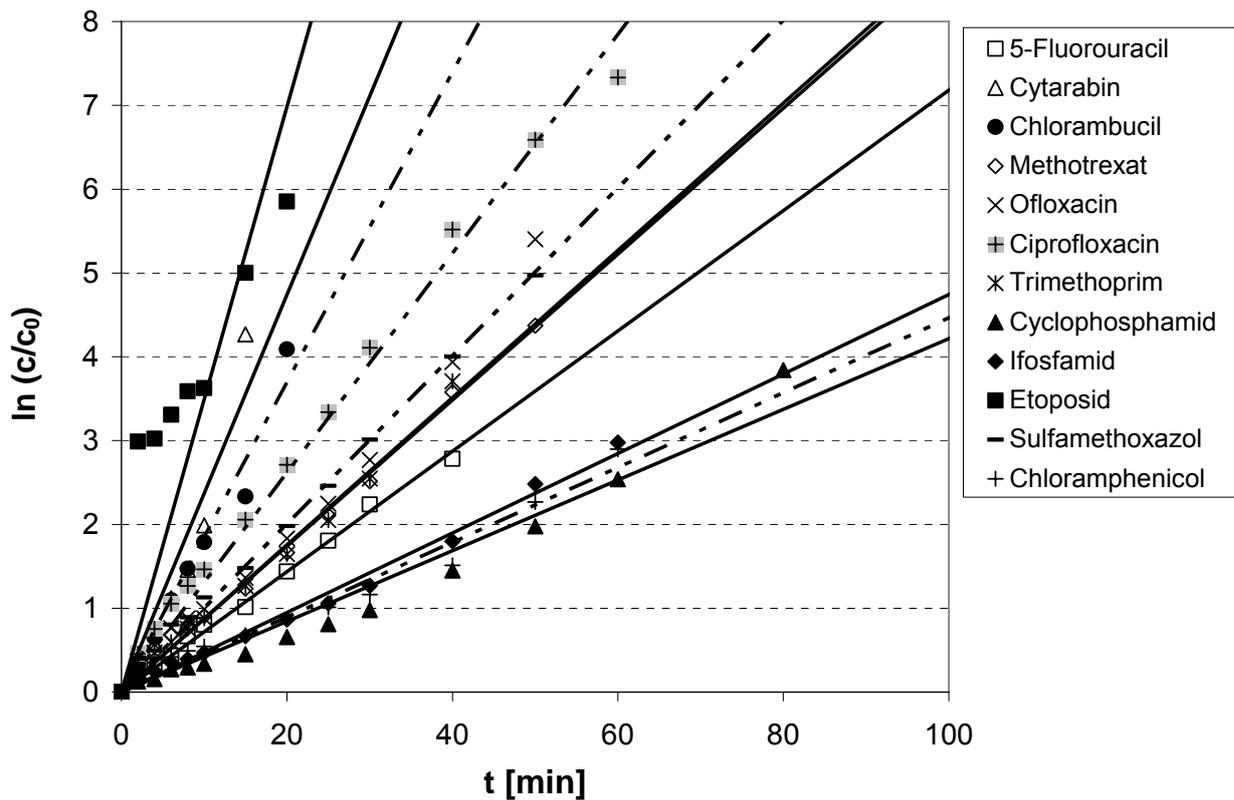


Abbildung 6-5: Auftragung von $\ln(c/c_0)$ gegen t zur Bestimmung der Halbwertszeit bei Annahme einer Abbaukinetik erster Ordnung.

Hg-Nd-Strahler, c_0 (Antibiotika) = 1000 $\mu\text{g/L}$, c_0 (Zytostatika) = 100 $\mu\text{g/L}$, $V = 3 \text{ L}$, $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 2 \text{ g/L}$.

Ähnliche Ergebnisse wurden in vergleichbaren Untersuchungen zum Abbau organischer Schadstoffe mittels oxidativer Verfahren erhalten [431, 471, 472]. Die Eliminierung von Arzneimittelwirkstoffen kann durch kinetische Ansätze erster Ordnung also sehr gut beschrieben werden.

Da Cyclophosphamid von den ausgewählten Substanzen am langsamsten abgebaut wird und persistent ist, wurden die Experimente zur AOP - Verfahrensentwicklung anhand der auf das Abwasservolumen normierten Halbwertszeit τ [min L^{-1}] von Cyclophosphamid verglichen und bewertet.

6.3 Sonstiges

6.3.1 Fragebogen zur Erfassung der Antibiotikaexposition

IUTA_Antibiotika_Monitoring_Fragebogen_22Juli2002

Seite 1 von 3

Fragebogen

zur Erfassung der individuellen Antibiotikaexposition im Rahmen des Forschungsprojektes:

„Vorbereitende Untersuchungen zur Entwicklung von Monitoringverfahren zur Kontrolle der beruflichen Exposition von Beschäftigten im Gesundheitswesen und in der Landwirtschaft gegenüber Antibiotika“

Stationsbezogene Codenummer: (wird von IUTA vergeben): **Station** , Nr.

Alle nachfolgenden Fragen beziehen sich auf den Zeitraum des Monitorings (24.-25.07.2002)

Arbeitszeit: 24.07. : _____

25.07.: _____

Tätigkeiten in diesem Zeitraum: _____

Zubereitung:

Zubereitete Antibiotika

(Substanz, Menge, Art der Applikation): _____

Eingesetzte persönliche Schutzausrüstung: _____

IUTA_Antibiotika_Monitoring_Fragebogen_22Juli2002

Seite 2 von 3

Stationsbezogene Codenummer: (wird von IUTA vergeben): **Station** , **Nr.**

Applikation:

Verabreichte Antibiotika
(Substanz, Menge, Art der Applikation): _____

Eingesetzte persönliche Schutzausrüstung: _____

IUTA_Antibiotika_Monitoring_Fragebogen_22Juli2002

Seite 3 von 3

Stationsbezogene Codenummer: (wird von IUTA vergeben): **Station** , **Nr.****Patientenpflege:**Anzahl der versorgten Patienten
unter Antibiotika-Therapie: _____Art der Tätigkeit _____

Eingesetzte persönliche Schutzausrüstung: _____

Sonstiges:Andere Expositionssituationen
(Abfallentsorgung, Auspacken,
Reinigung, ...)

_____Besondere Ereignisse
(Freisetzung größerer Substanzmengen,
Spritzer etc.)
(Vorfall, Substanz, Menge)

_____Haben Sie in den vergangenen 14
Tagen eine Antibiotikatherapie erhalten? _____Wenn ja, bitte Präparat und Menge angeben: _____

6.3.2 Standardarbeitsanweisung und Probenahmeprotokoll zur Untersuchung von Zytostatika - Flächenbelastungen

IUTA e.V.: Standardarbeitsanweisung und Probenahmeprotokoll für Zytostatika-Monitoring (WP-SAA 01)



Wischprobenahme Set

zur Untersuchung der Zytostatika - Flächenbelastung

Enthaltene Materialien:

- ◆ 8 PE-Becher mit 3 gefalteten Wischtüchern
(1 Tuch pro Wischrichtung – s. Abb. unten)
- ◆ ca. 40 mL Probenahmelösung
(VE-Wasser mit verd. HCl auf pH 3 eingestellt)
- ◆ 3 PE-Pipetten
- ◆ 2 Kühlakkus (bitte vor der Probenahme einfrieren)
- ◆ Isolierband
- ◆ Maßband
- ◆ Dokumentationsblätter und Standardarbeitsanweisung zur Wischprobenahme

weitere benötigte Materialien:

- ◆ wasserfester Stift
- ◆ Handschuhe
- ◆ ggf. Kittel
- ◆ ggf. Schutzbrille
- ◆ ggf. Digitalkamera zur Dokumentation der Probenahmeflächen

Ersatzmaterialien:

- ◆ 1 PE-Becher mit 3 gefalteten Wischtüchern
- ◆ ca. 10 mL Probenahmelösung
(VE-Wasser mit verd. HCl auf pH 3 eingestellt)

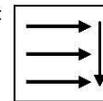


Arbeitsanweisung zur Durchführung von Wischproben:

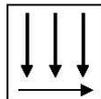
1. Dokumentationsblätter ausfüllen.
2. Probenahmepunkte markieren (siehe Beispielfoto rechts) und falls möglich fotografieren.
3. PE-Becher mit wasserfestem Stift beschriften oder etikettieren.
4. Wischtücher aus dem ersten PE-Becher herausnehmen und auf den Deckel der Styroporbox legen.
5. ca. 1 mL der Probenahmelösung mit der Pipette auf **ein** Tuch geben.
6. Probenahmefläche mit dem feuchten Tuch in eine Richtung gleichmäßig abwischen, Tuch 1x falten und quer zur Wischfront erneut 1x wischen.
7. Tuch in den PE-Becher zurückgeben.
8. Wischvorgang wie unter 5-7 beschrieben mit den beiden anderen Tüchern wiederholen, dabei die **Wischrichtung variieren:**



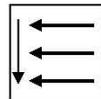
1. Wischen:



2. Wischen:



3. Wischen:



9. Alle Tücher von einer Probenahmefläche in den beschrifteten PE-Becher zurückgeben.
10. Handschuhe nach jeder Probenahme wechseln.
11. Proben sicher verpacken, eingefrorene Gefrierakkus in das Set legen und innerhalb von **24 h gekühlt** verschicken.
12. Falls möglich, die Fotos der Probenahmeflächen per E-Mail (info@iuta.de oder tuerk@iuta.de) oder zusammen mit dem Set als Ausdruck an das IUTA senden.
13. Markierungen entfernen.

IUTA e.V.: Standardarbeitsanweisung und Probenahmeprotokoll für Zytostatika-Monitoring (WP-SAA 01)



Probenahmeprotokoll für die Wischprobenahme

Auftraggeber: Adresse	
Tel.: FAX: E-Mail:	
Datum:	
Probenahme-Ort:	
Probenehmer:	
Anzahl der Proben:	
Gesuchte Substanz(en):	
Verwendetes Verfahren:	Probenahme nach IUTA SAA WP 01 <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein* (*anderes Verfahren oder Abweichungen bitte unter Bemerkungen beschreiben)
Probengefäß:	
Lagerung:	
Sonstige Dokumentations- materialien:	
Analysenlabor:	Institut für Energie- und Umwelttechnik e.V. Bliersheimer Str. 60 47229 Duisburg Tel.: 02065/418-179
Bemerkungen: (ggf. auf der Rückseite oder auf einem Zusatzblatt ergänzen)	
Verschickt am:	

IUTA e.V.: Standardarbeitsanweisung und Probenahmeprotokoll für Zytostatika-Monitoring (WP-SAA 01)



Probenliste

Nr.	Fläche/Gegenstand	Lage im Raum	Material	Größe	Anzahl der Wischtücher	Bemerkungen
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						

7 Literatur

- [1] W. Dekant, S. Vamvakas. *Toxikologie für Chemiker und Biologen*. 1994, Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag.
- [2] E. Mutschler, G. Geisslinger, H.K. Kroemer, M. Schäfer-Korting. *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 8., völlig neu bearb. und erw. Aufl. 2001, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- [3] *The Cytotoxics Handbook*, ed. M. Allwood, A. Stanley, and P. Wright. 2002, Oxford: Radcliffe Medical Press Ltd.
- [4] C. Simon, W. Stille. *Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis*. 8., Neubearb. und erw. Aufl. 1993, Stuttgart: Schattauer.
- [5] R. Wise. *The relentless rise of resistance?* J Antimicrob Chemother, 2004. **54**(2): 306-310.
- [6] H.C. Neu. *The crises in antibiotic resistance*. Sci. Total Environ., 1992. **257**: 1064-1073.
- [7] *Ausschuß für Gefahrstoffe. Technische Regeln für Gefahrstoffe 525. Umgang mit Gefahrstoffen in Einrichtungen der humanmedizinischen Versorgung*. Bundesarbeitsblatt, 1998. **5**: 99-105.
- [8] *Gesetz über die Durchführung von Maßnahmen des Arbeitsschutzes zur Verbesserung der Sicherheit und des Gesundheitsschutzes der Beschäftigten bei der Arbeit (Arbeitsschutzgesetz - ArbSchG)*. Arbeitsschutzgesetz vom 7. August 1996 (BGBl. I S. 1246), zuletzt geändert durch Artikel 227 der Verordnung vom 31. Oktober 2006 (BGBl. I S. 2407)".
- [9] *Gesetz zum Schutz vor gefährlichen Stoffen - Chemikaliengesetz (ChemG)*: Chemikaliengesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 20. Juni 2002 (BGBl. I S. 2090), zuletzt geändert durch Artikel 12 des Gesetzes vom 22. August 2006 (BGBl. I S. 1970).
- [10] *GefStoffV - Gefahrstoffverordnung vom 23. Dezember 2004 (BGBl. I S. 3758, 3759)*, zuletzt geändert durch Artikel 442 der Verordnung vom 31. Oktober 2006 (BGBl. I S. 2407).
- [11] *M 620 - Sichere Handhabung von Zytostatika*. 2004, Hamburg: Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege (BGW).
- [12] P.J.M. Sessink. *Monitoring of occupational exposure to antineoplastic agents*. PhD thesis. 1996: University Nijmegen.
- [13] D.A. Pethran. *Schlußbericht Untersuchung einer möglichen Gesundheitsgefährdung durch berufliche Exposition gegenüber Zytostatika*. Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie, 1998.

- [14] R. Schierl, A. Pethran, D. Nowak. *Beurteilung der Exposition gegenüber Zytostatika mittels standardisierter Wischproben. Schlussbericht*. 2002, Ludwig-Maximilians-Universität München: Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie, Berufsgenossenschaft für Wohlfahrtspflege, Bundesunfallkasse.
- [15] W. Fransman. *Antineoplastic drugs: Occupational exposure and health risks. PhD thesis*. 2006, Utrecht University.
- [16] S. McLoughlin, D. Bowdler, N.B. Roberts. *Measurement of Platinum in Plasma and Urine by Direct Current Plasma Atomic Emission Spectrometry*. *J Anal At Spectrom*, 1988. **3**: 273-278.
- [17] P. Tothill, L.M. Matheson, J.F. Smyth. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for the Determination of Platinum in Animal Tissues and a Comparison With Atomic Absorption Spectrometry*. *J Anal At Spectrom*, 1990. **5**: 619-622.
- [18] A.S. Ensslin, A. Pethran, R. Schierl, G. Fruhmann. *Urinary Platinum in-Hospital Personnel Occupationally Exposed to Platinum-Containing Antineoplastic Drugs*. *Int Arch Occup Environ Health*, 1994. **65**(5): 339-342.
- [19] P. Schramel, I. Wendler, J. Angerer. *The determination of metals (antimony, bismuth, lead, cadmium, mercury, palladium, platinum, tellurium, thallium, tin and tungsten) in urine samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry*. *Int Arch Occup Environ Health*, 1997. **69**(3): 219-223.
- [20] O. Nygren, C. Lundgren. *Determination of platinum in workroom air and in blood and urine from nursing staff attending patients receiving cisplatin chemotherapy*. *Int Arch Occup Environ Health*, 1997. **70**(3): 209-214.
- [21] S. Spezia, B. Bocca, G. Forte, A. Gatti, G. Mincione, A. Ronchi, P. Bavazzano, A. Alimonti, C. Minoia. *Comparison of inductively coupled plasma mass spectrometry techniques in the determination of platinum in urine: quadrupole vs. sector field*. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2005. **19**(11): 1551-1556.
- [22] M. Kubo, H. Sasabe, T. Shimizu. *Highly sensitive method for the determination of 5-fluorouracil in biological samples in the presence of 2'-deoxy-5-fluorouridine by gas chromatography-mass spectrometry*. *J Chromatogr*, 1991. **564**(1): 137-145.
- [23] L. Thiberville, P. Compagnon, N. Moore, G. Bastian, M.O. Richard, M.F. Hellot, C. Vincent, M.M. Kannass, S. Dominique, C. Thuillez, et al. *Plasma 5-fluorouracil and alpha-fluoro-beta-alanin accumulation in lung cancer patients treated with continuous infusion of cisplatin and 5-fluorouracil*. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1994. **35**(1): 64-70.
- [24] K. Wang, M. Nano, T. Mulligan, E.D. Bush, R.W. Edom. *Derivatization of 5-fluorouracil with 4-bromomethyl-7-methoxycoumarin for determination by liquid chromatography-mass spectrometry*. *J Am Soc Mass Spectrom*, 1998. **9**(9): 970-976.
- [25] S. Funck. *Umgebungsmonitoring des Zytostatikums 5-Fluorouracil und Nachweis seines Hauptmetaboliten im Urin. Dissertation*. 2003. München: Ludwig-Maximilians-Universität.

- [26] P.J. Sessink, M.M. Scholtes, R.B. Anzion, R.P. Bos. *Determination of cyclophosphamide in urine by gas chromatography-mass spectrometry*. J Chromatogr, 1993. **616**(2): 333-337.
- [27] G. Schmaus, R. Schierl, S. Funck. *Monitoring surface contamination by antineoplastic drugs using gas chromatography-mass spectrometry and voltammetry*. Am J Health Syst Pharm, 2002. **59**(10): 956-961.
- [28] R. Kohl. *Spurenanalytische Erfassung zytostatisch wirksamer Stickstoff-Last-Derivate in aquatischen Umweltkompartimenten mittels gaschromatographischer Verfahren - Entwicklung, Optimierung, Validierung, Realprobenmessungen*. Dissertation. 2002. Bochum: Ruhr-Universität Bochum.
- [29] M. Sorsa, D. Anderson. *Monitoring of occupational exposure to cytostatic anticancer agents*. Mutat Res, 1996. **355**(1-2): 253-261.
- [30] T.H. Connor, R.W. Anderson, P.J. Sessink, L. Broadfield, L.A. Power. *Surface contamination with antineoplastic agents in six cancer treatment centers in Canada and the United States*. Am J Health Syst Pharm, 1999. **56**(14): 1427-1432.
- [31] C. Clark. *Occupational exposure to cytotoxic drugs*. Pharm. J., 1999. **263**: 65-67.
- [32] T.K. Kiffmeyer, K. Morick, S. Opiolka, K.G. Schmidt. *Die Tastatur war am höchsten belastet*. Krankenhaus Technik+ Management, 2000. **27**(1/2): 54-56.
- [33] A. Pethran, R. Schierl, G. Schmaus. *Wischproben an Arbeitsplätzen mit Zytostatika-Exposition*. Krankenhauspharmazie, 2001. **22**(1): 11-15.
- [34] T.K. Kiffmeyer, C. Kube, S. Opiolka, Dr.-Ing., K.G. Schmidt, G. Schöppe, P.J. Sessink. *Vapour pressures, evaporation behaviour and airborne concentrations of hazardous drugs: implications for occupational safety*. Pharm J., 2002. **268**: 331-337.
- [35] E. Ziegler, H.J. Mason, P.J. Baxter. *Occupational exposure to cytotoxic drugs in two UK oncology wards*. Occup Environ Med, 2002. **59**: 608-612.
- [36] S. Crauste-Manciet, P.J. Sessink, S. Ferrari, J.Y. Jomier, D. Brossard. *Environmental contamination with cytotoxic drugs in healthcare using positive air pressure isolators*. Ann Occup Hyg, 2005. **49**(7): 619-628.
- [37] S. Funck, R. Schierl. *Sicherheit bei der Zytostatikaherstellung*. Dtsch. Apoth.-Ztg., 2004. **144**(10): 55-60.
- [38] A. Acampora, L. Castiglia, N. Miraglia, M. Pieri, C. Soave, F. Liotti, N. Sannolo. *A case study: surface contamination of cyclophosphamide due to working practices and cleaning procedures in two Italian hospitals*. Ann Occup Hyg, 2005. **49**(7): 611-618.
- [39] H.J. Mason, S. Blair, C. Sams, K. Jones, S.J. Garfitt, M.J. Cuschieri, P.J. Baxter. *Exposure to antineoplastic drugs in two UK hospital pharmacy units*. Ann Occup Hyg, 2005. **49**(7): 603-610.
- [40] A. Maydl, R. Schierl, D. Nowak. *Kontaminationen mit Zytostatika auf Stationen in Krankenhäusern*. Krankenhauspharmazie, 2005. **26**(10): 391 - 397.

- [41] R. Hirsch, T.A. Ternes, K. Haberer, A. Mehlich, F. Ballwanz, K.L. Kratz. *Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry*. J Chromatogr A, 1998. **815**(2): 213-223.
- [42] F. Sacher, F.T. Lange, H.J. Brauch, I. Blankenhorn. *Pharmaceuticals in groundwaters analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Wuerttemberg, Germany*. J Chromatogr A, 2001. **938**(1-2): 199-210.
- [43] S. Öllers, H.P. Singer, P. Fassler, S.R. Muller. *Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water*. J Chromatogr A, 2001. **911**(2): 225-234.
- [44] T.A. Ternes. *Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental sampl.* TrAC, Trends Anal. Chem., 2001. **20**(8): 419-434.
- [45] X.S. Miao, B.G. Koenig, C.D. Metcalfe. *Analysis of acidic drugs in the effluents of sewage treatment plants using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry*. J Chromatogr A, 2002. **952**(1-2): 139-147.
- [46] M.P. Schlusener, K. Bester, M. Spiteller. *Determination of antibiotics such as macrolides, ionophores and tiamulin in liquid manure by HPLC-MS/MS*. Anal Bioanal Chem, 2003. **375**(7): 942-947.
- [47] D. Löffler, T.A. Ternes. *Determination of acidic pharmaceuticals, antibiotics and ivermectin in river sediment using liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. J Chromatogr A, 2003. **1021**(1-2): 133-144.
- [48] M.J. Lopez de Alda, S. Diaz-Cruz, M. Petrovic, D. Barcelo. *Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry of selected emerging pollutants (steroid sex hormones, drugs and alkylphenolic surfactants) in the aquatic environment*. J Chromatogr A, 2003. **1000**(1-2): 503-526.
- [49] B.J. Vanderford, R.A. Pearson, D.J. Rexing, S.A. Snyder. *Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry*. Anal Chem, 2003. **75**(22): 6265-6274.
- [50] R. Reupert, G. Brausen. *Bestimmung relevanter Arzneimittelwirkstoffe in Gewässern*. CLB, 2004. **55**(3): 88-91.
- [51] L.K. Sorensen, T.H. Elbaek. *Simultaneous determination of trimethoprim, sulfadiazine, florfenicol and oxolinic acid in surface water by liquid chromatography tandem mass spectrometry*. Chromatographia, 2004. **60**(5-6): 287-291.
- [52] S. Zuehlke, U. Duennbier, T. Heberer. *Determination of polar drug residues in sewage and surface water applying liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. Anal Chem, 2004. **76**(22): 6548-6554.
- [53] C. Zwiener, F.H. Frimmel. *LC-MS analysis in the aquatic environment and in water treatment technology - a critical review. Part II: Applications for emerging contaminants and related pollutants, microorganisms and humic acids*. Anal Bioanal Chem, 2004. **378**(4): 862-874.

- [54] S.C. Kim, K. Carlson. *LC-MS2 for quantifying trace amounts of pharmaceutical compounds in soil and sediment matrices*. TrAC, Trends Anal. Chem., 2005. **24**(7): 635-644.
- [55] M.S. Diaz-Cruz, D. Barcelo. *LC-MS2 trace analysis of antimicrobials in water, sediment and soil*. TrAC, Trends Anal. Chem., 2005. **24**(7): 645-657.
- [56] A. Bruchet, C. Hochereau, C. Picard, V. Decottignies, J.M. Rodrigues, M.L. Janex-Habibi. *Analysis of drugs and personal care products in French source and drinking waters: the analytical challenge and examples of application*. Water Sci. Technol., 2005. **52**(8): 53-61.
- [57] T.A. Ternes, M. Bonerz, N. Herrmann, D. Löffler, E. Keller, B.B. Lacida, A.C. Alder. *Determination of pharmaceuticals, iodinated contrast media and musk fragrances in sludge by LC/tandem MS and GC/MS*. J Chromatogr A, 2005. **1067**(1-2): 213-223.
- [58] K. Kummerer, T. Erbe, S. Gartiser, L. Brinker. *AOX-emissions from hospitals into municipal waste water*. Chemosphere, 1998. **36**(11): 2437-2445.
- [59] T.K. Kiffmeyer. *Ökologisch-chemisches Verhalten und spurenanalytische Charakterisierung von Zytostatika unter Anwendung von flüssigchromatographischen Verfahren*. Dissertation. 1998, Universität Bochum: 1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier 1999.
- [60] K. Kummerer, E. Helmers, P. Hubner, G. Mascart, M. Milandri, F. Reinthaler, M. Zwakenberg. *European hospitals as a source for platinum in the environment in comparison with other sources*. Sci Total Environ, 1999. **225**(1-2): 155-165.
- [61] *ATV-Merkblatt 775, Abwasser aus Krankenhäuser und anderen medizinischen Einrichtungen*. Deutsche Krankenhausgesellschaft, 2000: 1-86.
- [62] K. Kummerer. *Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources--a review*. Chemosphere, 2001. **45**(6-7): 957-969.
- [63] R. Kohl. *Spurenanalytische Erfassung zytostatisch wirksamer Stickstoff-Lost-Derivate in aquatischen Umweltkompartimenten mittels gaschromatographischer Verfahren - Entwicklung, Optimierung, Validierung, Realprobenmessungen*. 2002. Bochum: Ruhr-Universität Bochum.
- [64] D. Löffler, T.A. Ternes. *Analytical method for the determination of the aminoglycoside gentamicin in hospital wastewater via liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry*. J Chromatogr A, 2003. **1000**(1-2): 583-588.
- [65] H. Färber, D. Skutlarek, B. Alberti, R. Reupert. *Belastung kommunaler Abwässer mit Arzneimitteln aus medizinischen Einrichtungen*. Gewässerschutz, Abwasser., 2004. **193**: 24/21 - 24/16.
- [66] S.N. Mahnik, B. Rizovski, M. Fuerhacker, R.M. Mader. *Determination of 5-fluorouracil in hospital effluents*. Anal Bioanal Chem, 2004. **380**(1): 31-35.
- [67] K. Kummerer, ed. *Pharmaceuticals in the Environment - Sources, Fate, Effects and Risks*. 2nd ed. 2004, Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, Germany.

- [68] P.A. Jarnheimer, J. Ottoson, R. Lindberg, T.A. Stenstrom, M. Johansson, M. Tysklind, M.M. Winner, B. Olsen. *Fluoroquinolone antibiotics in a hospital sewage line; occurrence, distribution and impact on bacterial resistance*. Scand J Infect Dis, 2004. **36**(10): 752-755.
- [69] K.D. Brown, J. Kulis, B. Thomson, T.H. Chapman, D.B. Mawhinney. *Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico*. Sci Total Environ, 2006. **366**(2-3): 772-783.
- [70] M.J. Gomez, M. Petrovic, A.R. Fernandez-Alba, D. Barcelo. *Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters*. J Chromatogr A, 2006. **1114**(2): 224-233.
- [71] I.J. Buerge, H.R. Buser, T. Poiger, M.D. Muller. *Occurrence and fate of the cytostatic drugs cyclophosphamide and ifosfamide in wastewater and surface waters*. Environ Sci Technol, 2006. **40**(23): 7242-7250.
- [72] S.N. Mahnik, K. Lenz, N. Weissenbacher, R.M. Mader, M. Fuerhacker. *Fate of 5-fluorouracil, doxorubicin, epirubicin, and daunorubicin in hospital wastewater and their elimination by activated sludge and treatment in a membrane-bio-reactor system*. Chemosphere, 2007. **66**(1): 30-37.
- [73] A. Hartmann, E. Golet, S. Gartiser, A.C. Alder, T. Koller, R.M. Widmer. *Identification of fluoroquinolone Antibiotics as the main source of umuC genotoxicity in native hospital wastewater*. Environ Toxicol Chem, 1998. **17**(3): 377-382.
- [74] A. Hartmann, E.M. Golet, S. Gartiser, A.C. Alder, T. Koller, R.M. Widmer. *Primary DNA damage but not mutagenicity correlates with ciprofloxacin concentrations in German hospital wastewaters*. Arch Environ Contam Toxicol, 1999. **36**(2): 115-119.
- [75] B. Jolibois, M. Guerbet. *Hospital wastewater genotoxicity*. Ann Occup Hyg, 2006. **50**(2): 189-196.
- [76] K. Kummerer, A. al-Ahmad. *Biodegradability of the Anti-tumour Agents 5-Fluorouracil, Cytarabine, and Gemcitabine: Impact of the Chemical Structure and Synergistic Toxicity with Hospital Effluent*. Acta hydrochim. hydrobiol., 1997. **25**(4): 166-172.
- [77] T. Kiffmeyer, H.J. Gotze, M. Jursch, U. Luders. *Trace enrichment, chromatographic separation and biodegradation of cytostatic compounds in surface water*. Fresenius J Anal Chem., 1998. **361**(2): 185-191.
- [78] A. Al-Ahmad, F.D. Daschner, K. Kummerer. *Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfamethoxazole and inhibition of waste water bacteria*. Arch Environ Contam Toxicol, 1999. **37**(2): 158-163.
- [79] K. Lenz, S. Hann, G. Koellensperger, Z. Stefanka, G. Stinger, N. Weissenbacher, S.N. Mahnik, M. Fuerhacker. *Presence of cancerostatic platinum compounds in hospital wastewater and possible elimination by adsorption to activated sludge*. Sci Total Environ, 2005. **345**(1-3): 141-152.
- [80] B. Pauwels, W. Verstraete. *The treatment of hospital wastewater: an appraisal*. J Water Health, 2006. **4**(4): 405-416.

- [81] *Positionierung des Bundesverbandes der deutschen Gas- und Wasserwirtschaft e.V. (BGW) zu Spurenstoffen, November 2006.* www.bgw.de/pdf/0.1_article_2006_11_7.pdf. 2006.
- [82] W. Merkel, N. Zullei-Seibert, D. Hein. *Fachübergreifende Minimierungsstrategie für Arzneistoffe im Wasserkreislauf.* *gwf Wasser Abwasser*, 2007. **148**(1): 71-74.
- [83] S.-U. Geißen, A. Ternes, (Ed). *Anthropogene Spurenstoffe im Wasser. Bericht zu der gleichnamigen Tagung der Arbeitsgruppe KA.8.1 der Deutschen Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall (DWA) und der Wasserchemischen Gesellschaft am 29./30.11.2006 in Berlin.* *Vom Wasser*, 2007. **105**(1): 29-34.
- [84] *AMG 2005. Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz - AMG). Bekanntmachung der Neufassung des Arzneimittelgesetzes vom 12. Dezember 2005.* BGBl. I S. 3394, 2005.
- [85] *EU. RICHTLINIE 2004/27/EG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 31. März 2004 zur Änderung der Richtlinie 2001/83/EG zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Humanarzneimittel.* Amtsblatt der Europäischen Union, 2004. **L 136/34**.
- [86] *EU. RICHTLINIE 2001/83/EG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 6. November 2001 zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Humanarzneimittel.* Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften, 2001. **L 311/67**.
- [87] *Rote Liste 2005.* 2005, Aulendorf, Germany: Editor Cantor.
- [88] W. Pflaumbaum, H. Blome, H. Kleine. *BGIA-Report 1/2006: Gefahrstoffliste 2006. Gefahrstoffe am Arbeitsplatz.* 2006. Sankt Augustin: HVBG, Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitsschutz - BGIA.
- [89] *RICHTLINIE 2006/15/EG DER KOMMISSION zur Festlegung einer zweiten Richtlinie 98/24/EG des Rates Liste von Arbeitsplatz-Richtgrenzwerten in Durchführung der und zur Änderung der Richtlinien 91/322/EWG und 2000/39/EG vom 7. Februar 2006 (ABl. EU Nr. 38, S. 37).* 2006.
- [90] *Ausschuss für Gefahrstoffe (AGS). TRGS 900 - Arbeitsplatzgrenzwerte.* 2006.
- [91] *Ausschuß für Gefahrstoffe (AGS). TRGS 905. Verzeichnis krebserzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe.* 2005.
- [92] U. Stapel. *Betriebsanweisungen und Gefährdungsbeurteilungen. Arbeitsschutz in Apotheken beim Umgang mit Gefahrstoffen.* 6., überarbeitete Auflage. 2006, Eschborn: Govi-Verlag.
- [93] G. Schöppe, R. Goldschmidt, S. Haep, T.K. Kiffmeyer, S. Opiolka, K.G. Schmidt, J. Türk. *Arbeitsplatzbelastung beim Umgang mit Zytostatika: Befunde - Ansatzpunkte zur Reduzierung - FuE-Bedarf.* G. Schöppe, A. Hugo und J. Türk (Ed.). 2004. Duisburg: Institut für Energie- und Umwelttechnik e.V. (IUTA).
- [94] U. Kraft, R. Goldschmidt. *Abfallentsorgung I – Gesetzliche Regelungen: Entsorgung von Abfällen aus Zubereitung und Anwendung von zytotoxischen und zytostatischen Arzneimitteln.* *Arzt und Krankenhaus*, 2003. **76**(8): 24-252.

- [95] U. Kraft, R. Goldschmidt. *Abfallentsorgung II – Gesetzliche Regelungen: Entsorgung von zytotoxischen und zytostatischen Arzneimitteln*. Arzt und Krankenhaus, 2003. **76**(11): 335-339.
- [96] A. Fleming. *On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzae*. Br J Exp Pathol, 1929. **10**: 226-236.
- [97] C.-J. Estler. *Pharmakologie und Toxikologie: Lehrbuch für Studierende der Medizin, Pharmazie und Naturwissenschaften*. 5., überarb. und erw. Aufl. 2000, Stuttgart; New York: Schattauer Verlagsgesellschaft mbH.
- [98] H. Lüllmann, K. Mohr, M. Wehling. *Pharmakologie und Toxikologie: Arzneimittelwirkungen verstehen - Medikamente gezielt einsetzen*. 14. komplett überarbeitete und neu gestaltete Auflage. 1999, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- [99] E. Mutschler, G. Geisslinger, H.K. Kroemer, P. Ruth, M. Schäfer-Korting. *Mutschler Arzneimittelwirkungen kompakt: Basiswissen Pharmakologie/Toxikologie*. 2005, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- [100] H. Lüllmann, K. Mohr, L. Hein. *Taschenatlas Pharmakologie*. 5., überarbeitete und erweiterte Auflage. 2004, 414 (Abb. 16.5), Georg Thieme Verlag: Stuttgart.
- [101] H. Auterhoff, J. Knabe, H.D. Höltje. *Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie*. 12. Auflage. 1991, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- [102] *Some Pharmaceutical Drugs*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 50. 1990, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [103] *Some Pharmaceutical Drugs*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 24. 1980, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [104] *Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Suppl. 7. 1987, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [105] *Some Thyrotropic Agents*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 79. 2001, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [106] A.A. Robinson, J.B. Belden, M.J. Lydy. *Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms*. Environ Toxicol Chem, 2005. **24**(2): 423-430.
- [107] E.G. Power, I. Phillips. *Correlation between umuC induction and Salmonella mutagenicity assay for quinolone antimicrobial agents*. FEMS Microbiol Lett, 1993. **112**(3): 251-254.
- [108] H. Enzmann, C. Wiemann, H.J. Ahr, G. Schluter. *Damage to mitochondrial DNA induced by the quinolone Bay y 3118 in embryonic turkey liver*. Mutat Res, 1999. **425**(2): 213-224.

- [109] H. Oguz. *Cytotoxic effects of the fluoroquinolone ofloxacin on stromal keratocytes*. Cornea, 2007. **26**(2): 241; author reply 241.
- [110] C. Marino, G.M. Paladino, A.C. Scuderi, F. Trombetta, K. Mugridge, V. Enea. *In vivo toxicity of netilmicin and ofloxacin on intact and mechanically damaged eyes of rabbit*. Cornea, 2005. **24**(6): 710-716.
- [111] M. Makinen, P.D. Forbes, F. Stenback. *Quinolone antibacterials: a new class of photochemical carcinogens*. J Photochem Photobiol B, 1997. **37**(3): 182-187.
- [112] J. Braun. *Klinikleitfaden innere Medizin: Untersuchung, Diagnostik, Therapie*. 6. Auflage. 1996, Lübeck: Fischer-Verlag.
- [113] H. Lüllmann, K. Mohr, L. Hein. *Taschenatlas Pharmakologie. 5., überarbeitete und erweiterte Auflage*. 2004, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- [114] B. Predel, J. Barth, J. Wachsmuth, R. Meyer, C. Wegenast. *Zytostatika. Pharmazeutische Grundlagen*. 2003, Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag.
- [115] J. Barth. *Zytostatika-Herstellung in der Apotheke*. 2003, Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag.
- [116] R.L. Wall, K.P. Clausen. *Carcinoma in urinary bladder in patients receiving cyclophosphamide*. N. Engl. J. Med., 1975. **293**: 271-273.
- [117] W.J. Tester, T.J. Kinsella, B. Waller, R.W. Makuch, P.A. Kelley, E. Glatstein, V.T. DeVita. *Second malignant neoplasms complicating Hodgkin's disease: The National Cancer Institute experience*. J Clin Oncol, 1984. **2**: 762-769.
- [118] C. Bokemeyer, H.J. Schmoll. *Secondary neoplasms following treatment of malignant germ cell tumors*. J Clin Oncol, 1993. **11**: 1703-1709.
- [119] G.K. Jacobsen, A. Mellempgaard, S.A. Engelholm, H. Moller. *Increased incidence of sarcoma in patients treated for testicular seminoma*. Eur J Cancer, 1993. **29A**(5): 664-668.
- [120] S. Fetscher, J. Finke, R. Engelhardt, R. Mertelsmann, W. Lange. *Early-onset secondary malignancies after high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation*. Ann Hematol, 1997. **74**(2): 73-77.
- [121] H.J. Schmoll, K. Höffgen, K. Possinger. *Internistische Onkologie, Teil 2*. 2. Auflage. 1997, Berlin: Springer Verlag.
- [122] I. Stücker, J.-F. Caillard, R. Collin, M. Gout, D. Poyen, D. Hemon. *Risk of spontaneous abortion among nurses handling antineoplastic drugs*. Scand. J. Work. Environ. Health, 1990. **16**: 102-107.
- [123] B. Valanis, W. Vollmer, P. Steele. *Occupational exposure to antineoplastic agents: Self-reported miscarriages and stillbirths among nurses and pharmacists*. J. Occup. Environ. Med., 1999. **41**(8): 632-638.
- [124] B. Valanis, W. Vollmer, K. Labuhn, A. Glass. *Occupational exposure to antineoplastic agents and self-reported infertility among nurses and pharmacists*. J Occup Environ Med, 1997. **39**(6): 574-580.
- [125] E. Nies, M. Roller. *Wie hoch ist das Krebsrisiko bei beruflichem Umgang mit Zytostatika?* Arbeitsmed. Sozialmed. Umweltmed., 2001. **36**: 41-45.

- [126] M. Roller, U. Eickmann, E. Nies. *Krebsrisiko bei beruflichem Umgang mit Zytostatika – quantitative Betrachtungen*. BIA-Report 5/2001. 2001, Sankt Augustin: Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften (HVBG).
- [127] *Some Anti-Thyroid and Related Substances, Nitrofurans and Industrial Chemicals*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 7. 1974, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [128] *Some Aziridines, N-, S- and O-Mustards and Selenium*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 9. 1975, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [129] *Some Naturally Occurring Substances*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 10. 1976, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [130] *Some N-Nitroso Compounds*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 17. 1978, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [131] *Some Antineoplastic and Immunosuppressive Agents*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 26. 1987, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [132] *Some Pharmaceutical Drugs*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 66. 1996, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- [133] J.H. Deffenbaugh. *Risks of using technicians and not pharmacists to handle antineoplastic drugs*. Am J of Health Syst Pharm, 2000. **57**(19): 1750-+.
- [134] *Arzneibuch 2006. Deutsches Arzneibuch 2006 (DAB 2006) Amtliche Ausgabe. Europäisches Arzneibuch, 5. Ausgabe 2006, Amtliche deutsche Ausgabe + Nachtrag 5.1 bis 5.4*. Bundesministerium für Gesundheit und Soziale Sicherung. 2006, Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag.
- [135] K. Eger, R. Troschütz, H.J. Roth. *Arzneistoffanalyse. Reaktivität - Stabilität - Analytik*. 5. Auflage. 2006, Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag.
- [136] *Analytical Applications of Raman Spectroscopy*, ed. M.J. Pelletier. 1999, Oxford: Blackwell.
- [137] G. Heinisch, H. Frank. *Arzneistoff-Identifizierung. Ein Analysenschema für Unterricht und pharmazeutische Praxis*. 1986, Stuttgart: Thieme.
- [138] G. Schwedt. *Analytische Chemie: Grundlagen, Methoden und Praxis*. 1995, Stuttgart: Thieme.
- [139] G. Lunn, N.R. Schmuft. *HPLC methods for pharmaceutical analysis*. 1997, New York: Wiley.
- [140] G. Schwedt. *Pharmazeutische Analytik*. CLB, 1999. **50**(7): 244-247.
- [141] K. Cammann. *Instrumentelle analytische Chemie: Verfahren, Anwendungen und Qualitätssicherung*. 2001, Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

- [142] D. Wen, Y. Liu, W. Li, H. Liu. *Separation methods for antibacterial and antirheumatism agents in plant medicines*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2004. **812**(1-2): 101-117.
- [143] *Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC*, ed. S. Ahuja and M.W. Dong. 2005, Amsterdam: Elsevier.
- [144] G. Lunn. *HPLC Methods for Recently Approved Pharmaceuticals*. 2005, New York: Wiley & Sons.
- [145] O. Pedersen. *Pharmaceutical chemical analysis : methods for identification and limit tests*. 2006, Boca Raton: CRC, Taylor & Francis.
- [146] J.B. Fenn, M. Mann, C.K. Meng, S.F. Wong, C.M. Whitehouse. *Electrospray ionization - principles and practice*. Mass Spectrom Rev, 1990. **9**(1): 33-70.
- [147] W.M. Niessen. *State-of-the-art in liquid chromatography-mass spectrometry*. J Chromatogr A, 1999. **856**(1-2): 179-197.
- [148] J.B. Fenn. *Electrospray wings for molecular elephants (Nobel lecture)*. Angew Chem Int Ed Engl, 2003. **42**(33): 3871-3894.
- [149] C. Zwiener, F.H. Frimmel. *LC-MS analysis in the aquatic environment and in water treatment - a critical review. Part I: Instrumentation and general aspects of analysis and detection*. Anal Bioanal Chem, 2004. **378**(4): 851-861.
- [150] B. Shaikh, W.A. Moats. *Liquid chromatographic analysis of antibacterial drug residues in food products of animal origin*. J Chromatogr, 1993. **643**(1-2): 369-378.
- [151] A. Marzo, L. Dal Bo. *Chromatography as an analytical tool for selected antibiotic classes: a reappraisal addressed to pharmacokinetic applications*. J Chromatogr A, 1998. **812**(1-2): 17-34.
- [152] W.M. Niessen. *Analysis of antibiotics by liquid chromatography-mass spectrometry*. J Chromatogr A, 1998. **812**(1-2): 53-75.
- [153] A. Di Corcia, M. Nazzari. *Liquid chromatographic-mass spectrometric methods for analyzing antibiotic and antibacterial agents in animal food products*. J Chromatogr A, 2002. **974**(1-2): 53-89.
- [154] A.A. Stolker, U.A. Brinkman. *Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals--a review*. J Chromatogr A, 2005. **1067**(1-2): 15-53.
- [155] M.M. Aerts, A.C. Hogenboom, U.A. Brinkman. *Analytical strategies for the screening of veterinary drugs and their residues in edible products*. J Chromatogr B Biomed Appl, 1995. **667**(1): 1-40.
- [156] H. Oka, Y. Ito, H. Matsumoto. *Chromatographic analysis of tetracycline antibiotics in foods*. J Chromatogr A, 2000. **882**(1-2): 109-133.
- [157] M.P. Schlüsener, M. Spiteller, K. Bester. *Determination of antibiotics from soil by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. J Chromatogr A, 2003. **1003**(1-2): 21-28.

- [158] G. Hamscher, S. Sczesny, H. Hoper, H. Nau. *Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry*. Anal Chem, 2002. **74**(7): 1509-1518.
- [159] A.M. Jacobsen, B. Halling-Sorensen, F. Ingerslev, S.H. Hansen. *Simultaneous extraction of tetracycline, macrolide and sulfonamide antibiotics from agricultural soils using pressurised liquid extraction, followed by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. J Chromatogr A, 2004. **1038**(1-2): 157-170.
- [160] S.I. Kotretsou. *Determination of aminoglycosides and quinolones in food using tandem mass spectrometry: a review*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2004. **44**(3): 173-184.
- [161] M.P. Schlüsener, K. Bester. *Determination of steroid hormones, hormone conjugates and macrolide antibiotics in influents and effluents of sewage treatment plants utilising high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry with electrospray and atmospheric pressure chemical ionisation*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005. **19**(22): 3269-3278.
- [162] T. Goto, Y. Ito, S. Yamada, H. Matsumoto, H. Oka. *High-throughput analysis of tetracycline and penicillin antibiotics in animal tissues using electrospray tandem mass spectrometry with selected reaction monitoring transition*. J Chromatogr A, 2005. **1100**(2): 193-199.
- [163] M. Petrovic, M.D. Hernando, M.S. Diaz-Cruz, D. Barcelo. *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review*. J Chromatogr A, 2005. **1067**(1-2): 1-14.
- [164] F.T. Lange, F. Sacher, M. Metzinger, M. Wenz. *Quantitative Spurenanalytik von Antibiotika-Wirkstoffen in Wasser mittels HPLC-ESI-MS/MS - gibt es eine Multimethode?* Sfb 193 - Schriftreihe Biologische Abwasserreinigung, 2001. **16**: 193-212.
- [165] R.W. Fedeniuk, P.J. Shand. *Theory and methodology of antibiotic extraction from biomatrices*. J Chromatogr A, 1998. **812**(1-2): 3-15.
- [166] W.J. Krauwinkel, N.J. Volkers-Kamermans, J. van Zijtveld. *Determination of amoxicillin in human plasma by high-performance liquid chromatography and solid phase extraction*. J Chromatogr, 1993. **617**(2): 334-338.
- [167] W.J. Krauwinkel, N.J. Volkers-Kamermans. *Determination of penicillin-V in human plasma by high-performance liquid chromatography and solid-phase extraction*. J Chromatogr B Biomed Appl, 1996. **679**(1-2): 129-135.
- [168] S. Chulavatnatol, B.G. Charles. *High-performance liquid chromatographic determination of amoxicillin in urine using solid-phase, ion-pair extraction and ultraviolet detection*. J Chromatogr, 1993. **615**(1): 91-96.
- [169] W.J. Blanchflower, A.S. Hewitt, D.G. Kennedy. *Confirmatory assay for the simultaneous detection of five penicillins in muscle, kidney and milk using liquid chromatography-electrospray mass spectrometry*. Analyst, 1994. **119**(12): 2595-2601.

- [170] E. Verdon, P. Couedor. *Multiresidue analytical method for the determination of eight penicillin antibiotics in muscle tissue by ion-pair reversed-phase HPLC after precolumn derivatization*. J AOAC Int, 1999. **82**(5): 1083-1095.
- [171] F. Bruno, R. Curini, A. di Corcia, M. Nazzari, R. Samperi. *Solid-phase extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry for trace determination of beta-lactam antibiotics in bovine milk*. J Agric Food Chem, 2001. **49**(7): 3463-3470.
- [172] S. Riediker, R.H. Stadler. *Simultaneous determination of five beta-lactam antibiotics in bovine milk using liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry*. Anal Chem, 2001. **73**(7): 1614-1621.
- [173] D.M. Holstege, B. Puschner, G. Whitehead, F.D. Galey. *Screening and mass spectral confirmation of beta-lactam antibiotic residues in milk using LC-MS/MS*. J Agric Food Chem, 2002. **50**(2): 406-411.
- [174] EU. *Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 des Rates vom 26. Juni 1990 zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs vom 18. August 1990 Amtsblatt Nr. L 224, S.1-8. Letzte Aktualisierung: Verordnung Nr. 1831/2006 DER KOMMISSION vom 13. Dezember 2006 zur Änderung von Anhang I der Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 des Rates zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs in Bezug auf Doramectin*. Amtsblatt der Europäischen Union, 2006. **L 354/5**.
- [175] P. Muth, R. Metz, H. Beck, W.W. Bolten, H. Vergin. *Improved high-performance liquid chromatographic determination of amoxicillin in human plasma by means of column switching*. J Chromatogr A, 1996. **729**(1-2): 259-266.
- [176] R.F. Straub, R.D. Voyksner. *Determination of penicillin G, ampicillin, amoxicillin, cloxacillin and cephapirin by high-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry*. J Chromatogr, 1993. **647**(1): 167-181.
- [177] E. Daeseleire, H. De Ruyck, R. Van Renterghem. *Confirmatory assay for the simultaneous detection of penicillins and cephalosporins in milk using liquid chromatography/tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2000. **14**(15): 1404-1409.
- [178] S. Riediker, J.M. Diserens, R.H. Stadler. *Analysis of beta-lactam antibiotics in incurred raw milk by rapid test methods and liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry*. J Agric Food Chem, 2001. **49**(9): 4171-4176.
- [179] S. Ghidini, E. Zanardi, G. Varisco, R. Chizzolini. *Residues of beta-lactam antibiotics in bovine milk: confirmatory analysis by liquid chromatography tandem mass spectrometry after microbial assay screening*. Food Addit Contam, 2003. **20**(6): 528-534.

- [180] C.K. Fagerquist, A.R. Lightfield. *Confirmatory analysis of beta-lactam antibiotics in kidney tissue by liquid chromatography/electrospray ionization selective reaction monitoring ion trap tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2003. **17**(7): 660-671.
- [181] Y. Ito, T. Goto, H. Oka, H. Matsumoto, K. Takeba. *Application of ion-exchange cartridge clean-up in food analysis. VI. Determination of six penicillins in bovine tissues by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry*. J Chromatogr A, 2004. **1042**(1-2): 107-111.
- [182] C.K. Fagerquist, A.R. Lightfield, S.J. Lehotay. *Confirmatory and quantitative analysis of beta-lactam antibiotics in bovine kidney tissue by dispersive solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. Anal Chem, 2005. **77**(5): 1473-1482.
- [183] D.N. Heller, C.B. Nochetto, N.G. Rummel, M.H. Thomas. *Development of multiclass methods for drug residues in eggs: hydrophilic solid-phase extraction cleanup and liquid chromatography/tandem mass spectrometry analysis of tetracycline, fluoroquinolone, sulfonamide, and beta-lactam residues*. J Agric Food Chem, 2006. **54**(15): 5267-5278.
- [184] D.N. Heller, M.L. Smith, O.A. Chiesa. *LC/MS/MS measurement of penicillin G in bovine plasma, urine, and biopsy samples taken from kidneys of standing animals*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006. **830**(1): 91-99.
- [185] L. Balant, P. Dayer, R. Auckenthaler. *Clinical pharmacokinetics of the third generation cephalosporins*. Clin Pharmacokinet, 1985. **10**(2): 101-143.
- [186] F. Pehourcq, C. Jarry. *Determination of third-generation cephalosporins by high-performance liquid chromatography in connection with pharmacokinetic studies*. J Chromatogr A, 1998. **812**(1-2): 159-178.
- [187] W.A. Craig. *Pharmacokinetics of antibiotics with special emphasis on cephalosporins*. Clin Microbiol Infect, 2000. **6 Suppl 3**: 46-49.
- [188] B.S. De, M. Cherlet, K. Baert, B.P. De. *Quantitative analysis of amoxicillin and its major metabolites in animal tissues by liquid chromatography combined with electrospray ionization tandem mass spectrometry*. Anal Chem, 2002. **74**(6): 1393-1401.
- [189] A. Viberg, M. Sandstrom, B. Jansson. *Determination of cefuroxime in human serum or plasma by liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2004. **18**(6): 707-710.
- [190] F. Meng, X. Chen, Y. Zeng, D. Zhong. *Sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of cefixime in human plasma: application to a pharmacokinetic study*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005. **819**(2): 277-282.
- [191] Z.J. Chen, J. Zhang, J.C. Yu, G.Y. Cao, X.J. Wu, Y.G. Shi. *Selective method for the determination of cefdinir in human plasma using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006. **834**(1-2): 163-169.
- [192] T.W. Cooper, W.J. Gibbs, M.S. Bronze, R.A. Greenfield. *Part II. Introduction to the beta-lactam antibiotics*. J Okla State Med Assoc, 2006. **99**(10): 516-520.

- [193] W.J. Gibbs, T.W. Cooper, M.S. Bronze, R.A. Greenfield. *Part III. Penicillins*. J Okla State Med Assoc, 2006. **99**(11): 551-556.
- [194] J.A. Roberts, J. Lipman. *Antibacterial dosing in intensive care: pharmacokinetics, degree of disease and pharmacodynamics of sepsis*. Clin Pharmacokinet, 2006. **45**(8): 755-773.
- [195] J. Soutric, C. Bantar, N. Caruso, R. Heguilen, J.M. Casellas, Jr., J.M. Casellas, A. Farinati, A. Jasovich, H. Arenoso, M. Rodriguez. *Review of pharmacokinetic, pharmacodynamic and clinical studies with a modern combination of amoxicillin/sulbactam*. Chemotherapy, 2006. **52**(4): 200-204.
- [196] A. Gantverg, I. Shishani, Michael Hoffmanb. *Determination of chloramphenicol in animal tissues and urine Liquid chromatography–tandem mass spectrometry versus gas chromatography–mass spectrometry*. Anal. Chim. Acta, 2003. **483**: 125–135.
- [197] H.T. Ronning, K. Einarsen, T.N. Asp. *Determination of chloramphenicol residues in meat, seafood, egg, honey, milk, plasma and urine with liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and the validation of the method based on 2002/657/EC*. J Chromatogr A, 2006. **1118**(2): 226-233.
- [198] A. Kaufmann, P. Butcher. *Quantitative liquid chromatography/tandem mass spectrometry determination of chloramphenicol residues in food using sub-2 microm particulate high-performance liquid chromatography columns for sensitivity and speed*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005. **19**(24): 3694-3700.
- [199] K. Vivekanandan, M.G. Swamy, S. Prasad, R. Mukherjee. *A simple method of isolation of chloramphenicol in honey and its estimation by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005. **19**(21): 3025-3030.
- [200] H.S. Rupp, J.S. Stuart, J.A. Hurlbut. *Liquid chromatography/tandem mass spectrometry analysis of chloramphenicol in cooked crab meat*. J AOAC Int, 2005. **88**(4): 1155-1159.
- [201] L. Penney, A. Smith, B. Coates, A. Wijewickreme. *Determination of chloramphenicol residues in milk, eggs, and tissues by liquid chromatography/mass spectrometry*. J AOAC Int, 2005. **88**(2): 645-653.
- [202] Y.T. Wu, Y.F. Chen, Y.J. Hsieh, I. Jaw, M.S. Shiao, T.H. Tsai. *Bioavailability of salvianolic acid B in conscious and freely moving rats*. Int J Pharm, 2006. **326**(1-2): 25-31.
- [203] L. Rodziewicz, I. Zawadzka. *[Determination of chloramphenicol residues in animal tissues by LC-MS/MS method]*. Rocznik Panstw Zakl Hig, 2006. **57**(1): 31-37.
- [204] J. Tuerk, M. Reinders, D. Dreyer, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, H.M. Kuss. *Analysis of antibiotics in urine and wipe samples from environmental and biological monitoring--comparison of HPLC with UV-, single MS- and tandem MS-detection*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006. **831**(1-2): 72-80.

- [205] L. Verzeegnassi, D. Royer, P. Mottier, R.H. Stadler. *Analysis of chloramphenicol in honeys of different geographical origin by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry*. Food Addit Contam, 2003. **20**(4): 335-342.
- [206] R. Malisch, B. Bourgeois, R. Lippold. *Multiresidue Analysis of Selected Chemotherapeutics and Antiparasitics. Part 1: Determination of Sulfonamides and their N4-Acetyl-Metabolites, Chloramphenicol and Nicarbazin in Meat*. Dtsch. Lebensm.-Rundschau, 1992. **88**(7): 205-216.
- [207] Y. Ito, H. Oka, Y. Ikai, H. Matsumoto, Y. Miyazaki, H. Nagase. *Application of ion-exchange cartridge clean-up in food analysis. V. Simultaneous determination of sulphonamide antibacterials in animal liver and kidney using high-performance liquid chromatography with ultraviolet and mass spectrometric detection*. J Chromatogr A, 2000. **898**(1): 95-102.
- [208] T. Pfeifer, J. Tuerk, K. Bester, M. Spiteller. *Determination of selected sulfonamide antibiotics and trimethoprim in manure by electrospray and atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2002. **16**(7): 663-669.
- [209] A. Gobel, A. Thomsen, C.S. McArdeell, A.C. Alder, W. Giger, N. Theiss, D. Loffler, T.A. Ternes. *Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in sewage sludge*. J Chromatogr A, 2005. **1085**(2): 179-189.
- [210] G.F. Pang, Y.Z. Cao, J.J. Zhang, G.Q. Jia, C.L. Fan, X.M. Li, Y.M. Liu, Z.Y. Li, Y.Q. Shi. *Simultaneous determination of 16 sulfonamides in honey by liquid chromatography/tandem mass spectrometry*. J AOAC Int, 2005. **88**(5): 1304-1311.
- [211] T. Pfeifer, J. Tuerk, R. Fuchs. *Structural characterization of sulfadiazine metabolites using H/D exchange combined with various MS/MS experiments*. J Am Soc Mass Spectrom, 2005. **16**(10): 1687-1694.
- [212] K. Stoob, H.P. Singer, C.W. Goetz, M. Ruff, S.R. Mueller. *Fully automated online solid phase extraction coupled directly to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Quantification of sulfonamide antibiotics, neutral and acidic pesticides at low concentrations in surface waters*. J Chromatogr A, 2005. **1097**(1-2): 138-147.
- [213] K. Stoob, H.P. Singer, S. Stettler, N. Hartmann, S.R. Mueller, C.H. Stamm. *Exhaustive extraction of sulfonamide antibiotics from aged agricultural soils using pressurized liquid extraction*. J Chromatogr A, 2006. **1128**(1-2): 1-9.
- [214] S. Wang, H.Y. Zhang, L. Wang, Z.J. Duan, I. Kennedy. *Analysis of sulphonamide residues in edible animal products: a review*. Food Addit Contam, 2006. **23**(4): 362-384.
- [215] M.J. Schneider, D.J. Donoghue. *Multiresidue determination of fluoroquinolone antibiotics in eggs using liquid chromatography-fluorescence-mass spectrometry*. Anal. Chim. Acta, 2003. **483**: 39-49.
- [216] J. Sunderland, A.M. Lovering, C.M. Tobin, A.P. MacGowan, J.M. Roe, A.A. Delsol. *A reverse-phase HPLC assay for the simultaneous determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in pig faeces*. Int J Antimicrob Agents, 2004. **23**(4): 390-393.

- [217] Z. Kokot, B. Urbaniak. *Validation of HPLC method for determination of six fluoroquinolones: cinoxacin, ciprofloxacin, enoxacin, lomefloxacin, norfloxacin and ofloxacin*. Acta Pol Pharm, 2004. **61**: 64-66.
- [218] B. Toussaint, M. Chedin, U. Vincent, G. Bordin, A.R. Rodriguez. *Determination of (fluoro)quinolone antibiotic residues in pig kidney using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Part II: intercomparison exercise*. J Chromatogr A, 2005. **1088**(1-2): 40-48.
- [219] B. Toussaint, M. Chedin, G. Bordin, A.R. Rodriguez. *Determination of (fluoro)quinolone antibiotic residues in pig kidney using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. I. Laboratory-validated method*. J Chromatogr A, 2005. **1088**(1-2): 32-39.
- [220] E. Turiel, G. Bordin, A.R. Rodriguez. *Determination of quinolones and fluoroquinolones in hospital sewage water by off-line and on-line solid-phase extraction procedures coupled to HPLC-UV*. J. Sep. Sci., 2005. **28**(3): 257-267.
- [221] V.F. Samanidou, E.A. Christodoulou, I.N. Papadoyannis. *Determination of fluoroquinolones in edible animal tissue samples by high performance liquid chromatography after solid phase extraction*. J Sep Sci, 2005. **28**(6): 555-565.
- [222] V.F. Samanidou, E.A. Christodoulou, I.N. Papadoyannis. *Direct determination of five fluoroquinolones in chicken whole blood and in veterinary drugs by HPLC*. J Sep Sci, 2005. **28**(4): 325-331.
- [223] H. Nakata, K. Kannan, P.D. Jones, J.P. Giesy. *Determination of fluoroquinolone antibiotics in wastewater effluents by liquid chromatography-mass spectrometry and fluorescence detection*. Chemosphere, 2005. **58**(6): 759-766.
- [224] A. Espinosa-Mansilla, A.M. Pena, D.G. Gomez, F. Salinas. *HPLC determination of enoxacin, ciprofloxacin, norfloxacin and ofloxacin with photoinduced fluorimetric (PIF) detection and multiemission scanning: application to urine and serum*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005. **822**(1-2): 185-193.
- [225] H.A. Nguyen, J. Grellet, B.B. Ba, C. Quentin, M.C. Saux. *Simultaneous determination of levofloxacin, gatifloxacin and moxifloxacin in serum by liquid chromatography with column switching*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2004. **810**(1): 77-83.
- [226] J.H. Shim, M.H. Lee, M.R. Kim, C.J. Lee, I.S. Kim. *Simultaneous measurement of fluoroquinolones in eggs by a combination of supercritical fluid extraction and high pressure liquid chromatography*. Biosci Biotechnol Biochem, 2003. **67**(6): 1342-1348.
- [227] H. Liang, M.B. Kays, K.M. Sowinski. *Separation of levofloxacin, ciprofloxacin, gatifloxacin, moxifloxacin, trovafloxacin and cinoxacin by high-performance liquid chromatography: application to levofloxacin determination in human plasma*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2002. **772**(1): 53-63.
- [228] M. Hernandez, C. Aguilar, F. Borrull, M. Calull. *Determination of ciprofloxacin, enrofloxacin and flumequine in pig plasma samples by capillary isotachopheresis--capillary zone electrophoresis*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2002. **772**(1): 163-172.

- [229] J. Grellet, B. Ba, M.C. Saux. *High-performance liquid chromatographic separation of fluoroquinolone enantiomers: a review*. J Biochem Biophys Methods, 2002. **54**(1-3): 221-233.
- [230] E.M. Golet, A.C. Alder, A. Hartmann, T.A. Ternes, W. Giger. *Trace determination of fluoroquinolone antibacterial agents in urban wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorescence detection*. Anal Chem, 2001. **73**(15): 3632-3638.
- [231] C.K. Holtzapple, S.A. Buckley, L.H. Stanker. *Determination of four fluoroquinolones in milk by on-line immunoaffinity capture coupled with reversed-phase liquid chromatography*. J AOAC Int, 1999. **82**(3): 607-613.
- [232] G. Carlucci. *Analysis of fluoroquinolones in biological fluids by high-performance liquid chromatography*. J Chromatogr A, 1998. **812**(1-2): 343-367.
- [233] A. Mizuno, T. Uematsu, M. Nakashima. *Simultaneous determination of ofloxacin, norfloxacin and ciprofloxacin in human hair by high-performance liquid chromatography and fluorescence detection*. J Chromatogr B Biomed Appl, 1994. **653**(2): 187-193.
- [234] X.S. Miao, F. Bishay, M. Chen, C.D. Metcalfe. *Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada*. Environ Sci Technol, 2004. **38**(13): 3533-3541.
- [235] D.A. Volmer, B. Mansoori, S.J. Locke. *Study of 4-quinolone antibiotics in biological samples by short-column liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry*. Anal Chem, 1997. **69**(20): 4143-4155.
- [236] A. Weber, D. Chaffin, A. Smith, K.E. Opheim. *Quantitation of ciprofloxacin in body fluids by high-pressure liquid chromatography*. Antimicrob Agents Chemother, 1985. **27**(4): 531-534.
- [237] R.T. Cass, J.S. Villa, D.E. Karr, D.E. Schmidt, Jr. *Rapid bioanalysis of vancomycin in serum and urine by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry using on-line sample extraction and parallel analytical columns*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2001. **15**(6): 406-412.
- [238] J. Diana, D. Visky, J. Hoogmartens, A. Van Schepdael, E. Adams. *Investigation of vancomycin and related substances by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006. **20**(4): 685-693.
- [239] N. Shibata, M. Ishida, Y.V. Prasad, W. Gao, Y. Yoshikawa, K. Takada. *Highly sensitive quantification of vancomycin in plasma samples using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and oral bioavailability in rats*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2003. **789**(2): 211-218.
- [240] J. Diana, D. Visky, E. Roets, J. Hoogmartens. *Development and validation of an improved method for the analysis of vancomycin by liquid chromatography selectivity of reversed-phase columns towards vancomycin components*. J Chromatogr A, 2003. **996**(1-2): 115-131.

- [241] C.A. Mueller, W. Weinmann, S. Dresen, A. Schreiber, M. Gergov. *Development of a multi-target screening analysis for 301 drugs using a QTrap liquid chromatography/tandem mass spectrometry system and automated library searching*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005. **19**(10): 1332-1338.
- [242] R.G. Edwards, J.M. Dewdney, R.J. Dobrzanski, D. Lee. *Immunogenicity and allergenicity studies on two beta-lactam structures, a clavam, clavulanic acid, and a carbapenem: structure-activity relationships*. Int Arch Allergy Appl Immunol, 1988. **85**(2): 184-189.
- [243] K.N. Woodward. *Hypersensitivity in humans and exposure to veterinary drugs*. Vet Hum Toxicol, 1991. **33**(2): 168-172.
- [244] K.N. Woodward. *Phthalate esters, cystic kidney disease in animals and possible effects on human health: a review*. Hum Exp Toxicol, 1990. **9**(6): 397-401.
- [245] K. Gielen, A. Goossens. *Occupational allergic contact dermatitis from drugs in healthcare workers*. Contact Dermatitis, 2001. **45**(5): 273-279.
- [246] R. O'Mahony, Y. Abbott, F.C. Leonard, B.K. Markey, P.J. Quinn, P.J. Pollock, S. Fanning, A.S. Rossney. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel in Ireland*. Vet Microbiol, 2005. **109**(3-4): 285-296.
- [247] J. de Silva. *Analytical strategies for therapeutic monitoring of drugs in biological fluids*. J Chromatogr, 1985. **340**: 3-30.
- [248] M.J. Moore, C. Ehrlichmann. *Therapeutic drug monitoring in oncology*. Clin. Pharmacokinet., 1987. **13**: 205-277.
- [249] S. Eksborg, H. Ehrsson. *Drug level monitoring: Cytostatics*. J. Chromatogr, 1985. **340**: 31-72.
- [250] A.V. Boddy, M. Proctor, D. Simmonds, M.J. Lind, J.R. Idle. *Pharmacokinetics, metabolism and clinical effect of ifosfamide in reast cancer patients*. Eur J Cancer, 1995. **31**(1): 69-76.
- [251] T.W. Hermann. *Quantitative Methods most frequently used in therapeutic drug monitoring*. Chem Anal (Warsaw), 1997. **42**: 101-106.
- [252] A. el-Yazigi, A. Ezzat. *Pharmacokinetic monitoring of anticancer drugs at King Faisal Specialist Hospital, Riyadh, Saudi Arabia*. Ther Drug Monit, 1997. **19**(4): 390-393.
- [253] D. Busse, F.W. Busch, F. Bohnenstengel, M. Eichelbaum, P. Fischer, J. Opalinska, K. Schumacher, E. Schweizer, H.K. Kroemer. *Dose escalation of cyclophosphamide in patients with breast cancer - consequences for pharmacokinetics and metabolism*. J Clin Oncol, 1997. **15**(5): 1885-1896.
- [254] U.R. Tjaden, E.A. de Bruijn. *Chromatographic analysis of anticancer drugs*. J Chromatogr, 1990. **531**: 235-294.
- [255] L. Pyy, M. Sorsa, E. Hakala. *Ambient monitoring of cyclophosphamide in manufacture and hospitals*. Am Ind Hyg Assoc J, 1988. **49**(6): 314-317.
- [256] M. Sorsa, L. Pyy, S. Salomaa, L. Nylund, J.W. Yager. *Biological and environmental monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide in industry and hospitals*. Mutat Res, 1988. **204**(3): 465-479.

- [257] C. Minoia, R. Turci, C. Sottani, A. Schiavi, L. Perbellini, S. Angeleri, F. Draicchio, P. Apostoli. *Application of high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry in the environmental and biological monitoring of health care personnel occupationally exposed to cyclophosphamide and ifosfamide*. Rapid Commun Mass Spectrom, 1998. **12**(20): 1485-1493.
- [258] R. Schierl, H.G. Fries, C. van de Weyer, G. Fruhmann. *Urinary excretion of platinum from platinum industry workers*. Occup Environ Med, 1998. **55**(2): 138-140.
- [259] C. Sottani, R. Turci, L. Perbellini, C. Minoia. *Liquid-liquid extraction procedure for trace determination of cyclophosphamide in human urine by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrometry, 1998. **12**(16): 1063-1068.
- [260] G. Schmaus, R. Schierl, S. Funck. *Monitoring surface contamination by antineoplastic drugs using gas chromatography-mass spectrometry and voltammetry*. American Journal of Health-System Pharmacy, 2002. **59**(10): 956-961.
- [261] R. Turci, C. Sottani, A. Ronchi, C. Minoia. *Biological monitoring of hospital personnel occupationally exposed to antineoplastic agents*. Toxicol Lett, 2002. **134**(1-3): 57-64.
- [262] S. Funck. *Umgebungsmonitoring des Zytostatikums 5-Fluorouracil und Nachweis seines Hauptmetaboliten im Urine*. in Institut und Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin Medizinischen Fakultät. 2003. München: Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- [263] R. Turci, C. Sottani, G. Spagnoli, C. Minoia. *Biological and environmental monitoring of hospital personnel exposed to antineoplastic agents: a review of analytical methods*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2003. **789**(2): 169-209.
- [264] T. Steger-Hartmann, K. Kummerer, J. Schecker. *Trace Analysis of the antineoplastics Ifosfamid and Cyclophosphamid in sewage water by two-step solid-phase extraction and gas chromatography*. J Chromatogr, 1996. **726**(1-2): 179-184.
- [265] T. Steger-Hartmann, K. Kummerer, A. Hartmann. *Biological degradation of cyclophosphamide and its occurrence in sewage water*. Ecotoxicol Environ Saf, 1997. **36**(2): 174-179.
- [266] N. Sadagopan, L. Cohen, B. Roberts, W. Collard, C. Omer. *Liquid chromatography-tandem mass spectrometric quantitation of cyclophosphamide and its hydroxy metabolite in plasma and tissue for determination of tissue distribution*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2001. **759**(2): 277-284.
- [267] M.E. de Jonge, S.M. van Dam, M.J. Hillebrand, H. Rosing, A.D. Huitema, S. Rodenhuis, J.H. Beijnen. *Simultaneous quantification of cyclophosphamide, 4-hydroxycyclophosphamide, N,N',N''-triethylenethiophosphoramidate (thiotepa) and N,N',N''-triethylenephosphoramidate (tepa) in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry*. J Mass Spectrom, 2004. **39**(3): 262-271.

- [268] D. Kasel, A. Jetter, S. Harlfinger, W. Gebhardt, U. Fuhr. *Quantification of cyclophosphamide and its metabolites in urine using liquid chromatography/tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2004. **18**(13): 1472-1478.
- [269] J.J. Liu, P. Kestell, M. Findlay, G. Riley, S. Ackland, A. Simpson, R. Isaacs, M.J. McKeage. *Application of liquid chromatography-mass spectrometry to monitoring plasma cyclophosphamide levels in phase I trial cancer patients*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2004. **31**(10): 677-682.
- [270] M. Hedmer, A. Georgiadi, E.R. Bremberg, B.A. Jonsson, S. Eksborg. *Surface contamination of cyclophosphamide packaging and surface contamination with antineoplastic drugs in a hospital pharmacy in Sweden*. Ann Occup Hyg, 2005. **49**(7): 629-637.
- [271] A. Barbieri, L. Sabatini, P. Indiveri, R. Bonfiglioli, V. Lodi, F.S. Violante. *Simultaneous determination of low levels of methotrexate and cyclophosphamide in human urine by micro liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006. **20**(12): 1889-1893.
- [272] C. Sottani, R. Turci, L. Perbellini, C. Minoia. *Liquid-liquid extraction procedure for trace determination of cyclophosphamide in human urine by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 1998. **12**(16): 1063-1068.
- [273] C. Sottani, G. Tranfo, P. Faranda, C. Minoia. *Highly sensitive high-performance liquid chromatography/selective reaction monitoring mass spectrometry method for the determination of cyclophosphamide and ifosfamide in urine of health care workers exposed to antineoplastic agents*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005. **19**(19): 2794-2800.
- [274] R. Kanda, P. Griffin, H.A. Jamesa, J. Fothergill. *Pharmaceutical and personal care products in sewage treatment works*. J. Environ. Monit., 2003. **5**: 823-830.
- [275] P.J. Sessink, K.A. Boer, A.P. Scheefhals, R.B. Anzion, R.P. Bos. *Occupational exposure to antineoplastic agents at several departments in a hospital. Environmental contamination and excretion of cyclophosphamide and ifosfamide in urine of exposed workers*. Int Arch Occup Environ Health, 1992. **64**(2): 105-112.
- [276] P.J. Sessink, R.B. Anzion, P.H. Van den Broek, R.P. Bos. *Detection of contamination with antineoplastic agents in a hospital pharmacy department*. Pharm Weekbl Sci, 1992. **14**(1): 16-22.
- [277] G. Micoli, R. Turci, M. Arpellini, C. Minoia. *Determination of 5-fluorouracil in environmental samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2001. **750**(1): 25-32.
- [278] R.R. Larson, M.B. Khazaeli, H.K. Dillon. *Monitoring method for surface contamination caused by selected antineoplastic agents*. Am J Health Syst Pharm, 2002. **59**(3): 270-277.

- [279] B. Favier, L. Gilles, C. Ardiet, J. Francois. *External contamination of vials containing cytotoxic agents supplied by pharmaceutical manufacturers*. J Oncol Pharm Practice, 2003. **9**: 15-20.
- [280] G. Remaud, M. Boisdron-Celle, A. Morel, A. Gamelin. *Sensitive MS/MS-liquid chromatography assay for simultaneous determination of tegafur, 5-fluorouracil and 5-fluorodihydrouracil in plasma*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005. **824**(1-2): 153-160.
- [281] A. Salvador, L. Millerioux, A. Renou. *Simultaneous LC-MS-MS analysis of capecitabine and its metabolites (5'-deoxy-5-fluorocytidine, 5'-deoxy-5-fluorouridine, 5-fluorouracil) after off-line SPE from human plasma*. Chromatographia, 2006. **63**(11-12): 609-615.
- [282] L. Sabatini, A. Barbieri, M. Tosi, F.S. Violante. *A new high-performance liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric method for the simultaneous determination of cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil as markers of surface contamination for occupational exposure monitoring*. J Mass Spectrom, 2005. **40**(5): 669-674.
- [283] P.J. Sessink, N.S. Friemel, R.B. Anzion, R.P. Bos. *Biological and environmental monitoring of occupational exposure of pharmaceutical plant workers to methotrexate*. Int Arch Occup Environ Health, 1994. **65**(6): 401-403.
- [284] L. Florida, A.M. Pietropaolo, M. Tavazzani, F.M. Rubino, A. Colombi. *High-performance liquid chromatography of methotrexate for environmental monitoring of surface contamination in hospital departments and assessment of occupational exposure*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1999. **726**(1-2): 95-103.
- [285] R. Turci, G. Micoli, C. Minoia. *Determination of methotrexate in environmental samples by solid phase extraction and high performance liquid chromatography: ultraviolet or tandem mass spectrometry detection?* Rapid Commun Mass Spectrom, 2000. **14**(8): 685-691.
- [286] O. Nygren, C. Lundgren. *Determination of platinum in workroom air and in blood and urine from nursing staff attending patients receiving cisplatin chemotherapy*. International Archives of Occupational and Environmental Health, 1997. **70**(3): 209-214.
- [287] S. Hann, Z. Stefanka, K. Lenz, G. Stingeder. *Novel separation method for highly sensitive speciation of cancerostatic platinum compounds by HPLC-ICP-MS*. Anal Bioanal Chem, 2005. **381**(2): 405-412.
- [288] J.J. McDevitt, P.S. Lees, M.A. McDiarmid. *Exposure of hospital pharmacists and nurses to antineoplastic agents*. J Occup Med, 1993. **35**(1): 57-60.
- [289] R.R. Larson, M.B. Khazaeli, H.K. Dillon. *Development of an HPLC method for simultaneous analysis of five antineoplastic agents*. Appl Occup Environ Hyg, 2003. **18**(2): 109-119.
- [290] G. Zagotto, B. Gatto, S. Moro, C. Sissi, M. Palumbo. *Anthracyclines: recent developments in their separation and quantitation*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2001. **764**(1-2): 161-171.

- [291] C. Sottani, G. Tranfo, M. Bettinelli, P. Faranda, M. Spagnoli, C. Minoia. *Trace determination of anthracyclines in urine: a new high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for assessing exposure of hospital personnel*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2004. **18**(20): 2426-2436.
- [292] F. Lachatre, P. Marquet, S. Ragot, J.M. Gaulier, P. Cardot, J.L. Dupuy. *Simultaneous determination of four anthracyclines and three metabolites in human serum by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2000. **738**(2): 281-291.
- [293] C. Sottani, R. Turci, G. Micoli, M.L. Fiorentino, C. Minoia. *Rapid and sensitive determination of paclitaxel (Taxol(R)) in environmental samples by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2000. **14**(10): 930-935.
- [294] F.M. Rubino, L. Florida, A.M. Pietropaolo, M. Tavazzani, A. Colombi. *Measurement of surface contamination by certain antineoplastic drugs using high-performance liquid chromatography: applications in occupational hygiene investigations in hospital environments*. Med Lav, 1999. **90**(4): 572-583.
- [295] P.J. Sessink, P.H. van den Broek, R.P. Bos. *Urinary cyclophosphamide excretion in rats after intratracheal, dermal, oral and intravenous administration of cyclophosphamide*. J Appl Toxicol, 1991. **11**(2): 125-128.
- [296] H.A. Dirven, A.A. de Bruijn, P.J. Sessink, F.J. Jongeneelen. *Determination of the cytochrome P-450 IV marker, omega-hydroxylauric acid, by high-performance liquid chromatography and fluorimetric detection*. J Chromatogr, 1991. **564**(1): 266-271.
- [297] P.J. Sessink, K.A. Boer, A.P.H. Scheefhals, R.B. Anzion, R.P. Bos. *Occupational exposure to antineoplastic agents at several departments in a hospital*. Int Arch Occup Environ Health, 1992. **64**: 105-112.
- [298] P.J. Sessink, J.H. de Roos, F.H. Pierik, R.B. Anzion, R.P. Bos. *Occupational exposure of animal caretakers to cyclophosphamide*. J Occup Med, 1993. **35**(1): 47-52.
- [299] P.J. Sessink, J.L. Timmersmans, R.B. Anzion, R.P. Bos. *Assessment of occupational exposure of pharmaceutical plant workers to 5-fluorouracil. Determination of alpha-fluoro-beta-alanine in urine*. J Occup Med, 1994. **36**(1): 79-83.
- [300] P.J. Sessink, M.C. Van de Kerkhof, R.B. Anzion, J. Noordhoek, R.P. Bos. *Environmental contamination and assessment of exposure to antineoplastic agents by determination of cyclophosphamide in urine of exposed pharmacy technicians: is skin absorption an important exposure route?* Arch Environ Health, 1994. **49**(3): 165-169.
- [301] P.J. Sessink, M. Cerna, P. Rossner, A. Pastorkova, H. Bavarova, K. Frankova, R.B. Anzion, R.P. Bos. *Urinary cyclophosphamide excretion and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes after occupational exposure to antineoplastic agents*. Mutat Res, 1994. **309**(2): 193-199.
- [302] P.J.M. Sessink, E.D. Kroese, H.J. Vankranen, R.P. Bos. *Cancer Risk Assessment for Health-Care Workers Occupationally Exposed to Cyclophosphamide*. Int Arch Occup Environ Health, 1995. **67**(5): 317-323.

- [303] P.J. Sessink, B.C. Wittenhorst, R.B. Anzion, R.P. Bos. *Exposure of pharmacy technicians to antineoplastic agents: reevaluation after additional protective measures*. Arch Environ Health, 1997. **52**(3): 240-244.
- [304] P.J. Sessink, A.J. Verplanke, R.F. Herber, R.P. Bos. *Occupational exposure to antineoplastic agents and parameters for renal dysfunction*. Int Arch Occup Environ Health, 1997. **69**(3): 215-218.
- [305] P.J. Sessink, M.-A.E. Rolf, N.S. Ryden. *Evaluation of the PhaSeal Hazardous Drug Containment System*. Hosp Pharm., 1999. **34**(11): 1311-1317.
- [306] P.J. Sessink, R.P. Bos. *Drugs hazardous to healthcare workers. Evaluation of methods for monitoring occupational exposure to cytostatic drugs*. Drug Saf, 1999. **20**(4): 347-359.
- [307] B. Valanis, L. Shortridge. *Oncology nursing society study of antineoplastic drugs*. Oncol Nurs Forum, 1985. **12**(3): suppl 1-6.
- [308] B. Valanis. *Environmental and direct measures of exposure*. Occup Med, 1986. **1**(3): 431-444.
- [309] B. Valanis, L. Shortridge. *Self protective practices of nurses handling antineoplastic drugs*. Oncol Nurs Forum, 1987. **14**(3): 23-27.
- [310] B.G. Valanis, V. Hertzberg, L. Shortridge. *Antineoplastic drugs. Handle with care*. Aaohn J, 1987. **35**(11): 487-492.
- [311] B. Valanis, K. Driscoll, V. McNeil. *Comparison of antineoplastic drug handling policies of hospitals with OSHA guidelines: a pilot study*. Am J Public Health, 1990. **80**(4): 480-481.
- [312] B. Valanis, V. McNeil, K. Driscoll. *Staff members' compliance with their facility's antineoplastic drug handling policy*. Oncol Nurs Forum, 1991. **18**(3): 571-576.
- [313] B. Valanis, W.M. Vollmer, K. Labuhn, A. Glass, C. Corelle. *Antineoplastic drug handling protection after OSHA guidelines. Comparison by profession, handling activity, and work site*. J Occup Med, 1992. **34**(2): 149-155.
- [314] B.G. Valanis, W.M. Vollmer, K.T. Labuhn, A.G. Glass. *Association of antineoplastic drug handling with acute adverse effects in pharmacy personnel*. Am J Hosp Pharm, 1993. **50**(3): 455-462.
- [315] B.G. Valanis, W.M. Vollmer, K.T. Labuhn, A.G. Glass. *Acute symptoms associated with antineoplastic drug handling among nurses*. Cancer Nurs, 1993. **16**(4): 288-295.
- [316] M.A. Newman, B.G. Valanis, R.S. Schoeny, S.Q. Hee. *Urinary biological monitoring markers of anticancer drug exposure in oncology nurses*. Am J Public Health, 1994. **84**(5): 852-855.
- [317] L.A. Shortridge, G.K. Lemasters, B. Valanis, V. Hertzberg. *Menstrual cycles in nurses handling antineoplastic drugs*. Cancer Nurs, 1995. **18**(6): 439-444.
- [318] K. Labuhn, B. Valanis, R. Schoeny, K. Loveday, W.M. Vollmer. *Nurses' and pharmacists' exposure to antineoplastic drugs: findings from industrial hygiene scans and urine mutagenicity tests*. Cancer Nurs, 1998. **21**(2): 79-89.

- [319] D. Spiegelman, B. Valanis. *Correcting for bias in relative risk estimates due to exposure measurement error: a case study of occupational exposure to antineoplastics in pharmacists*. Am J Public Health, 1998. **88**(3): 406-412.
- [320] B. Valanis, W.M. Vollmer, P. Steele. *Occupational exposure to antineoplastic agents: self-reported miscarriages and stillbirths among nurses and pharmacists*. J Occup Environ Med, 1999. **41**(8): 632-638.
- [321] T.H. Connor, J.L. Laidlaw, J.C. Theiss, R.W. Anderson, T.S. Matney. *Permeability of latex and polyvinyl chloride gloves to carmustine*. Am J Hosp Pharm, 1984. **41**(4): 676-679.
- [322] J.L. Laidlaw, T.H. Connor, J.C. Theiss, R.W. Anderson, T.S. Matney. *Permeability of latex and polyvinyl chloride gloves to 20 antineoplastic drugs*. Am J Hosp Pharm, 1984. **41**(12): 2618-2623.
- [323] T.H. Connor, J.B. Ward, Jr., M.S. Legator. *Absence of mutagenicity in the urine of autopsy service workers exposed to formaldehyde: factors influencing mutagenicity testing of urine*. Int Arch Occup Environ Health, 1985. **56**(3): 225-237.
- [324] T.H. Connor, J.C. Theiss, H.A. Hanna, D.K. Monteith, T.S. Matney. *Genotoxicity of organic chemicals frequently found in the air of mobile homes*. Toxicol Lett, 1985. **25**(1): 33-40.
- [325] M.M. Cloak, T.H. Connor, K.R. Stevens, J.C. Theiss, J.M. Alt, T.S. Matney, R.W. Anderson. *Occupational exposure of nursing personnel to antineoplastic agents*. Oncol Nurs Forum, 1985. **12**(5): 33-39.
- [326] T.H. Connor, R.W. Anderson. *Demonstrating mutagenicity using the Ames test*. Am J Hosp Pharm, 1985. **42**(4): 783-784.
- [327] J.L. Laidlaw, T.H. Connor, J.C. Theiss, R.W. Anderson, T.S. Matney. *Permeability of four disposable protective-clothing materials to seven antineoplastic drugs*. Am J Hosp Pharm, 1985. **42**(11): 2449-2454.
- [328] T.S. Matney, T.V. Nguyen, T.H. Connor, W.J. Dana, J.C. Theiss. *Genotoxic classification of anticancer drugs*. Teratog Carcinog Mutagen, 1985. **5**(5): 319-328.
- [329] T.H. Connor, J.C. Theiss, R.W. Anderson, W.H. Puckett, T.S. Matney. *Re-evaluation of urine mutagenicity of pharmacy personnel exposed to antineoplastic agents*. Am J Hosp Pharm, 1986. **43**(5): 1236-1239.
- [330] L.R. Glass, T.H. Connor, J.C. Theiss, C.E. Dallas, T.S. Matney. *Genotoxic evaluation of the offgassing products of particle board*. Toxicol Lett, 1986. **31**(1): 75-83.
- [331] D.K. Monteith, T.H. Connor, J.A. Benvenuto, E.J. Fairchild, J.C. Theiss. *Stability and inactivation of mutagenic drugs and their metabolites in the urine of patients administered antineoplastic therapy*. Environ Mol Mutagen, 1987. **10**(4): 341-356.
- [332] M.G. Wilkerson, T.H. Connor, J. Henkin, J.K. Wilkin, T.S. Matney. *Assessment of diphenylcyclopropanone for photochemically induced mutagenicity in the Ames assay*. J Am Acad Dermatol, 1987. **17**(4): 606-611.

- [333] D.K. Monteith, T.H. Connor, J.A. Benvenuto, E.J. Fairchild, J.C. Theiss. *The mutagenicity of urine fractions from patients administered antineoplastic therapy*. Toxicol Lett, 1988. **40**(3): 257-268.
- [334] J.A. Benvenuto, T.H. Connor, D.K. Monteith, J.L. Laidlaw, S.C. Adams, T.S. Matney, J.C. Theiss. *Degradation and inactivation of antitumor drugs*. J Pharm Sci, 1993. **82**(10): 988-991.
- [335] T.H. Connor. *Permeability testing of glove materials for use with cancer chemotherapy drugs*. Oncology, 1995. **52**(3): 256-259.
- [336] E.S. Baker, T.H. Connor. *Monitoring occupational exposure to cancer chemotherapy drugs*. Am J Health Syst Pharm, 1996. **53**(22): 2713-2723.
- [337] T.H. Connor, P.G. Tee, M. Afshar, K.M. Connor. *Mutagenicity of cosmetic products containing Kathon*. Environ Mol Mutagen, 1996. **28**(2): 127-132.
- [338] T.H. Connor. *Permeability of nitrile rubber, latex, polyurethane, and neoprene gloves to 18 antineoplastic drugs*. Am J Health Syst Pharm, 1999. **56**(23): 2450-2453.
- [339] A. Wilken. *Beobachtungen zur Außenkontamination der Primärverpackungen von Zytostatika*. Krankenhauspharmazie, 1997. **18**(1): 37-39.
- [340] R. Hepp, G. Gentschew. *Untersuchungen zur Außenkontamination der Primärverpackungen von Zytostatika*. Krankenhauspharmazie, 1998. **19**: 22-27.
- [341] T. Hinrichs. *Neue Anforderungen an Zytostatikawerkbänke*. Bioforum, 1997(6): 304-306.
- [342] *Anforderungen an den Betrieb von Sicherheitswerkbänken mit Luftrückführung für Arbeiten mit krebserzeugenden oder erbgutveränderten Zytostatika; - behördlich und berufsgenossenschaftlich anerkanntes Verfahren nach § 36 Abs. 7 GefStoffV. B ArbBl. 7-8/1998 S. 69, ber. 12/1998 S. 73, 3/2000 S. 65.*
- [343] T. Hinrichs. *Sicherheitswerkbänke: Sicher, innovativ und zukunftsweisend*. GIT, 2003. **47**(1): 59-61.
- [344] *DIN 12980: Laboreinrichtungen -Sicherheitswerkbänke für Zytostatika und hochwirksame Substanzen*. in Deutsches Institut für Normung. 2004. Berlin: Beuth Verlag.
- [345] H. Dinter-Heidorn, G. Carstens. *Comparative study on protective gloves for handling cytotoxic medicines: a model study with carmustine*. Pharm Weekbl Sci, 1992. **14**(4): 180-184.
- [346] B. Angdin, G. Stjernström. *Permeation of some antineoplastic agents through a glove of latex*. 1988: Report: Kungens Kurva.
- [347] G. Carstens. *Zytostatika sicher handhaben. Mehr Sicherheit beim Umgang mit Zytostatika durch Einsatz sachgerechter Hilfsmittel*. Krankenpfl J, 1989. **27**(12): 4-6.
- [348] S. Colligan, S. Horstman. *Permeation of cancer chemotherapeutic drugs through glove materials under static and flexed conditions*. Appl Occ Environ Hyg., 1990. **5**: 848-852.

- [349] B. Usselman, G. Carstens. *Permeability of protective gloves to carmustine solution*, in *Safe Handling of medicines - a challenge for theory and practice*, R. Radziwill, R. Brackertz, J.P. Delporte, N.F. Muller, and R. Walker, Editors. 1994, E.S.C.P.: Noodrwijk.
- [350] B. Krammer, G. Carstens. *OP-Doppelhandschuh als Schutzhandschuh in der Zytostatika-Herstellung*. Krankenhauspharmazie, 1997. **18**: 422-425.
- [351] U. Sommer. *Verwendung von wiederverwendbaren Kitteln bei der Zytostatikaherstellung. Persönliche Mitteilung*. 2002, Apotheke St. Johannes-Hospital: Dortmund.
- [352] O. Nygren. *Wipe sampling as a tool for monitoring aerosol deposition in workplaces*. J Environ Monit, 2006. **8**(1): 49-52.
- [353] M. Zeedijk, B. Greijdanus, F.B. Steenstra, D.R.A. Uges. *Monitoring exposure of cytostatics on the hospital ward*. Eur J Hospital Pharm Sci, 2005. **11**(1): 18 - 22.
- [354] S. Funck, R. Schierl. *Sicherheit bei der Zytostatikaherstellung. Umgebungsmonitoring in Apotheken durch Analyse von Wischproben*. Dtsch. Apoth.- Ztg., 2004. **144**(10): 1089-1094.
- [355] F. Haamann, A. Heinemann. *Mit Wischproben Zytostatika auf der Spur*. BGW Mitteilungen, 2006(1): 12-13.
- [356] S. Hilhorst, W. Fransman, T. Meijster, H. Kromhout. *Blootstelling aan cytostatics in het ziekenhuis. Blootstelling van gisteren tot morgen*. 2001, Nederlandse Vereniging voor Arbeidshygiene. 109-112.
- [357] J. Türk, N. Stellwag, M. Reinders, T.K. Kiffmeyer, G. Schöppe, K.G. Schmidt. *Kontamination von Krankenhauswäsche mit hochwirksamen Arzneimitteln. Wie effektiv sind die derzeitigen Reinigungsverfahren?* WRP, 2002(11): 24-27.
- [358] W. Fransman, D. Huizer, J. Tuerk, H. Kromhout. *Inhalation and dermal exposure to eight antineoplastic drugs in an industrial laundry facility*. Int Arch Occup Environ Health, 2007. **80**(5): 396-403.
- [359] E.M. Goloni-Bertollo, E.H. Tajara, A.J. Manzato, M. Varella-Garcia. *Sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in lymphocytes of nurses handling antineoplastic drugs*. Int J Cancer, 1992. **50**(3): 341-344.
- [360] S. Roth, H. Norppa, H. Jarventaus, P. Kyyronen, M. Ahonen, J. Lehtomaki, H. Sainio, M. Sorsa. *Analysis of Chromosomal-Aberrations, Sister-Chromatid Exchanges and Micronuclei in Peripheral Lymphocytes of Pharmacists before and after Working with Cytostatic Drugs*. Mutat Res Lett, 1994. **325**(4): 157-162.
- [361] M.P. DeMeo, S. Merono, A.D. DeBaille, A. Botta, M. Laget, H. Guiraud, G. Dumenil. *Monitoring exposure of hospital personnel handling cytostatic drugs and contaminated materials*. Int Arch Occup Environ Health, 1995. **66**(6): 363-368.
- [362] D. Poyen, M.P. De Meo, A. Botta, J. Gouvernet, G. Dumenil. *Handling of cytostatic drugs and urine mutagenesis*. Int Arch Occup Environ Health, 1988. **61**(3): 183-188.

- [363] A. Pilger, I. Kohler, H. Stettner, R.M. Mader, B. Rizovski, R. Terkola, E. Diem, E. Franz-Hainzl, C. Konnaris, E. Valic, H.W. Rudiger. *Long-term monitoring of sister chromatid exchanges and micronucleus frequencies in pharmacy personnel occupationally exposed to cytostatic drugs*. Int Arch Occup Environ Health, 2000. **73**(7): 442-448.
- [364] H. Hessel, K. Radon, A. Pethran, B. Maisch, S. Grobmair, I. Sautter, G. Fruhmann. *The genotoxic risk of hospital, pharmacy and medical personnel occupationally exposed to cytostatic drugs - evaluation by the micronucleus assay*. Mutat Res, 2001. **497**(1-2): 101-109.
- [365] R.P. Bos, P.J. Sessink. *Biomonitoring of occupational exposures to cytostatic anticancer drugs*. Rev Environ Health, 1997. **12**(1): 43-58.
- [366] A.S. Ensslin, R. Huber, A. Pethran, H. Rommelt, R. Schierl, U. Kulka, G. Fruhmann. *Biological monitoring of hospital pharmacy personnel occupationally exposed to cytostatic drugs: urinary excretion and cytogenetics studies*. Int Arch Occup Environ Health, 1997. **70**(3): 205-208.
- [367] C. Schreiber, K. Radon, A. Pethran, R. Schierl, K. Hauff, C.H. Grimm, K.S. Boos, D. Nowak. *Uptake of antineoplastic agents in pharmacy personnel. Part II: study of work-related risk factors*. Int Arch Occup Environ Health, 2003. **76**(1): 11-16.
- [368] A. Pethran, R. Schierl, K. Hauff, C.H. Grimm, K.S. Boos, D. Nowak. *Uptake of antineoplastic agents in pharmacy and hospital personnel. Part I: monitoring of urinary concentrations*. Int Arch Occup Environ Health, 2003. **76**(1): 5-10.
- [369] C. Sottani, M. Zucchetti, M. Zaffaroni, M. Bettinelli, C. Minoia. *Validated procedure for simultaneous trace level determination of the anti-cancer agent gemcitabine and its metabolite in human urine by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2004. **18**(10): 1017-1023.
- [370] A.S. Ensslin, Y. Stoll, A. Pethran, A. Pfaller, H. Rommelt, G. Fruhmann. *Biological Monitoring of Cyclophosphamide and Ifosfamide in Urine of Hospital Personnel Occupationally Exposed to Cytostatic Drugs*. Occup Environ Med, 1994. **51**(4): 229-233.
- [371] A. Pethran, R. Schierl, G. Fruhmann. *Erhöhte Platin-Ausscheidung im Urin nach Zytostatika Zubereitung*. Verh. Dt. Ges. Arbeitsmed., 1997. **37**: 331-334.
- [372] H. Rossknecht, H. Hetzenauer, T.A. Ternes. *Arzneimittel im Bodensee?* Nachr. Chem., 2001. **49**(2): 145-149.
- [373] M.L. Richardson, J.M. Bowron. *The Fate of Pharmaceutical Chemicals in the Aquatic Environment*. J. Pharm. Pharmacol., 1985. **37**: 1-12.
- [374] H.-J. Stan, M. Linkenhägener. *Identifizierung von 2-(4-Chlorphenoxy)-2-methylpropionsäure im Grundwasser mittels Kapillar-Gaschromatographie mit Atomemissionsdetektor und Massenspektrometrie*. Vom Wasser, 1992. **79**: 75-88.
- [375] H.-J. Stan, T. Heberer, M. Linkenhägener. *Vorkommen von Clofirinsäure im aquatischen System - Führt die therapeutische Anwendung zu einer Belastung von Oberflächen-, Grund- und Trinkwasser*. Vom Wasser, 1994. **83**: 57-68.

- [376] *Arzneimittel in Gewässern - Risiko für Mensch, Tier und Umwelt. Fachtagung.* 1998. Wiesbaden: Hessische Landesanstalt für Umweltplanung, Arbeits- und Umweltschutz, Schriftenreihe der Hessischen Landesanstalt für Umwelt. 254/98.
- [377] T.A. Ternes, R.W. Hirsch, M. Stumpf, T. Eggert, B.F. Schuppert, K. Haberer. *Nachweis und Screening von Arzneimittelrückständen, Diagnostika und Antiseptika in der aquatischen Umwelt. Abschlußbericht BMBF Förderkennzeichen 02WU9567/3.* 1999.
- [378] R. Hirsch, T. Ternes, K. Haberer, K.L. Kratz. *Occurrence of antibiotics in the aquatic environment.* Sci Total Environ, 1999. **225**(1-2): 109-118.
- [379] C.G. Daughton, T.A. Ternes. *Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?* Environ Health Perspect, 1999. **107**(6): 907-938.
- [380] F. Sacher. *Arzneimittelwirkstoffe im Grundwasser - Ergebnisse eines Monitoring-Programms in Baden-Württemberg.* Kurzreferate - Jahrestagung 2001 - Wasserchemische Gesellschaft, 2001: 202-204.
- [381] I. Rönnefahrt, J. Koschorek, M. Kolossa-Gehring. *Arzneimittel in der Umwelt - Teil 2: Rechtliche Aspekte und Bewertungskonzepte.* Mitteilungen der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxologie, 2002. **8**(4): 6-9 (+23).
- [382] Bayerisches Landesamt für Umweltschutz - Umweltberatung Bayern. *Arzneistoffe in der Umwelt.* 2005.
- [383] BLAC. *Arzneimittel in der Umwelt - Auswertung der Untersuchungsergebnisse.* 2003. Hamburg: Freie Hansestadt Hamburg - Behörde für Umwelt und Gesundheit - Umweltuntersuchungen im Auftrag des Bund/Länderausschusses für Chemikaliensicherheit (BLAC).
- [384] K. Kümmerer, A. Al-Ahmad, T. Steger-Hartmann. *Verhalten des Zytostatikums Epirubicin-Hydrochlorid in der aquatischen Umwelt - Biologische Abbaubarkeit und Bakterientoxizität.* Umweltmed. Forsch Prax., 1996. **1**(3): 133-137.
- [385] T. Steger-Hartmann, K. Kümmerer, A. Hartmann. *Biological degradation of cyclophosphamide and its occurrence in sewage water.* Ecotoxicol Environ Saf, 1997. **36**(2): 174-179.
- [386] B. Halling-Sorensen, S. Nors Nielsen, P.F. Lanzky, F. Ingerslev, H.C. Holten Luthoft, S.E. Jorgensen. *Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment--a review.* Chemosphere, 1998. **36**(2): 357-393.
- [387] S.E. Jorgensen, B. Halling-Sorensen. *Drugs in the environment.* Chemosphere, 2000. **40**(7): 691-699.
- [388] T. Heberer. *Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data.* Toxicol Lett, 2002. **131**(1-2): 5-17.
- [389] S. Thiele-Bruhn. *Pharmaceutical antibiotic compounds in soils - a review.* J Plant Nutr Soil Sci, 2003. **166**: 145-167.

- [390] K. Kümmerer. *Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources--a review*. Chemosphere, 2001. **45**(6-7): 957-969.
- [391] M. De Liguoro, V. Cibir, F. Capolongo, B. Halling-Sorensen, C. Montesissa. *Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: evaluation of transfer to manure and soil*. Chemosphere, 2003. **52**(1): 203-212.
- [392] *Organic Pollutants in the Water Cycle*, ed. T. Reemtsma and M. Jekel. 2006, Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co KGaA.
- [393] A. Hartmann, E. Golet, S. Gartsler, A.C. Alder, T. Koller, R.M. Widmer. *Identification of fluoroquinolone Antibiotics as the main source of umuC genotoxicity in native hospital wastewater*. Environ Toxicol Chem, 1998. **17**: 377-382.
- [394] S.N. Mahnik, K. Lenz, N. Weissenbacher, R.M. Mader, M. Fuerhacker. *Fate of 5-fluorouracil, doxorubicin, epirubicin, and daunorubicin in hospital wastewater and their elimination by activated sludge and treatment in a membrane-bio-reactor system*. Chemosphere, 2007. **66**(1): 30-37.
- [395] H. Färber, D. Skutlarek. *Vorkommen und Abbau von Antibiotika in Trink- und Abwasser. 2. Kooperatinsforum Innovation der Wasserwirtschaftsinitiative NRW (WWI): Arzneimittelrückstände und endokrin wirksame Stoffe in Trink- und Abwasser – Herausforderungen, Lösungen und Kosten Arzneimittelrückstände und endokrin wirksame Stoffe in Trink- und Abwasser*. 2004. Mülheim an der Ruhr.
- [396] EMEA. *CHMP/SWP/4447/00 draft: Guidelines on the environmental risk assessment of medicinal products for human use*. 2005.
- [397] EU. *RICHTLINIE 2003/63/EG DER KOMMISSION vom 25. Juni 2003 zur Änderung der Richtlinie 2001/83/EG des Europäischen Parlaments und des Rates zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Humanarzneimittel*. Amtsblatt der Europäischen Union, 2003. **L 159/46**.
- [398] F. Giuliani, T. Koller, F.E. Wurgler, R.M. Widmer. *Detection of genotoxic activity in native hospital waste water by the umuC test*. Mutat Res, 1996. **368**(1): 49-57.
- [399] M. Fürhacker, K. Lenz, S. Mahnik, N. Weissenbacher, R. Mader, S. Knasmüller, F. Ferk, M. Uhl, W. Bursch, G. Köllensperger, S. Hann. *Chemische Analyse, Risikobewertung und Entfernung von ausgewählten Zytostatika aus Abwasserströmen aus Krankenhäusern. Kurzfassung Teil I und II "Probenahme und Methodenentwicklung für die Zytostatikamessung im Abwasser" und "Risikoabschätzung und Risikomanagement"*. 2006. Wien, Österreich: Lebensministerium.
- [400] S.N. Mahnik, B. Rizovski, M. Fuerhacker, R.M. Mader. *Development of an analytical method for the determination of anthracyclines in hospital effluents*. Chemosphere, 2006. **65**(8): 1419-1425.
- [401] V. Flöser. *Krankenhausabwasser. Beschaffenheit - Behandlung - Maßnahmen zur Reduzierung von Schadstoffen - Hygienische Aspekte*. Kontakt & Studium; Bd. 593. 1999, Renningen -Malsheim: expert verlag.

- [402] ATV-DVWK. *Merkblatt 775: Abwasser aus Krankenhäuser und anderen medizinischen Einrichtungen.* in *Deutsche Krankenhausgesellschaft.* 2001. Hennef: Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e.V.
- [403] *SRU Stellungnahme Nr. 12: Arzneimittel in der Umwelt.* 2007. Berlin: Sachverständigenrat für Umweltfragen.
- [404] J.L. Oaks, M. Gilbert, M.Z. Virani, R.T. Watson, C.U. Meteyer, B.A. Rideout, H.L. Shivaprasad, S. Ahmed, M.J. Chaudhry, M. Arshad, S. Mahmood, A. Ali, A.A. Khan. *Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan.* *Nature*, 2004. **427**(6975): 630-633.
- [405] R. Risebrough. *Conservation biology: fatal medicine for vultures.* *Nature*, 2004. **427**(6975): 596-598.
- [406] S. Shultz, H.S. Baral, S. Charman, A.A. Cunningham, D. Das, G.R. Ghalsasi, M.S. Goudar, R.E. Green, A. Jones, P. Nighot, D.J. Pain, V. Prakash. *Diclofenac poisoning is widespread in declining vulture populations across the Indian subcontinent.* *Proc Biol Sci*, 2004. **271 Suppl 6**: S458-460.
- [407] C.D. Metcalfe, T.L. Metcalfe, Y. Kiparissis, B.G. Koenig, C. Khan, R.J. Hughes, T.R. Croley, R.E. March, T. Potter. *Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (Oryzias latipes).* *Environ Toxicol Chem*, 2001. **20**(2): 297-308.
- [408] R. Laenge, T.H. Hutchinson, C.P. Croudace, F. Siegmund, H. Schweinfurth, P. Hampe, G.H. Panter, J.P. Sumpter. *Effects of the synthetic estrogen 17 alpha-ethinylestradiol on the life-cycle of the fathead minnow (Pimephales promelas).* *Environ Toxicol Chem*, 2001. **20**(6): 1216-1227.
- [409] R. van Aerle, N. Pounds, T.H. Hutchinson, S. Maddix, C.R. Tyler. *Window of sensitivity for the estrogenic effects of ethinylestradiol in early life-stages of fathead minnow, Pimephales promelas.* *Ecotoxicology*, 2002. **11**(6): 423-434.
- [410] K. Fent, A.A. Weston, D. Caminada. *Ecotoxicology of human pharmaceuticals.* *Aquat Toxicol*, 2006. **76**: 122-159.
- [411] L. Guardabassi, A. Petersen, J.E. Olsen, A. Dalsgaard. *Antibiotic resistance in Acinetobacter spp. isolated from sewers receiving waste effluent from a hospital and a pharmaceutical plant.* *Appl Environ Microbiol*, 1998. **64**(9): 3499-3502.
- [412] W. Witte. *Medical consequences of antibiotic use in agriculture.* *Science*, 1998. **279**(5353): 996-997.
- [413] F.G. Kari, A. Eckhardt, U. Hohl. *Antibiotika - Die Umweltschadstoffe von morgen?* *Gas Wasser Abwasser*, 1999. **79**: 443-453.
- [414] J.A. McLachlan. *Environmental signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals.* *Endocr Rev*, 2001. **22**(3): 319-341.
- [415] L. Guardabassi, D.M. Lo Fo Wong, A. Dalsgaard. *The effects of tertiary wastewater treatment on the prevalence of antimicrobial resistant bacteria.* *Water Res*, 2002. **36**(8): 1955-1964.
- [416] *The World Health Report.* 1998: WHO.

- [417] WHO. *Antimicrobial resistance*. Fact Sheet, 2002. **N° 194**.
- [418] H.C. Neu. *The crises in antibiotic resistance*. Science of the Total Environment, 1992. **257**: 1064-1073.
- [419] K. Kümmerer. *Resistance in the environment*. J Antimicrob Chemother, 2004. **54**(2): 311-320.
- [420] S.J. Rooklidge. *Environmental antimicrobial contamination from terraccumulation and diffuse pollution pathways*. Sci Total Environ, 2004. **325**(1-3): 1-13.
- [421] *Environmental Risk Assessment of Pharmaceuticals (ERAPharm)*. 2004 - 2007: <http://www.erapharm.org/>.
- [422] *Removal of Persistent Polar Pollutants Through Improved Treatment of Wastewater Effluents - (P-THREE)*. EVK1-CT-2002-00116. 2002 - 2005. www.pthree.de.
- [423] *Assessment of Technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Sewage and Drinking Water Facilities to Improve the Indirect Potable Water Reuse (POSEIDON)*. EVK1-CT-2000-00047. 2001 - 2004: www.eu-poseidon.com; <http://grdc.bafg.de/servlet/is/2886/>.
- [424] EU. *RICHTLINIE 2000/60/EG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik - Wasserrahmenrichtlinie (WRRL)*. Amtsblatt der Europäischen Union, 2000. **L 327**.
- [425] *Untersuchungen zum Eintrag und zur Elimination von gefährlichen Stoffen in kommunalen Kläranlagen*. 2004. Düsseldorf: MURL NRW.
- [426] H. Friedrich, T. Ries, C.B. Hannich. *Kommunale Kläranlagen als Eintragspfad für organische Spurenschadstoffe in die aquatische Umwelt*. KA-Abwasser, 2005. **52**(3): 279-292.
- [427] K. Bester. *Personal Care Compounds in the Environment - Pathways, Fate and Methods for Determination*. 2006, Weinheim: VCH-Wiley Verlag GmbH & Co. KGaA.
- [428] F.H. Frimmel, C. Zwiener, G. Kleiser. *Oxidationsverfahren in der Wasseraufbereitung*. Nachr. Chem., 2000. **48**(1): 32-35.
- [429] *Industrial Water 2006. European conference on efficient use of water resources in industry. February 6-8, 2006*, Frankfurt/Main: DECHEMA e.V.
- [430] T.A. Ternes, J. Stuber, N. Herrmann, D. McDowell, A. Ried, M. Kampmann, B. Teiser. *Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater?* Water Res, 2003. **37**(8): 1976-1982.
- [431] M.M. Huber, S. Canonica, G.Y. Park, U. von Gunten. *Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes*. Environ Sci Technol, 2003. **37**(5): 1016-1024.
- [432] M.M. Huber, A. Gobel, A. Joss, N. Hermann, D. Löffler, C.S. McArdell, A. Ried, H. Siegrist, T.A. Ternes, U. von Gunten. *Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater effluents: a pilot study*. Environ Sci Technol, 2005. **39**(11): 4290-4299.

- [433] A. Ried. *Combining Ozone and UV Techniques for Advanced Wastewater Treatment. Disinfection and Degradation of Endocrine Substances*. IUVA News, 2003. 5(1): 17-21.
- [434] *Oxidative Technologies for Water and Wastewater Treatment - Special Topic: Recalcitrant and Anthropogenic Micropollutants. Proceedings of the 4th International Conference, May 15-17, 2006*. CUTEC Serial Publication No. 68, ed. A. Vogelpohl, M. Sievers, and S.U. Geißen. 2006, Goslar: Papierflieger Verlag, Clausthal-Zellerfeld.
- [435] *Heil-Lasten: Arzneimittelrückstände in Gewässern. 10. Berliner Kolloquium der Gottlieb Daimler- und Karl Benz-Stiftung*, ed. F.H. Frimmel and M.B. Müller. 2006, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- [436] P. Schuster, B. Heinzmann, R.-J. Schwarz, M. Wiemann, C. Schulz. *Getrennte Erfassung von jodorganischen Röntgenkontrastmitteln in Krankenhäusern. Abschlussbericht der Phase 2: Praktische Durchführung*. 2006. Berlin: Kompetenzzentrum Wasser Berlin (KWB).
- [437] M. Johansson. *Urine Separation - Closing the Nutrient Cycle. Final report on the R&D project Source-Separated Human Urine - a future source of fertiliser for agriculture in the Stockholm region?* 2001. Stockholm Vatten: AB Stockholmshem and HSB National Federation.
- [438] A. Peter-Fröhlich, I. Kraume, A. Lesouëf, M. Oldenburg. *Separate Ableitung und Behandlung von Urin, Fäkalien und Grauwasser (Pilotprojekt)*. in *World Water & Environmental Resources Congress, 23.-26.06.2003*. 2003. Philadelphia.
- [439] M. Oldenburg, A. Bastian, J. Londong, J. Niederste-Hollenberg. *Neue Abwassertechnik am Beispiel der "Lambertsmühle"*. Gas- Wasserfach, 2003. 144: 5-12.
- [440] C. Pineau, B. Heinzmann, R.-J. Schwarz, M. Wiemann, C. Schulz. *Getrennte Erfassung von jodorganischen Röntgenkontrastmitteln in Krankenhäusern. Abschlussbericht der Phase 1: Machbarkeitsstudie*. 2005. Berlin: Kompetenzzentrum Wasser Berlin (KWB).
- [441] *Ecotoxicological Assessments and Removal Technologies for Pharmaceuticals in Wastewaters (REMPHARMAWATER). EVK1-CT-2000-00048*. 2001 - 2003.
- [442] C. Winkler, A. Grafe, G. Steffens. *Charakterisierung und Verwertung von Abfällen aus der Massentierhaltung unter Berücksichtigung verschiedener Böden*. in *UBA-Bericht 297 33 911*. 2000.
- [443] *FEDESA (European Federation of Animal Health): Pressemitteilung vom 13. Juni 2001*. 2001.
- [444] M. Schneiderei. *Verbrauchsmengen von Tierarzneimitteln*, in *Arzneimittel in der Umwelt - Zu Risiken und Nebenwirkungen fragen Sie das Umweltbundesamt*, J. Koschorreck, S. Lehmann, and A. Naulin, Editors. 2005, Umweltbundesamt: Dessau. 61-63.

- [445] G. Huschek. *Verbrauchsmengen von Humanarzneimitteln*, in *UBA-Texte 29/05: Arzneimittel in der Umwelt - Zu Risiken und Nebenwirkungen fragen Sie das Umweltbundesamt*, J. Koschorreck, S. Lehmann, and A. Naulin, Editors. 2005, Umweltbundesamt: Dessau. 79-87.
- [446] *UBA-Forschungsvorhaben FKZ 200 67 401 bzw. IMS Health AG: Index of Drug Chemicals Germany 1996-1999 und Chemical Country Profile 2002*. 2003.
- [447] U. Schwabe, D. Paffrath. *Arzneimittelverordnungs-Report 2006. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. 2007, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- [448] U. Lüders. *Entwicklung eines Anreicherungs- und chromatographischen Analyseverfahrens zur quantitativen Bestimmung von ausgewählten Zytostatika in Realproben. Dissertation*. 1995. Bochum: Ruhr-Universität.
- [449] R. Alexy. *Verbrauch und Eintrag von Antibiotika in die aquatische Umwelt*, in *Arzneimittel in der Umwelt - Zu Risiken und Nebenwirkungen fragen Sie das Umweltbundesamt*, J. Koschorreck, S. Lehmann, and A. Naulin, Editors. 2005, Umweltbundesamt: Dessau. 71-78.
- [450] *Zahl der Apotheken in Deutschland*. 2006: ABDA - Bundesvereinigung Deutscher Apothekerverbände.
- [451] *Statistisches Bundesamt: Gesundheitswesen - Ärzte und Krankenhäuser. Stichtag 31.12.2005*. 2006.
- [452] *Qualitätsbericht 2006. Qualitätsbericht der onkologischen Schwerpunktpraxen*. 2006, Köln: Herausgegeben vom Berufsverband der Niedergelassenen Hämatologen und Onkologen in Deutschland (BNHO) e.V.
- [453] T. Heberer, D. Feldmann. *Contribution of effluents from hospitals and private households to the total loads of diclofenac and carbamazepine in municipal sewage effluents - modeling versus measurements*. *J Hazard Mater*, 2005. **122**(3): 211-218.
- [454] D. Feldmann. *Modellberechnungen zum Verhalten und Verbleib von Arzneimittelrückständen im Krankenhausabwasser und Beurteilungsmöglichkeiten ihres ökotoxikologischen Gefährdungspotentials. Dissertation*. 2005. Berlin: Technische Universität.
- [455] U. Schwabe, D. Paffrath. *Arzneimittelverordnungs-Report 2001. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. 2001, Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- [456] W.C. Lin, H.C. Chen, W.H. Ding. *Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography-mass spectrometry*. *J Chromatogr A*, 2005. **1065**(2): 279-285.
- [457] G. Schmaus, R. Schierl, S. Funck. *Monitoring surface contamination by antineoplastic drugs using gas chromatography-mass spectrometry and voltammetry*, in *Am J Health Syst Pharm*. 2002. 956-961.
- [458] R. Schierl. *Zytostatika-Daten der LMU München*, in *Expertengespräch am 12. Juli 2004: Wischprobenverfahren zum Zytostatika-Monitoring - Strategien zur Expositionsbeurteilung*, A. Heinemann and U. Eickmann, Editors. 2004: Köln.

- [459] T.H. Connor. *Hazardous anticancer drugs in health care: environmental exposure assessment*. Ann N Y Acad Sci, 2006. **1076**: 615-623.
- [460] A. Heise. *Zubereitung von Zytostatika in Apotheken: Untersuchungen zur Arbeitsplatzkontamination*. Dissertation. 2006: Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München.
- [461] *Bijlage 14 bij beleidsregel 4.18 -5 Arbobesluit: DOELTREFFENDE BEHEERSING VAN DE BLOOTSTELLING AAN CYTOSTATICA IN ZIEKENHUIZEN*. 2001. Amsterdam, Niederlande: Bureau Beroepsziekten FNV.
- [462] *AGÖF-Orientierungswerte für Inhaltsstoffe von Raumluft und Hausstaub*. 2005. Springe-Eldagsen: Arbeitsgemeinschaft ökologischer Forschungsinstitute e.V. – AGÖF.
- [463] W.M. Niessen. *Advances in instrumentation in liquid chromatography-mass spectrometry and related liquid-introduction techniques*. Journal of Chromatography A, 1998. **794**(1-2): 407-435.
- [464] C. Zwiener, F.H. Frimmel. *LC-MS analysis in the aquatic environment and in water treatment - a critical review - Part I: Instrumentation and general aspects of analysis and detection*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2004. **378**(4): 851-861.
- [465] R. Willoughby, E. Sheehan, S. Mitrovich. *A Global View of LC/MS*. 1998, Pittsburg: Global View Publishing.
- [466] R. Pisano, M. Breda, S. Grassi, C.A. James. *Hydrophilic interaction liquid chromatography-APCI-mass spectrometry determination of 5-fluorouracil in plasma and tissues*. J Pharm Biomed Anal, 2005. **38**(4): 738-745.
- [467] L. Alder. *Fast multi residue screening of 300 pesticides in drinking water (Report of study BfR-IX-2005)*. 2006. Berlin: Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR).
- [468] P. Atkins. *Physikalische Chemie, 2. korr. Nachdruck der 1. Auflage*. 1990, Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft.
- [469] S. Parsons. *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*. 2004, London: IWA Publishing.
- [470] C. von Sonntag. *Free-Radical-Induced DNA Damage and Its Repair. A Chemical Perspective*. 2006, Heidelberg: Springer Verlag.
- [471] R. Fandrich. *Untersuchung zur oxidativen Eliminierung organischer Schadstoffe*. UMSICHT-Schriftenreihe Band 13. 1998, Stuttgart: Fraunhofer IRB Verlag.
- [472] D. Vogna, R. Marotta, R. Andreozzi, A. Napolitano, M. d'Ischia. *Kinetic and chemical assessment of the UV/H₂O₂ treatment of antiepileptic drug carbamazepine*. Chemosphere, 2004. **54**(4): 497-505.

8 Veröffentlichungen

8.1 Publikationen

1. G. Schöppe, C. Kube-Schwickardi, H. Bendig, G. Reinders, J. Schram, M. Schulte, J. Türk. *Untersuchungen zum Eintrag von Polychlorierten Dibenzodioxinen (PCDD) und Polychlorierten Dibenzofuranen (PCDF) über Getreideprodukte und Futtermittel in die menschliche Nahrungskette*. Die Mühle + Mischfuttertechnik, 1997. **134**: 778-786.
2. T. Pfeifer, J. Tuerk, K. Bester, M. Spiteller. *Determination of Selected Sulfonamide Antibiotics and Trimethoprim in Manure by Electrospray and Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry*. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2002, **16**:663-669.
3. J. Türk, N. Stellwag, M. Reinders, T.K. Kiffmeyer, G. Schöppe, K.G. Schmidt. *Kontamination von Krankenhauswäsche - Wie effektiv sind Reinigungsverfahren?* WRP, 2002. (11): 24-27.
4. J. Türk, J. Plöger, T.K. Kiffmeyer, B. Becker, S. Kabasci, K.G. Schmidt, H.-M. Kuß. *Oxidative Behandlung von Krankenhausabwasser-Teilströmen - Bestimmung des Abbaus von persistenten Pharmazeutika mittels HPLC-MS/MS*. CLB, 2004. **55**(3): 97-99.
5. J. Türk, J. Plöger, T.K. Kiffmeyer, B. Becker, S. Kabasci, K.G. Schmidt, H.-M. Kuß. *Oxidative Behandlung von Krankenhausabwasser-Teilströmen zur Eliminierung von Hormonen, Zytostatika und Röntgenkontrastmitteln*. Tagungsband „TK 2004 Hannover – Das Dienstleistungsportfolio der Krankenhaustechnik“, 2004, 403 - 409.
6. T. Teutenberg, T.K. Kiffmeyer, J. Plöger, J. Türk, W. gr. Kohorst, T. Rohe, T. zu Höne. *Potentiale und Anwendungen der Hochtemperatur-Flüssigkeitschromatografie*. GIT Separation, 2004, 7-9.
7. G. Schöppe, R. Goldschmidt, S. Haep, T.K. Kiffmeyer, S. Opiolka, K.G. Schmidt, J. Türk, *Arbeitsplatzbelastung beim Umgang mit Zytostatika: Befunde - Ansatzpunkte zur Reduzierung - FuE-Bedarf*. Ed.: G. Schöppe, A. Hugo, J. Türk. Institut für Energie- und Umwelttechnik e. V. (IUTA), Duisburg, 2004.
8. T. Teutenberg, J. Türk, M. Holzhauser, T.K. Kiffmeyer, J. Paschlau. *Vergleich eines UV- und CAD-Detektors in der pharmazeutischen Analytik*. GIT. 2005, (9): 718-721.
9. T. Pfeifer, J. Tuerk, R. Fuchs. *Structural Characterization of Sulfadiazine Metabolites Using H/D Exchange Combined with Various MS/MS Experiments*. J Am Soc Mass Spectrom. 2005, **16**(10): 1687-1694.
10. J. Tuerk, M. Reinders, D. Dreyer, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, H.-M. Kuss. *Analysis of antibiotics in urine and wipe samples from environmental and biological monitoring-Comparison of HPLC with UV-, single MS- and tandem MS-detection*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2006, **831**(1-2): 72-80.

11. T. zu Höne, W. gr. Kohorst, T. Rohe, J. Türk, T.K. Kiffmeyer, T. Teutenberg. *Hochtemperatur-Flüssigchromatographie - Anwendung in der Lebensmittelanalytik*. GIT, 2006, (1): 22-25.
12. T. Teutenberg, H.-J. Goetze, J. Tuerk, J. Ploeger, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, W. gr. Kohorst, T. Rohe, H.-D. Jansen, H. Weber. *Development and application of a specially designed heating system for temperature programmed high-performance liquid chromatography using subcritical water as the mobile phase*. J Chromatogr A. 2006, **1114**: 89-96.
13. J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuss: *Degradation of hazardous pharmaceuticals in hospital and industrial waste waters*. Oxidation Technologies for Water and Wastewater Treatment – Special Topic: Recalcitrant and Anthropogenic Micropollutants. Proceedings of the 4th International Conference (AOP4) May 15-17, 2006, Goslar, Ed.: A. Vogel, M. Sievers, S.-V. Geißen, CUTEC Serial Publication No 68, p. 787-792.
14. T. Teutenberg, J. Tuerk, M. Holzhauser, T.K. Kiffmeyer. *Evaluation of column bleed by using an ultraviolet and a charged aerosol detector coupled to a high-temperature liquid chromatographic system*. J Chromatogr A. 2006, **1119**(1-2): 197-201.
15. J. Türk, R. Römling. *Ultraschnelle und hochauflösende Flüssigchromatographie: Grundlagen, Anwendungen, Grenzen*. CLB. 2006, **57**(9/10): 385-388.
16. W. Fransman, D. Huizer, J. Tuerk, H. Kromhout. *Inhalation and dermal exposure to eight antineoplastic drugs in an industrial laundry facility*. Int Arch Occup Environ Health. 2007, **80**(5): 396-403.
17. U. Eickmann, J. Türk, R. Knauff-Eickmann, K. Kefenbaum, M. Seitz. *Desinfektionsmittel im Gesundheitsdienst. Informationen für eine Gefährdungsbeurteilung*. Gefahrstoffe – Reinh. Luft. 2007, **67**(1/2): 17-25.
18. J. Türk, T.K. Kiffmeyer, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuß. *Medikamente im Klinikabwasser*. UmweltMagazin, 2007. **37**(1/2): 22-23.
19. T. Teutenberg, J. Tuerk, M. Holzhauser, S. Giegold. *Temperature stability of reversed phase and normal phase stationary phases under aqueous conditions*. J Sep Sci. 2007, **30**(8): 1101-1114.

8.2 Posterpräsentationen

1. J. Tuerk, T. Pfeifer, K. Bester, M. Spitteller. *Quantification of Sulphonamides and Trimethoprim in Manure by Liquid Chromatography and Tandem Mass Spectrometry with Atmospheric Pressure Chemical Ionisation*. 5th Euroconference on Environmental Analytical Chemistry "The Impact of (Bio-) Sensors and Bioanalytical Techniques in Environmental Analytical Chemistry", Blarney, Ireland, 08.-12.09.2001.
2. J. Tuerk, M. Reinders, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, G. Schoeppe, H.-M. Kuss. *Analysis of antibiotics in urine and wipe samples from environmental and biological monitoring - Comparison of high-performance liquid chromatography with UV-, single mass spectrometry- and tandem mass spectrometry-detection*. Euroanalysis 12, Dortmund, Germany, 08.-13.09.2002.
3. J. Tuerk, M. Reinders, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, G. Schoeppe, H.-M. Kuss, P.J.M. Sessink. *Quantification of b-lactam antibiotics in urine and wipe samples from environmental and biological monitoring by SPE and LC-MS/MS*. 24th International Symposium on Chromatography, Leipzig, Germany, 15.-20.09.2002.
4. J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, G. Schoeppe, H.-M. Kuss. *Simultaneous determination of 8 antibiotics and 7 antineoplastic agents in hospital waste water by electrospray tandem mass spectrometry*. 16th International Mass Spectrometry Conference (IMSC 2003), 31.08.-05.09.2003, Edinburgh, UK.
5. J. Tuerk, J. Ploeger, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, G. Schoeppe, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuss. *Removal of hazardous pharmaceuticals by oxidative treatment of toilet effluents from hospital wards*. POSEIDON Symposium, 04.-05.11.2003, Braunschweig.
6. J. Tuerk, J. Ploeger, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, G. Schoeppe, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuss. *Removal of pharmaceuticals by oxidative treatment of toilet effluents from hospital wards*. 2. Kooperationsforum Innovation der Wasserwirtschaftsinitiative NRW „Arzneimittelrückstände und endokrin wirksame Stoffe in Trink- und Abwasser – Herausforderungen, Lösungen und Kosten“, 30.03.2004, Mülheim/Ruhr.
7. T. Teutenberg, H.-J. Götze, J. Plöger, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, W. gr. Kohorst. *High-Temperature Liquid Chromatography – Tuning Selectivity and speeding up analysis*. 27th International Symposium on Capillary Chromatography ISCC 2004, 31.05.04 – 04.06.04, Riva del Garda, Italien.
8. T. Teutenberg, H.-J. Götze, J. Plöger, J. Türk, Th. K. Kiffmeyer, W. gr. Kohorst. *Beschleunigte Elution durch Anwendung der Hochtemperatur-Flüssigchromatografie*. Detecta 04, Fachseminar Stofftrennung und Detektion in der Analytik, 10. – 11.06.04, Basel, Schweiz.
9. T. Teutenberg, H.-J. Goetze, J. Ploeger, J. Tuerk, Th. K. Kiffmeyer, W. gr. Kohorst. *New Method Development using Temperature Gradients in Liquid Chromatography – Development of a Special Heating Oven*. 12th International Symposium Advances and Applications of Chromatography in Industry, 29.06.04 – 01.07.04, Bratislava, Slowakei.

10. T. Teutenberg, H.-J. Goetze, J. Ploeger, J. Tuerk, Th. K. Kiffmeyer, W. gr. Kohorst. *New Method Development in HPLC using Temperature Gradients*. International Symposium Analytical Forum 2004, 04.07.04 – 08.07.04, Warschau, Polen.
11. J. Türk, J. Plöger T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuß: *Oxidative Behandlung von Krankenhausabwasser-Teilströmen zur Eliminierung von hochwirksamen Arzneimitteln im Abwasser*. UBA-Tagung „Arzneimittel in der Umwelt – Zu Risiken und Nebenwirkungen fragen Sie das Umweltbundesamt“, 29.-30.09.2004, Berlin.
12. J. Ploeger, J. Tuerk, T. K. Kiffmeyer, T. Teutenberg, K. G. Schmidt, H.-J. Goetze, H. Weber. *New method development in HPLC using temperature for tuning solvent properties*. 25th International Symposium on Chromatography, ISC 04, 04.10.–08.10.04, Paris, Frankreich.
13. T. Teutenberg, H.-J. Goetze, J. Tuerk, J. Ploeger, T. K. Kiffmeyer, K. G. Schmidt, W. gr. Kohorst, T. Rohe, H.-D. Jansen. *Important aspects of a special heating system for temperature – programmed HPLC applications using subcritical water as mobile phase*. 25th International Symposium on Chromatography, ISC 04, 04.10.–08.10.04, Paris, Frankreich.
14. T. Teutenberg, J. Paschlau, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, M. Holzhauser. *Evaluation of HPLC column bleed by using an Ultraviolet and a Charged Aerosol Detector coupled to a high-temperature liquid chromatographic system*. 29th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, HPLC 2005, 26.-30.06.2005, Stockholm, Schweden.
15. T. Teutenberg, J. Paschlau, J. Türk, T.K. Kiffmeyer, M. Holzhauser. *Comparison of detection limits for important antineoplastic agents using Ultraviolet and Charged Aerosol Detection*. 29th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, HPLC 2005, 26.-30.06.2005, Stockholm, Schweden.
16. T. Teutenberg, S. Giegold, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer. *On-column degradation of pharmaceutical compounds under elevated temperature liquid chromatographic conditions*. 29th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, HPLC 2005, 26.-30.06.2005, Stockholm, Schweden.
17. T.K. Kiffmeyer, J. Tuerk, H. Kaminski, T. van der Zwaag, S. Haep. *Safe handling procedures for preparation of liposomal doxorubicin applications*. 1th Congress of the EAHP, 22.-24.03.2006, Genf, Schweiz.
18. S. Giegold, T. Teutenberg, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, B. Wenclawiak. *Effect of temperature on the selectivity of sulfonamides and trimethoprim on a carbon clad zirconium dioxide column*, Analytica 2006, 25.-28.04.2006, München.
19. J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuss: *Development of an advanced oxidation process (AOP) for the degradation of hazardous pharmaceuticals in hospital waste water*. SETAC Europe 16th Annual Meeting, 07.-11.05.2006, Den Haag, Niederlande.
20. J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuss. *Degradation of hazardous pharmaceuticals in hospital and industrial waste waters*. 4th IWA Specialist Conference Oxidation Technologies for Water and Wastewater Treatment (AOP4), 15.-17.05.2006, Goslar.

21. V. Plegge, K. Eickhoff, J. Tuerk, A. Binnberg, W. Butte, J. Schram. *Mycotoxins in house dust: Comparison of three different analytical methods for the determination of Ochratoxin A*. 28. Mykotoxin Workshop, 29.-31.05.2006, Bydgoszcz.
22. K. Eickhoff, S. Giegold, J. Tuerk, T. Teutenberg, V. Plegge, J. Schram. *Development of an LC-MS/MS multimethod for the determination of mycotoxins in house dust*. ISC 2006, 21.-25.08.2006, Kopenhagen, Dänemark.
23. T. Teutenberg, S. Giegold, M. Holzhauser, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer: *Stability of normal phase and reversed-phase stationary phases under aqueous conditions and elevated temperatures*, ISC 2006, 21.-25.08.2006, Kopenhagen, Dänemark.
24. T. Teutenberg, S. Giegold, M. Holzhauser, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer: *Does the measurement influence the result?* ISC 2006, 21.-25.08.2006, Kopenhagen, Dänemark.
25. T. Teutenberg, S. Giegold, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer: *Where is the benefit of temperature programmed liquid chromatography?* ISC 2006, Kopenhagen, Dänemark.
26. T. Teutenberg, J. Ploeger, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, H. Weber: *Dependence of theoretical plate number on temperature and mobile phase flow rate on a polybutadiene coated zirconium dioxide stationary phase*, ISC 2006, 21.-25.08.2006, Kopenhagen, Dänemark.
27. S. Giegold, T. Teutenberg, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, B. Wenclawiak. *Effect of temperature on the selectivity of sulfonamides and trimethoprim on a carbon clad zirconium dioxide column*. ISC 2006, 21.-25.08.2006, Kopenhagen, Dänemark.
28. S. Giegold, T. Teutenberg, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, B. Wenclawiak. *Influence of the eluent temperature on the detector signal of different HPLC – detectors*. ANAKON 2007, 27.-30.03.2007, Jena.
29. T. Teutenberg, S. Giegold, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, B. Wenclawiak. *Does the measurement influence the result?* ANAKON 2007, 27.-30.03.2007, Jena.
30. H. Ertl, C. Portner, V. Plegge, T. Teutenberg, J. Türk, W. Butte. *Quantifizierung von 7 Mykotoxinen in Hausstaub mittels HPLC-MS/MS und MSⁿ-Screening nach Schimmelpilzmarkern sowie weiteren Toxinen*. ANAKON 2007, 27.-30.03.2007, Jena.
31. J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuss. *Development and application of advanced oxidation processes (AOP) for the degradation of pharmaceuticals*. SETAC Europe 17th Annual Meeting, 20.-24.05.2007, Porto, Portugal.
32. J. Tuerk, I. Strzysch, B. Becker, U. Merrettig-Bruns, S. Kabasci, S. Mohring, G. Hamscher. *Effects of selected antibiotics on biogas production and occurrence of residues in fermentation products*. SETAC Europe 17th Annual Meeting, 20.-24.05.2007, Porto, Portugal.
33. I. Strzysch, J. Tuerk, B. Becker, U. Merrettig-Bruns, A. Nickisch-Hartfiel. *Development and comparison of different laboratory fermentation tests for inhibition tests*. SETAC Europe 17th Annual Meeting, 20.-24.05.2007, Porto, Portugal.

34. J. Tuerk, A. Boergers, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, B. Becker, S. Kabasci, C. Hadtstein, H.-M. Kuss. *Development of an AOP pilot plant for the degradation of pharmaceuticals in hospital waste waters*. MICROPOL & ECOHAZARD 2007, 5th IWA Specialised Conference on Assessment and Control of Micropollutants/Hazardous Substances in Water, 17 – 20.06.2007, Frankfurt/Main.
35. J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuss. *Are there alternatives to end-of-pipe technologies for the elimination of micropollutants in terms of efficiency and costs?* MICROPOL & ECOHAZARD 2007, 5th IWA Specialised Conference on Assessment and Control of Micropollutants/Hazardous Substances in Water, 17 – 20.06.2007, Frankfurt/Main.
36. S. Giegold, T. Teutenberg, J. Tuerk, T. K. Kiffmeyer, B. Wenclawiak. *Influence of the eluent temperature on the detector signal of different HPLC – detectors*. HPLC 2007, 31st International Symposium on High Performance Liquid Phase Separation and Related Techniques, 17. – 21.06.2007, Ghent, Belgium.
37. S. Giegold, T. Teutenberg, J. Tuerk, B. Wenclawiak, R. Eichelberg, M. Noll-Borchers. *Optimising speed and selectivity for the fast separation of sulfonamides and trimethoprim by applying a simultaneous solvent and temperature gradient*. HPLC 2007, 31st International Symposium on High Performance Liquid Phase Separation and Related Techniques, 17. – 21.06.2007, Ghent, Belgium.
38. T. Teutenberg, S. Giegold, J. Tuerk, T. K. Kiffmeyer, B. Wenclawiak. *Does the measurement influence the result?* HPLC 2007, 31st International Symposium on High Performance Liquid Phase Separation and Related Techniques, 17. – 21.06.2007, Ghent, Belgium.
39. S. Giegold, T. Teutenberg, J. Tuerk, T. K. Kiffmeyer, B. Wenclawiak. *Effect of temperature on the selectivity of sulfonamides and trimethoprim on a carbon clad zirconium dioxide column*. HPLC 2007, 31st International Symposium on High Performance Liquid Phase Separation and Related Techniques, 17. – 21.06.2007, Ghent, Belgium.
40. T. Teutenberg, S. Wiese, S. Giegold, J. Tuerk, K. Hollebekkers, H. Weber. *Stability of various reversed-phase stationary phases in highly aqueous eluents and at high eluent temperatures*. HPLC 2007, 31st International Symposium on High Performance Liquid Phase Separation and Related Techniques, 17. – 21.06.2007, Ghent, Belgium.
41. J. Tuerk, I. Strzysch, S. Giegold, T. Teutenberg, B. Becker, U. Merrettig-Bruns, S. Kabasci, S. Mohring, G. Hamscher. *Analysis of sulfonamides in liquid manure and residues in fermentation products by LC-MS/MS, LC-MSⁿ and high temperature LC-MS/MS*. HPLC 2007, 31st International Symposium on High Performance Liquid Phase Separation and Related Techniques, 17. – 21.06.2007, Ghent, Belgium.

8.3 Vorträge

1. J. Türk. *Wie effektiv sind derzeitige Reinigungsverfahren für Flächen und Textilien?* IUTA Fortbildungsveranstaltung: Sicherer Umgang mit Zytostatika und anderen hochwirksamen Arzneimitteln - Vermeidung und Verminderung möglicher Kontaminationen. 14./15.05.02; 11./12.09.02; 05./06.11.02, 13/14.05.03, 16./17.09.03 und 04./05.11.03, Duisburg.
2. J. Plöger, J. Türk, T.K. Kiffmeyer, M. Reinders. *Behandlung von Klinikabwässern zur Entfernung von Arzneimitteln*. InCom, Sondersymposium der Hochschule Niederrhein, 25.03.2003, Düsseldorf.
3. T.K. Kiffmeyer, J. Tuerk, J. Ploeger, K.G. Schmidt, G. Schöppe, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuss. *Minimisation of human drug input by oxidative treatment of toilet effluents from hospital wards*. ENVIRPHARMA, 14.-16.04.2003, Lyon, Frankreich.
4. J. Tuerk, J. Ploeger, T.K. Kiffmeyer, B. Becker, S. Kabasci, K.G. Schmidt, H.-M. Kuss. *Application of advanced oxidation process (AOP) for degradation of hazardous pharmaceuticals in hospital waste water*.ACHEMA, 19.05.2003, Frankfurt.
5. J. Türk. *Entwicklung eines Behandlungsverfahrens zur Zerstörung von Zytostatika und Antibiotika in Krankenhausabwässern. Bestimmung des Substanzabbaus mittels HPLC-MS/MS*. LifeCom International Symposium on Life Sciences and Computer Technology, 23.-25.03.2004, Düsseldorf.
6. J. Türk. *Bestimmung von Antibiotika und Zytostatika mittels HPLC-MS in Krankenhausabwässern*. Oster-Kolloquium 2004 des Faches Chemie der Universität Duisburg-Essen am Standort Duisburg, 20.04.2004, Duisburg.
7. J. Türk, T.K. Kiffmeyer. *Beherrschbarkeit der Probleme von Außenkontaminationen und verunreinigten Textilien*. Sicherer Umgang mit Zytostatika und anderen hochwirksamen Arzneimitteln - Vermeidung und Verminderung möglicher Kontaminationen. 02./03.03.04 und 09./10.11.04, Duisburg.
8. J. Türk. *Bestimmung von Pharmazeutika mittels Tandemmassenspektrometrie*. Diskussionsforum LC-MS in der Umweltforschung, 24.06.2004, Essen.
9. J. Türk. *Wischprobenverfahren zum Zytostatika-Monitoring – Strategien zur Expositionsbeurteilung: Zytostatika-Probennahme und –Analytik*. bgw - Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege, 12.07.2004, Köln.
10. J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer. *Monitoring of antibiotic contamination on hospital wards*. MacoPharma 2nd International Symposium on Infusion Therapy, 09.-11.09.2004, Lille, Frankreich.
11. J. Tuerk, J. Ploeger, T.K. Kiffmeyer, B. Becker, S. Kabasci, K.G. Schmidt, H.-M. Kuß. *Oxidative Behandlung von Krankenhausabwasser-Teilströmen zur Eliminierung von Hormonen, Zytostatika und Röntgenkontrastmitteln*. TK 2004 - Technik im Krankenhaus, 04.-06.10.2004, Hannover.

12. J. Tuerk. *Analysis of antimicrobial and antineoplastic agents by tandem mass spectrometry for occupational safety and environmental applications*. 15. Doktorandenseminar des Arbeitskreises "Separation Science" der Fachgruppe "Analytische Chemie" der GDCh, 09.-11.01.2005, Kloster Banz.
13. J. Tuerk, S. Gerstenhoefer, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, H.-M. Kuss. *Analysis of antimicrobial and antineoplastic agents by SPE-LC-MS/MS for occupational safety and environmental applications*. International Seminar on Solid-Phase-Extraction in Clinical and Biopharmaceutical Samples, 08.03.2005, Maastricht, The Netherlands.
14. J. Türk. *Oxidative Behandlung von Krankenhausabwasser-Teilströmen zur Eliminierung von Antibiotika, Hormonen, Zytostatika und Röntgenkontrastmitteln*. 3. Dresdner Tagung Endokrin aktive Stoffe in Abwasser und Klärschlamm, 14./15.03.2005, Dresden.
15. J. Türk. *Auftreten und Beseitigung von Zytostatika-Kontaminationen auf Verpackungen, Flächen und Textilien*. IUTA/bgw Fortbildungsveranstaltung Sicherer Umgang mit Zytostatika und anderen hochwirksamen Arzneimitteln - Vermeidung und Verminderung möglicher Kontaminationen. 19./20.04.2005 in Duisburg, 04./05.10.2005 in Dresden, 28./29.03.2006 in Duisburg und 25./26.09.2006 in Dresden.
16. J. Türk, T.K. Kiffmeyer. *Vorkommen, Nachweis und Eliminierung von Pharmazeutika in der Umwelt*. Bodenkundliches Kolloquium des Instituts für Ökologie der TU Berlin, 26.04.2005, Berlin.
17. T.K. Kiffmeyer, J. Tuerk, H. Kaminski. *Innovative approaches for elimination of hazardous pharmaceuticals from hard surfaces in health care units – Development of adsorbing coating. to immobilise pharmaceuticals on floors in health care units*. IDC 05 – 42nd International Detergency Conference, 31.05.-02.06.2005, Düsseldorf.
18. T. Teutenberg, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer. *Requirements for a temperature-programmed heating system for high-temperature liquid chromatography*. 29th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, HPLC 2005, 28.06.2005, Stockholm, Schweden.
19. J. Türk. *Reinigungsverfahren für Flächen und Textilien*. IUTA Fortbildungsveranstaltung: Zytostatika im Pflegebereich. Anleitung zum sicheren Umgang. 08.11.2005 und 13.03.2007, Duisburg.
20. Türk, J. *Analyse des Einflusses eines Wischproben – Monitorings auf die Zytostatikabelastung an Arbeitsplätzen in Apotheken: Wischprobenverfahren: Probenahme und Analytik; Vorstellung der Interviewer*. Kick-Off-Veranstaltungen zur MEWIP-Studie der BGW: 17.11.05 in Köln und 01.12.05 in Dresden.
21. J. Türk, J. Plöger, T.K. Kiffmeyer, B. Becker, S. Kabasci, K.G. Schmidt, H.-M. Kuss. *Oxidative Behandlung von Krankenhausabwasser-Teilströmen zur Eliminierung von Pharmazeutika*. 1. Kölner Wasser und Abwassertage, 29./30.11.2005, Köln.
22. J. Türk. *Einsatz der LC-MS/MS im Arbeitsschutz*. LC-MS-Tage 2006, 21.03.2006, Bonn.

23. J. Türk. *Abbau von Pharmazeutika in Krankenhausabwasser - Teilströmen mittels AOP*. RKM Workshop 2006, 27.03.2006, Berlin.
24. J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer, K.G. Schmidt, B. Becker, S. Kabasci, H.-M. Kuss. *Advanced oxidation processes (AOP) for the degradation of hazardous pharmaceuticals in hospital and industrial waste waters*. INDUSTRIAL WATER 2006, 6.-8.02.2006, Frankfurt/Main.
25. A. Heinemann, U. Eickmann, C. Hadtstein, J. Tuerk, T.K. Kiffmeyer. Investigation of the influence of wipe sample monitoring on the cytostatic drug contamination at workplaces in pharmacies. Anticancer drugs' preparation, 9th GERPAC Conference, 04.-06.10.06, La Badine, Frankreich.
26. J. Türk. *Auftreten und Beseitigung von Zytostatika-Kontaminationen auf Flächen und Textilien*. IUTA Fortbildungsveranstaltung: Sicherer Umgang mit Zytostatika. Vermeidung und Verminderung möglicher Kontaminationen. 20./21. März 2007, Duisburg.
27. J. Türk, I. Strzysch, B. Becker, U. Merrettig-Bruns, S. Kabasci, S. Mohring, G. Hamscher. *Entwicklung eines mikrobiellen Schnelltests zur Identifizierung von Hemmstoffen bei anaeroben Gärprozessen*. AG UMWELT, Milch Industrie Verband, 27.03.2007, Aachen.
28. A. Heinemann, U. Eickmann, T.K. Kiffmeyer, J. Tuerk, H. Stuetzer, M. Hahn, C. Hadtstein. *Wipe sample monitoring of workplace contamination with antineoplastic drugs in pharmacies*. Risks for health care workers: prevention challenges. 4-6 June 2007, Athens, Greece.

9 CURRICULUM VITAE

Name: Jochen Türk
Geburtsdatum: 11.09.1971
Geburtsort: Dachau
Familienstand: verheiratet mit Ivett Türk, geb. Grzenia, 2 Kinder

Schulbildung:

1978 - 1979 Besuch der Grundschule in Karlsfeld
1979 - 1982 Besuch der Grundschule in Idstein
1982 - 1984 Besuch der Förderstufe in Idstein
1984 - 1988 Besuch der Limeschule (Realschule) in Idstein
1988 - 1991 Besuch des beruflichen Gymnasiums (Friedrich-List-Schule),
Fachbereich Chemie mit Ausbildung zum Chemisch-Technischen-
Assistenten (CTA) an der Kerschensteiner-Schule, beide in Wiesbaden

Beruflicher Werdegang:

1991 - 1992 Sanitätssoldat bei der Bundeswehr in Diez/Lahn
1993 - 1995 CTA im Bereich Chemische Analytik und Messstelle beim Institut für
Umwelttechnologie und Umweltanalytik e. V. (IUTA) in Duisburg
1995 - 2001 Chemiestudium an der Universität Dortmund,
Diplomarbeit bei Prof. Dr. M. Spiteller: „Quantifizierung von
Sulfonamiden und Trimethoprim in Gülle mittels HPLC-MS/MS“
seit 09'2001 Wissenschaftlicher Angestellter im Bereich Umweltmedizin beim Institut
für Energie- und Umwelttechnik e. V. (IUTA) in Duisburg
2002 – 2006 Promotion in Instrumenteller Analytik bei Prof. Dr. rer. nat. Heinz-Martin
Kuß an der Universität Duisburg-Essen, Campus Duisburg zum Thema
„Entwicklung und Anwendung von LC-MS/MS Multimethoden zur
Bestimmung von Antibiotika und Zytostatika bei Arbeitsschutz- und
Umweltuntersuchungen“
seit 11'2003 Laborleiter im Bereich Umweltmedizin / Analytik