

Veegproeven: "Niet vegen, maar poetsen"

Richard van Rossen
Laboratorium AHZ

Inleiding:

De Arbo-wet schrijft voor dat "het schoonmaken van ruimten waar met cytostatica wordt gewerkt regelmatig moet worden gecontroleerd door middel van veegproeven". Hoe de veegproeven moeten worden uitgevoerd en hoe vaak dit moet gebeuren, staat niet vermeld.

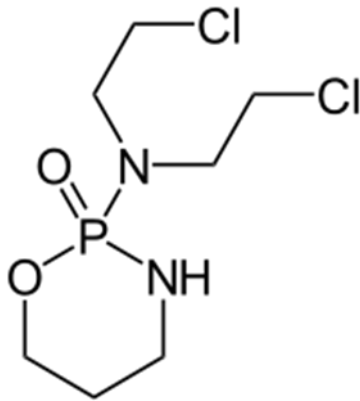
In de bij de AHZ aangesloten ziekenhuizen worden in principe twee maal per jaar veegproeven uitgevoerd. Tot en met 2009 geschiedde de monsternamen door het te onderzoeken oppervlak 3 maal horizontaal en 3 maal verticaal te vegen met bevochtigde (water) tissues. De hierbij gebruikte tissues waren zogenaamde medical wipes van het merk Kimberly-Clark. Waarom deze tissues gebruikt werden is niet helemaal duidelijk. Waarschijnlijk is de enige reden dat ze toevallig in de apotheek aanwezig waren. Of ze geschikt zijn voor het nemen van veegproeven was in ieder geval niet onderzocht.



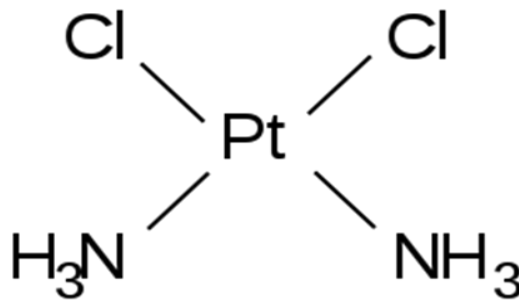
De tissues worden geanalyseerd op de aanwezigheid van cis-platine en cyclofosfamide. Tot en met 2009 werden deze analyses uitbesteed, maar vanaf 2010 worden de analyses door het laboratorium van de AHZ uitgevoerd. Het opzetten van analyses voor cis-platine en cyclofosfamide, was tevens aanleiding om de monsternamen onder de loep te nemen.

Structuurformules:

Cyclofosfamide



Cis-platine



Cis-platine en cyclofosfamide zijn qua structuur dermate verschillend dat het niet mogelijk is om ze met één en dezelfde analyse te bepalen.

Voor cis-platine werd een analyse opgezet m.b.v. grafietoven-AAS (GF-AAS) en voor cyclofosfamide werd een analyse opgezet m.b.v. LC-MS-MS.

Ons streven was om beide analyses in hetzelfde monster uit te voeren en bij voorkeur zonder extractie-procedure.

Monstervoorbewerking:

In de oude situatie werden de tissues na de monsternamen opgerold en in een urinepotje opgestuurd naar een extern laboratorium. Hier werd er 23 ml water aan het potje toegevoegd, waarna het potje een uur geschud en/of ge-ultrasoond werd. In de literatuur zijn ook analyses beschreven waarbij geëxtraheerd wordt met ethylacetaat. Beide monstervoorbewerkingen worden door ons als ongewenst beschouwd. De veegmonsters zijn potentieel ernstig vervuild met cytostatica en daarom willen wij contact met de veegmonsters zo veel mogelijk voorkomen.

Sabatini ^[3] beschrijft een methode waarbij de tissue direct na de monsternamen in een disposable injectiespuit wordt gedaan. Vervolgens wordt het water handmatig uit de tissue geperst.



Deze methode is door ons uitgetoetst, maar bleek niet geschikt. Het vergt namelijk veel kracht om het water uit de tissue te persen en dat is bij grote aantallen veegmonsters eigenlijk niet op te brengen voor een analist(e). Bovendien viel de hoeveelheid water die uit de tissues geperst werd nogal tegen.

De Salivette

In het verleden hebben wij onderzoek gedaan naar de analyse van cafeïne in speeksel. Bij dit onderzoek werd gebruik gemaakt van de zogenaamde Salivette om speeksel te verzamelen bij patiënten.

Het Salivette systeem bestaat ondermeer uit een wattenrolletje dat patiënten enige tijd in hun mond moeten houden. Het wattenrolletje zuigt zich vol met speeksel, waarna het in een houder wordt gedaan. Deze houder bestaat uit 2 delen. Het eerste deel, waar het wattenrolletje in gaat, bevat een gaatje in de bodem. Het tweede deel is een taps toelopende buis waar het eerste deel ingeklikt wordt. Het geheel wordt vervolgens gecentrifugeerd, waarbij het speeksel uit het wattenrolletje wordt gecentrifugeerd en wordt opgevangen in de taps toelopende buis.



Wij hebben de Salivettehouder gebruikt om het water uit veegproef-tissues te centrifugeren. Dit bleek goed te werken, waarna besloten werd om deze werkwijze voor cyclofosfamide te valideren. Hierbij is gekeken naar de precisie, de herhaalbaarheid, de reproduceerbaarheid en de recovery. De recovery werd bepaald door een bekende hoeveelheid cyclofosfamide (in water) rechtstreeks op een tissue te pipetteren. De tissue werd vervolgens gecentrifugeerd en het centrifugaat werd zonder verdere bewerking in de LC-MS-MS geïnjecteerd. De recovery bleek gemiddeld 82% te zijn, wat voor deze toepassing voldoende is.

Er kleeft echter één nadeel aan deze werkwijze: Het is nogal een gedoe om de tissues in de salivettehouder te proppen. Daarom is onderzocht of het Salivette wattenrolletje gebruikt kan worden voor het nemen van veegproeven. Om te beginnen is wederom de recovery van cyclofosfamide uit het wattenrolletje bepaald. Deze bleek 95% te zijn en is dus zelfs hoger dan bij de tissues.



De Opnamecapaciteit

Maar dan komen we bij de hamvraag: Als er geveegd wordt met Salivettes, wordt de eventueel aanwezige cyclofosfamide verontreiniging dan wel voldoende opgeveegd ?

Deze parameter hebben we de opname-capaciteit genoemd.

De opname-capaciteit wordt bepaald door een oppervlak te verontreinigen met een bekende hoeveelheid cyclofosfamide en vervolgens dit oppervlak te vegen met een met water bevochtigde Salivette.

De opname-capaciteit bleek 55% te zijn met een variatiecoëfficiënt van 5% (n=6). Dit viel ons in eerste instantie nogal tegen. Daarom hebben we onderzocht wat de opnamecapaciteit was van de tissues. Die bleek nog lager te zijn en wel slechts 29% met een variatiecoëfficiënt van maar liefst 19% (n=6).

Onze conclusie was dan ook dat de cyclofosfamide veegproeven voortaan uitgevoerd moeten worden met Salivettes.

Validatie Cyclofosfamide in Salivettes			
Lineariteit	1.1 - 1100 µg/l		
Detectiegrens	0.5 µg/l		
Minimale rapportwaarde	2 ng/veegmonster		
Precisie HPLC systeem (vc; n=6)	2.1% (55.2 µg/l)		
Herhaalbaarheid (vc; n= 6)	3.5% (2.76 ng)	5.3% (55.2 ng)	4.5% (1104 ng)
Recovery (uit Salivette)	95% (gemiddelde van 3 concentraties)		
Opnamecapaciteit (vegen met water)	55% (gemiddelde van 3 concentraties)		

Cisplatine veegproeven met de Salivette

De volgende stap was te onderzoeken of de de Salivette wattenrolletjes ook geschikt zijn voor het nemen van cis-platine veegproeven.

Ook hier werd eerst de recovery bepaald (niet te verwarren met de opname-capaciteit).

De recovery werd bepaald door een bekende hoeveelheid cis-platine rechtstreeks op een wattenrolletje/tissue te pipetteren. Het wattenrolletje/tissue werd vervolgens gecentrifugeerd en het centrifugaat werd zonder verdere bewerking in de GF-AAS geïnjecteerd.

De recovery van cisplatine uit het wattenrolletje bleek gemiddeld 100%, tegen slechts 25% bij de tissues.

Cisplatine wordt gemeten als platina. Aangezien platina niet kan ontleden is adsorptie de enige verklaring voor de lage recovery bij de tissues. Blijkbaar adsorbeert cisplatine zeer sterk aan de tissues en niet aan de wattenrolletjes. Hieruit kan al direct de conclusie getrokken worden dat de tissues niet geschikt zijn voor deze werkwijze.

Overigens bleek later dat cisplatine na verloop van tijd wel degelijk adsorbeert aan de wattenrolletjes. Na één week bewaren in de koelkast was de recovery nog maar 50%. In de vriezer bleek de adsorptie veel minder snel plaats te vinden (90% recovery na één week bij -20°C). Dit betekent dat de wattenrolletjes na de monstername zo snel mogelijk gecentrifugeerd moeten worden. Wanneer dit niet binnen 24 uur mogelijk is, moeten de veegmonsters ingevroren worden.

Vervolgens werd de opname-capaciteit van cis-platine met de Salivette bepaald. Dit bleek slechts 34% te zijn. Dit was voor ons reden om de veegprocedure nog eens tegen het licht te houden. Bij een aantal ziekenhuizen werd nagevraagd welke veegprocedure zij gebruiken.

De meeste ziekenhuizen bleken min of meer hetzelfde te vegen: een droog oppervlak wordt geveegd met een bevochtigde tissue. Alleen Exposure Control ¹⁾ heeft een wezenlijk afwijkende veegprocedure. Zij druppelen een vloeistof (voor cis-platine is dit 0,5 M zoutzuur) op het oppervlak en vegen dit vervolgens krachtig (!) op met een droge tissue. Omdat wij de veegprocedure zo eenvoudig mogelijk willen houden voor de apothekers-assistentes (die bij ons de monsternamen uitvoeren), heeft de Exposure Control werkwijze niet onze voorkeur. In plaats daarvan hebben wij een werkwijze bedacht die een combinatie is van onze werkwijze en die van Exposure Control. Dit houdt in dat wij met een bevochtigde Salivette het oppervlak krachtig vegen ("niet vegen maar poetsen"), waardoor een gedeelte van het vocht uit de Salivette wordt gedrukt. Dit vocht vegen we vervolgens weer op door met dezelfde Salivette het oppervlak rustig na te vegen. Wanneer deze veegprocedure werd uitgevoerd met 0,2M zoutzuur behaalden wij een opname-capaciteit voor cis-platine van 83%. Met water was de opname-capaciteit 54%. Ondanks de hogere opname-capaciteit met zoutzuur is er toch voor gekozen om voortaan water te gebruiken, omdat er ook regelmatig RVS oppervlakken moeten worden geveegd.

¹⁾ Exposure Controle is een laboratorium dat op commerciële basis veegproeven uitvoert.

Validatie Cis-platine in Salivettes	
Lineariteit	5-130 µg/l
Detectiegrens	5 ng/veegmonster
Minimale rapportwaarde	10 ng/veegmonster
Precisie meetsysteem (vc; n=6)	3,5% (129,9 µg/l)
Herhaalbaarheid (vc; n= 6)	5,6% (259,6 ng/veegmonster)
Recovery (uit Salivette)	99,8% bij direct centrifugeren, anders afhankelijk van contacttijd en bewaartemperatuur
Opnamecapaciteit (0,2 M HCl)	83% (259,6 ng/veegmonster)
Opnamecapaciteit (H ₂ O)	54% (259,6 ng/veegmonster)

Als we nieuwe veegprocedure toepassen op cyclofosfamide blijkt de opname-capaciteit 84% te zijn !
 Samengevat is dit de stand van zaken (zie tabel)

Cyclofosfamide	vegen met tissues	vegen met Salivettes	poetsen met Salivettes
Opname-capaciteit (%)	29	55	84
v.c.(%)	19	5	3.5

cis-Platine	vegen met tissues	vegen met Salivettes	poetsen met Salivettes
Opname-capaciteit (%)	?	34	54
v.c.(%)	?	7.6	4.9

Wat de opnamecapaciteit voor cis-platine is bij vegen met tissues is niet onderzocht. Het is zeer aannemelijk dat dit vrij laag zal zijn. In de afgelopen jaren hebben wij met deze veegprocedure in ieder geval nooit een positieve cis-platine gevonden!

Interpretatie

We weten nu dat we goede analyses hebben en dat ook de monsternamen in orde is. Maar hoe moeten de gevonden resultaten geïnterpreteerd worden?

In een AHZ werkinstructie uit 2008 staat: "Alle monsters boven de detectielimiet worden als positief gezien. De detectielimiet is afhankelijk van de staat der techniek".

Dit komt dus neer op een soort "Zero Tolerance" beleid. Inmiddels weten we dat dit niet reëel is, zoals blijkt uit onderstaande tabel:

	Lab	Detectielimiet (ng/veegmonster)	% positief
1999	A	25	13
2000	A	25	9.8
2002	A	35	8.2
2004	A	35	3.8
2006	A	1.3	17.1
2007	B	50	2.7
2009	B	50	2.9
2010	AHZ	2	27.5

Toelichting bij tabel:

Van 1999 tot en met 2009 werden onze cyclofosfamide veegmonsters geanalyseerd door een extern lab.

Van 1999 tot en met 2006 stuurden wij onze veegmonsters naar lab A. Tot en met 2004 hanteerde dit lab een detectielimiet van 25 of 35 ng/veegmonster. In 2006 schakelde dit lab over op een veel gevoeliger GC-MS analyse methode, waardoor de detectielimiet daalde naar 1,3 ng/veegmonster. Als gevolg hiervan steeg het percentage positieve monsters naar 17,1%.

In 2007 en 2009 werden onze cyclofosfamide veegmonsters naar een ander lab (B) gestuurd en dit lab hanteerde een detectielimiet van 50 ng/veegmonster, waardoor het percentage positieve monsters daalde naar een geruststellende kleine 3%.

In 2010 zijn wij de analyses zelf gaan doen met een gevoelige LC-MS-MS methode waarmee we met gemak een ondergrens van 2 ng/veegmonster halen. In combinatie met de hogere opnamecapaciteit van de nieuwe veegprocedure zorgde dit er voor dat het aantal positieve monsters naar recordhoogte steeg.

Terecht kregen wij vanuit de kliniek het verwijt dat ze met dit soort resultaten niets kunnen. Het ene jaar is bijna alles schoon en een jaar later zijn ruim een kwart van de monsters positief. Er moesten dus duidelijke criteria komen voor de mate van verontreiniging.

De werkgroep toetsingswaarden cytostatica van de NVvA, NVVK en NVZA heeft in 2009 een rapport uitgebracht met als titel "Meetstrategie en werkinstructie veegproeven cytostatica". Dit rapport hebben wij gebruikt als leidraad voor het vaststellen van onze criteria.

Voor de interpretatie van de resultaten heeft de werkgroep de volgende criteria vastgesteld:

Toetsingswaarden	Actie
< 0,1 ng/cm ²	1x per jaar herhalen: na 4 jaar herzien
0,1 – 10 ng/cm ²	Risico inschatten, mogelijk vervolgmeting binnen 3-6 maanden, zonodig gevolgd door maatregelen.
>10 ng/cm ²	Maatregelen nemen en controleren met vervolgmeting

In de AHZ drukken wij het resultaat liever uit in ng/veegmonster, omdat wij ook veel afwijkende voorwerpen vegen, zoals een deurkruk, telefoon, infuusstang, etc.. Bij vlakke oppervlakken gaan wij uit van 20 bij 20 cm (400 cm²). Hierdoor wordt de ondergrens van 0,1 ng/cm² bij ons 40 ng/veegmonster.

Verder hebben wij het gebied 0,1 – 10 ng/cm² opgesplitst in twee niveau's.

Referentiewaarden AHZ (ng/veegmonster)	Resultaat	Niveau	Actie
< 40	-		Geen
40-400	+	ALERT	Risico inschatten, vervolgmeting binnen 3-6 maanden
400-4000	++	ACTIE	Risico inschatten, gevolgd door corrigerende maatregelen en z.s.m. vervolgmeting
>4000	+++	DIRECT ACTIE	Direct corrigerende maatregelen, gevolgd door vervolgmeting

Conclusie's

- De nieuwe AHZ-veegprocedure met de Salivettes zorgt voor een hogere opnamecapaciteit van zowel cyclofosfamide als cis-platine.
- De monstername is zeer eenvoudig en kan door iedereen worden uitgevoerd; er zijn geen analytische handelingen bij nodig.
- De monstervoorbewerking is minimaal, waardoor de kans op contact met cytostatica tot een minimum wordt beperkt.
- Er is een gevalideerde methode voor het uitvoeren van veegproeven naar oppervlakte besmetting met cyclofosfamide en cis-platine.
- Er zijn duidelijke criteria vastgesteld voor de interpretatie van de resultaten.

Veegproeven kit

Het veegproeven onderzoek heeft geleid tot de ontwikkeling van een kant-en-klare kit voor het uitvoeren van veegproeven. De kit bevat 10 buizen voor monstername en is eenvoudig in gebruik, zodat op basis van de meegeleverde instructies, iedereen de veegproeven kan uitvoeren. Na monstername kunnen de buizen in de originele verpakking worden geretourneerd naar het antwoordnummer van de AHZ. De verpakking past door de brievenbus, waardoor speciale pakketpost, etikettering of frankering niet nodig is.

Tarieven 2011

Het tarief per bepaling is € 45,- (incl. materialen en verzending). Indien de monsters worden aangeboden tijdens de vaste meetmomenten van de AHZ geldt een gereduceerd tarief. De korting is afhankelijk van het totale aanbod en de daarmee te realiseren efficiëntie-winst.



Literatuur

[1] Simultaneous determination of gemcitabine, taxol, cyclophosphamide and ifosfamide in wipe samples by HPLC/tandem mass spectrometry.

Christina Sottani et al.

Rapid communications in mass spectrometry 2007;21: 1289-1296.

[2] 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.

Laura Sabatini et al.

Journal of mass spectrometry 2005; 40: 669-674

[3] Determination of oxaliplatin in human plasma and plasma ultrafiltrate by graphite-furnace atomic absorption spectrometry.

E.E.M.Brouwers, Anal.Bioanal.Chem. (2005) 382; 1484-1490.

[4] Brouwers et al, Monitoring of platinum surface contamination in seven Dutch hospital pharmacies using inductively coupled plasma mass spectrometry, International archives of occupational and environmental health, Volume: 80, Issue: 8 (August 1, 2007), pp: 689-699

[5] Meetstrategie en werkinstructie veegproeven cytostatica, Werkgroep toetsingswaarden cytostatica, NVvA, NVVK, NVZA, juli 2009

[6] Gebruiksaanwijzing Cyto Wipe Kit, Exposure Control B.V. (2010)

[7] Veeginstructie voor derden, UMCG, 11-11-2009