

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2022102101

袁中珍, 李巧巧, 唐甜甜, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定 PIVAS 工作环境中 5 种细胞毒性药物残留[J]. 环境化学, 2023, 42(7): 2349-2358.

YUAN Zhongzhen, LI Qiaoqiao, TANG Tiantian, et al. Simultaneous determination of 5 cytotoxic drugs residues in PIVAS workplace ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Environmental Chemistry, 2023, 42 (7): 2349-2358.

超高效液相色谱-串联质谱法同时测定 PIVAS 工作环境中 5 种细胞毒性药物残留*

袁中珍 李巧巧 唐甜甜 张敏 刘宇 刘玲**

(重庆大学附属肿瘤医院, 重庆, 400030)

摘要 建立超高效液相色谱-串联质谱技术同时测定医院静脉用药调配中心(PIVAS)工作环境中 5 种细胞毒性药物吉西他滨、环磷酰胺、表柔比星、依托泊苷及紫杉醇在玻璃、不锈钢和 PVC 材质表面残留含量的检测方法。将 2 cm×2 cm 滤纸用 100 μL 80% 乙腈-0.1% 甲酸溶液润湿后对 10 cm×10 cm 物表进行擦拭取样, 擦拭样品用 1 mL 20% 乙腈含 0.1% 甲酸溶液重复提取 2 次, 合并提取液离心后取上清液, 以水-乙腈(0.1% 甲酸)为流动相梯度洗脱, 采用电喷雾电离源正离子模式和 MRM 模式检测。结果表明, 吉西他滨和环磷酰胺在 0.1—800 ng·mL⁻¹、表柔比星和依托泊苷在 0.1—200 ng·mL⁻¹、紫杉醇在 0.2—200 ng·mL⁻¹ 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.999, 方法的检出限为 0.2—1 pg·cm⁻², 定量限(LOQ)为 0.6—3.2 pg·cm⁻²。在玻璃、PVC 和不锈钢 3 种材质上 3 个加标水平(200、1000、4000 ng·mL⁻¹)的回收率为 67.1%—108%, 相对标准偏差(RSD)为 0.8%—13.3%。用本文建立的方法检测本中心 PIVAS 环境物体表面, 发现 5 种细胞毒性药物可被不同程度检出, 浓度范围为 1.8—10898.8 pg·cm⁻², PIVAS 医务人员存在一定的细胞毒性药物职业暴露风险。

关键词 静脉用药调配中心(PIVAS), 细胞毒性药物, 残留, 超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)。

Simultaneous determination of 5 cytotoxic drugs residues in PIVAS workplace ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YUAN Zhongzhen LI Qiaoqiao TANG Tiantian ZHANG Min
LIU Yu LIU Ling**

(Department of Pharmacy, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing, 400030, China)

Abstract An ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) analytical method was established and validated for the simultaneous determination of 5 cytotoxic drugs on the surface of glass, stainless steel, and PVC in the working environment of the pharmacy intravenous admixture service (PIVAS). The 10 cm×10 cm surface was wiped and sampled by a 2 cm×2 cm filter paper moistened with 100 μL of 80% ACN (0.1% FA) solution. Then the sample of filter paper was extracted with 1 mL 20% acetonitrile containing 0.1% formic acid solution two

2022 年 10 月 21 日收稿(Received: October 21, 2022).

* 重庆市科卫联合医学科研项目(2021MSXM010)资助。

Supported by Chongqing Medical Scientific Research Project Chongqing Health Commission and Science and Technology Bureau (2021MSXM010).

** 通信联系人 **Corresponding author**, Tel: 023-65075719, E-mail: ll8338@cqu.edu.cn

times. The supernatant was taken after centrifugation of the combined extraction solution, then the supernatant was used directly quantitated by UPLC-MS/MS in MRM mode after gradient elution with water and ACN with -0.1% FA as mobile phase. The results showed that good linearity was observed for GEM and CTX from $0.1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ to $800 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, EPI and VP-16 from $0.1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ to $200 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, TAX from $0.2 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ to $200 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, with correlation coefficients larger than 0.999. The limits of detection (LODs) were $0.2\text{--}1 \text{ pg}\cdot\text{cm}^{-2}$ and limits of quantitation (LOQs) were $0.6\text{--}3.2 \text{ pg}\cdot\text{cm}^{-2}$. The average recoveries at three different spiked levels (200, 1000, 4000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) ranged from 67.1% to 108%, with relative standard deviations (RSD) of 0.8%—13.3%. This method was used to detect the surface of the PIVAS environment, and it was found that five cytotoxic drugs could be detected with concentrations range from $1.8 \text{ pg}\cdot\text{cm}^{-2}$ to $10898.8 \text{ pg}\cdot\text{cm}^{-2}$, which indicated that unintended occupational exposure to antineoplastic drugs may occur in PIVAS.

Keywords pharmacy intravenous admixture service (PIVAS), cytotoxic drug, residue, ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS).

细胞毒性药物作为抗肿瘤治疗的重要手段之一, 临床应用广泛. 长期从事细胞毒性药物准备工作的医护人员可能受到职业暴露危害主要有基因突变、生殖影响和致癌^[1-3]. 国际癌症研究机构将 10 余种细胞毒性药物归类为 1 类致癌物与 2A 类疑似致癌物^[4]. 目前有研究报道, 细胞毒性药物职业暴露生殖毒性可能导致流产、暂时性或永久性不孕、早产、先天畸形和引起接触者子女学习障碍^[5]; 长期职业暴露将增加患脱发、感染、器官毒性、骨髓毒性、粘膜溃疡、疲劳、出血和头痛的风险^[6]; 此外, 职业暴露个体的 DNA 损伤、染色体异常和癌症的发生率更高^[7-8]. 根据国家卫生健康委发布的《静脉用药调配中心建设与管理指南》规定, 细胞毒性药物必须在静脉药物调配中心 (Pharmacy Intravenous Admixture Services) 中实行集中配置和供应. 工作人员每天参与的排药、混合调配和成品复核等工作, 不可避免地接触各类细胞毒性药物, 面临着很大的职业暴露风险. PIVAS 工作环境物体表面上残留的细胞毒性药物主要是一些低分子量药物, 皮肤接触和经皮吸收是其职业暴露的主要途径^[9-11]. 因此对 PIVAS 工作环境, 尤其是工作区域物体表面细胞毒性药物残留情况的评估和监测至关重要^[12-13].

目前并没有统一的表面污染阈值水平, 环境污染的代表药物一般是根据当地所在医院细胞毒性药物使用特性来决定的^[14]. 我国目前评估细胞毒性药物残留情况所选取的目标药大多仅研究了环磷酰胺与阿糖胞苷两种药物, 而对用量大、毒性大的药物, 如吉西他滨、紫杉醇类药物等少有研究^[15-17]. 近期有研究利用 UPLC-MS/MS 对我国 10 家医院 PIVAS 进行了环境污染评估和监测, 发现其检测的两种药物(环磷酰胺和阿糖胞苷)污染最严重的区域是生物安全柜^[15]. 擦拭取样已经广泛应用与环境监测^[18-19], 本研究采用 UPLC-MS/MS, 选取了 5 种使用频率高, 性质差异大的细胞毒性药物作为研究对象, 通过对生物安全柜及 PIVAS 内常用材质玻璃、不锈钢和 PVC 表面进行模拟污染, 通过擦拭取样, 建立了 PIVAS 生物安全柜、地面及工作区域其他物体表面上多种细胞毒性药物残留的测定方法, 对评估 PIVAS 工作人员职业暴露风险具有重要意义.

1 实验部分(Experimental section)

1.1 仪器与试剂

AB SCIEX Triple Quad TM 4500MD 液相色谱串联质谱检测系统、高效液相色谱仪 (Jasper TM) 和软件 Analyst® MD (板本号: 1.6) 组成 (AB SCIEX 公司); H1-16KR 型医用离心机 (湖南可成仪器设备有限公司); SB-5200D 型超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); Milli-Q 纯水系统 (美国 Millipore 公司); Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm); Quintix125D-1CN 万分之一分析天平 (SQP 型, Sartorius 公司).

标准品: 吉西他滨 (Gemcitabine, GEM, 批号: T26S6T3870, 纯度≥99%)、依托泊苷 (Etoposide, VP-16, 批号: C09S11S123704, 纯度≥98%)、紫杉醇 (Paclitaxel, TAX, 批号: J04S11H123510, 纯度≥98%)、表

柔比星 (Epirubicin, EPI, 批号: AQW905, 纯度 $\geq 98\%$)、环磷酰胺 (Cyclophosphamide, CTX, 批号: CMA739, 纯度 $\geq 98\%$)、安替比林 (Antipyrine, APR, 批号: Y22A10C86317, 纯度 $\geq 98\%$), 均来自源叶生物科技有限公司。主要试剂: 乙腈、甲醇 (色谱纯, 美国 TEDIA 公司); 甲酸、二甲基亚砜 (色谱纯, Macklin 公司); 水为 Milli-Q 高纯水; 滤纸 (100 张/盒, 英国 Whatman 公司)。

内标溶液的配制: 准确称取安替比林 20.0 mg, 置于 20 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 得到 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 储备液。精密移取内标储备液 0.4 mL 至 20 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释为 $20 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准溶液, 内标储备液和标准溶液均保存在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中。进一步用 20% 乙腈 (含 0.1% 甲酸) 溶液稀释为 $10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内标工作液, 测试当日新鲜配制。

标准溶液的配制: 准确称取吉西他滨、依托泊苷、紫杉醇、表柔比星和环磷酰胺标准品 20.0 mg, 分别用二甲基亚砜溶解并定容于 20 mL 容量瓶中, 得到 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 单标储备液。分别精密移取单标储备液 0.4 mL 至 20 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释, 配成浓度各为 $20 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合标准溶液。准确移取混合标准溶液至容量瓶中, 配制成 200、1000、4000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合标准中间液。用 $10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内标工作液逐级稀释成 0.1、0.5、1、10、50、200、800 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 系列标准工作溶液, 上机测定。所有储备液和标准溶液均在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存。

1.2 实验方法

1.2.1 样品采集和处理

用 $2 \text{ cm}\times 2 \text{ cm}$ 的滤纸擦拭 $10 \text{ cm}\times 10 \text{ cm}$ 面积区域, 0.1 mL 乙腈-0.1% 甲酸溶液 (80:20, V/V) 为预湿溶液, 重复擦拭 2 遍。将擦拭后的 2 张滤纸置于 2 mL EP 管中, 加入 1 mL 内标工作液, 超声提取 20 min。上清液移至另一个 4 mL 离心管中, 残渣用 1 mL 内标工作液重复提取 1 次, 合并上清液, $14000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清液 200 μL 供 UPLC-MS/MS 测试。

1.2.2 色谱条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱 ($2.1 \text{ mm}\times 50 \text{ mm}$, $1.7 \text{ }\mu\text{m}$); 柱温: $35 \text{ }^\circ\text{C}$; 进样量: 3 μL ; 流动相: A 相为水, B 相为 0.1% 的甲酸乙腈溶液; 流速: $0.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 梯度洗脱程序为: 0—1.0 min, 10%B; 1.01—2.50 min, 20% \rightarrow 30%B; 2.51—3.00 min, 30% \rightarrow 80%B; 3.01—3.50 min, 80%B; 3.51—4.00 min, 80% \rightarrow 10%B; 4.01—5.00 min, 10%B。

1.2.3 质谱条件

电喷雾电离源 ESI(+), 采用多反应监测 (MRM) 模式。气帘气压力: 35 psi, 碰撞气压力: 8 psi, 离子源喷雾电压: 5500 V, 温度: $500 \text{ }^\circ\text{C}$, 离子源气 1 压力 50 psi, 离子源气 2 压力 50 psi, 5 种细胞毒性药物的串联质谱参数见表 1。

表 1 5 种细胞毒性药物和内标的串联质谱参数

Table 1 Detection parameters of 5 cytotoxic drugs and internal standard with tandem mass spectrometry

化合物 Compounds	保留时间/min Retention time	母离子 Precursor ion (m/z)	子离子 Product ions (m/z)	锥孔电压/V Cone voltage	碰撞能量/V Collision energy
GEM	0.42	264.3	112.0	72	23
APR	1.84	189.3	56.0	78	49
CTX	2.6	261.1	140.1	92	29
EPI	2.86	544.3	379.0	105	27
VP-16	3.19	589.3	229.1	116	20
TAX	3.61	876.4	308.2	60	28

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 化合物和内标物的选择

根据世界卫生组织国际癌症研究机构发布的 2020 年全球最新癌症负担数据显示, 我国是癌症发病率最高的国家, 而细胞毒性药物目前仍是抗肿瘤治疗非常重要的手段, 在临床使用广泛^[20]。对我院

2019—2020 年细胞毒性药物使用情况进行统计分析, 筛选出排名靠前 10 位的药物. 根据细胞毒性药物的理化性质和结构类型, 从 10 种药物中筛选出 5 种具有代表性的药物, 包含了水溶性和脂溶性药物, 其中水溶性药物为吉西他滨、环磷酰胺、表柔比星, 脂溶性药物为依托泊苷和紫杉醇.

内标物的选择首选稳定同位素标记内标, 同时测定多种药物时需要多种药物同位素内标, 但同位素内标不易得到, 实际操作比较困难. 有文献报道安替比林作为异环磷酰胺内标进行危害药物表面污染检测方法可行^[21]. 本研究选择安替比林为内标, 其色谱峰的位置在 5 种细胞毒性药物色谱峰中间且完全分离, 能够满足分析需要.

2.2 质谱条件的优化

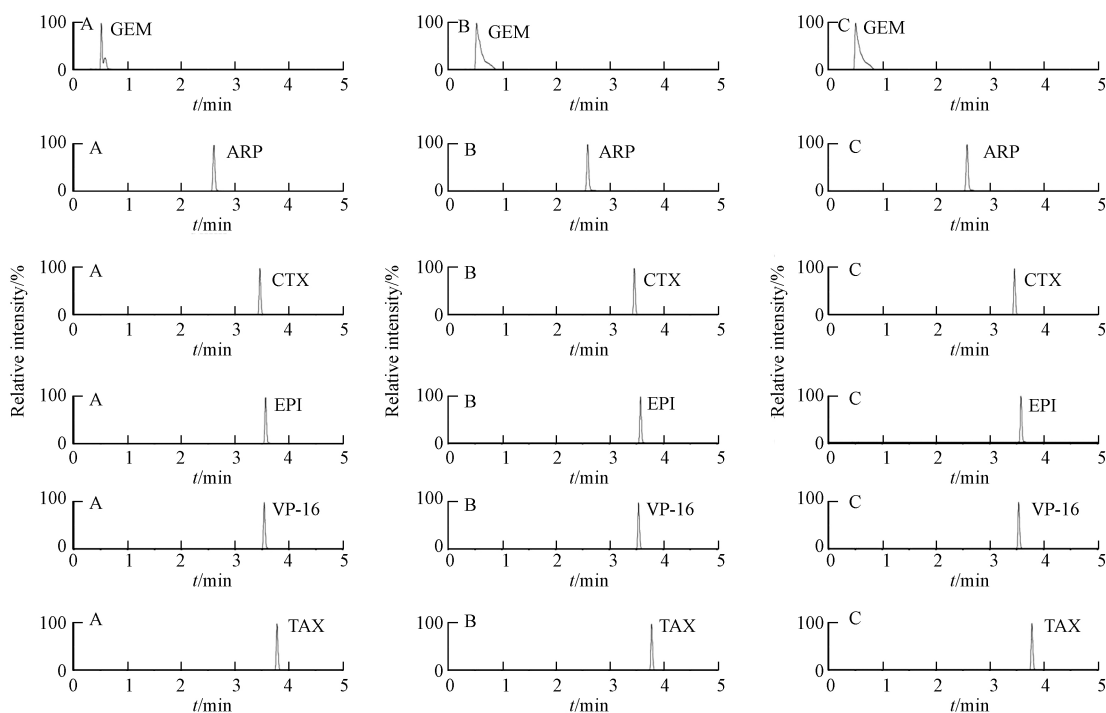
用 $100 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 5 种细胞毒性药物的混合标准品溶液, 以 ESI+ 扫描方式进行一级质谱扫描, 考察目标化合物的准分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 确定母离子后, 进行二级质谱扫描, 取丰度较高且相对稳定的碎片离子作为定量、定性离子, 并采用 MRM 模式进一步优化碰撞能量、解簇电压等质谱参数. 表柔比星对定性离子进行优化时, 调整碰撞能量后 m/z 544.3/397.1 与 m/z 544.3/379.0 离子对响应较好, 但实际测定中发现相对响应较高的 m/z 544.3/397.1 离子对存在较多干扰, 故采用 m/z 544.3/379.0 作为定量离子对.

2.3 色谱条件的优化

本研究比较了 0.1% 的甲酸水溶液-0.1% 的甲酸乙腈溶液、0.1% 的甲酸水溶液-乙腈溶液、水-0.1% 的甲酸乙腈溶液、0.1% 的甲酸水溶液-0.1% 的甲酸甲醇溶液、0.1% 的甲酸水溶液-甲醇溶液、水-0.1% 的甲酸甲醇溶液作为流动相时 5 种细胞毒性药物的分离效果. 结果表明, 用乙腈为流动相吉西他滨色谱峰拖尾现象得到改善, 对称性较好. 水-0.1% 的甲酸乙腈溶液为流动相时, 采用梯度洗脱, 分析时间 5 min, 各待测化合物响应好, 离子化效率最佳, 5 种细胞毒性药物和内标物的色谱图见图 1.

2.4 基质效应

取 6 份 $2 \text{ cm}\times 2 \text{ cm}$ 空白滤纸用 1 mL 20% 乙腈-0.1% 甲酸溶液重复提取 2 次, 合并提取液, $14000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 上清液即为经过前处理的空白基质. 分别用溶剂和经过前处理的空白基质配制 5、25、 $100 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质控样品, 5 种细胞毒性药物和 IS 的基质效应 = $100\% \times$ 经过前处理的空白基质配制样品的峰面积/溶剂配制样品的峰面积, 内标归一化的基质效应 = $100\% \times$ 细胞毒性药物的基质效应/IS 的基质效应.



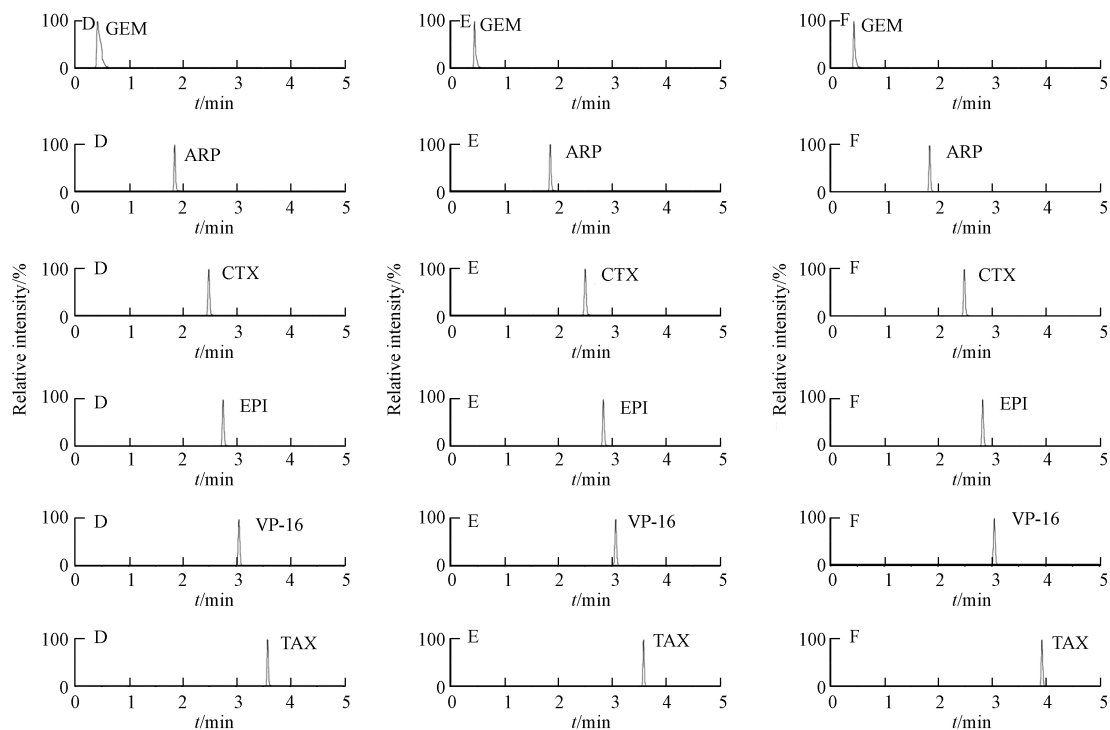


图 1 5 种细胞毒性药物和内标物的色谱图

(目标物浓度为 $200 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$; A. 0.1% 甲酸水-甲醇; B. 水-0.1% 甲酸甲醇; C. 0.1% 甲酸水-0.1% 甲酸甲醇; D. 0.1% 甲酸水-乙腈; E. 水-0.1% 甲酸乙腈; F. 0.1% 甲酸水-0.1% 甲酸乙腈)

Fig.1 Chromatograms of 5 cytotoxic drugs and internal standard

(The target analytes concentration was $200 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$; A. 0.1% formic acid/water-methanol; B. water-0.1% formic acid/methanol; C. 0.1% formic acid/water-0.1% formic acid/methanol; D. 0.1% formic acid/water-acetonitrile; E. water-0.1% formic acid/ acetonitrile; F. 0.1% formic acid/water-0.1% formic acid/ acetonitrile)

在 $2 \text{ cm}\times 2 \text{ cm}$ 空白滤纸添加 $50 \mu\text{L}$, 200 、 1000 、 $4000 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 3 个水平的混合标准物质, 用 1 mL 20% 乙腈- 0.1% 甲酸溶液重复提取 2 次, 合并提取液, $14000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min , 去上清液进样; 经过前处理的空白基质配制相应浓度的质控样品. 5 种细胞毒性药物和 IS 的回收率 = $100\% \times$ 加标样品测得的峰面积 / 空白基质配制样品测得的峰面积, 内标归一化的回收率 = $100\% \times$ 细胞毒性药物的回收率 / IS 的回收率. 对于基质效应与回收率 RSD 不大于 15% , 结果见表 2.

表 2 5 种细胞毒性药物和内标物的基质效应及回收率

Table 2 The matrix effect and recovery of 5 cytotoxic drugs and IS

化合物 Compounds	浓度/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$ Concentration	基质效应/% Matrix effect	内标归一化的基质效应/% IS-normalized matrix effect	回收率/% Recovery	内标归一化的回收率/% IS-normalized recovery
GEM	5	98.2 ± 6.2	94.8 ± 5.5	94.3 ± 9.8	92.2 ± 5.0
	25	96.2 ± 1.1	94.5 ± 0.7	92.8 ± 8.4	105.9 ± 11.9
	100	96.5 ± 1.3	94.0 ± 2.4	97.8 ± 5.2	108.7 ± 3.0
CTX	5	100.2 ± 2.4	96.7 ± 1.2	91.6 ± 10.8	89.5 ± 7.2
	25	98.9 ± 7.5	97.1 ± 7.0	92.5 ± 3.7	105.4 ± 7.3
	100	103.0 ± 3.7	100.3 ± 2.5	90.8 ± 3.4	101.3 ± 2.3
EPI	5	101.9 ± 6.4	98.4 ± 8.7	95.6 ± 4.7	93.7 ± 4.3
	25	100.5 ± 4.2	98.7 ± 5.7	93.3 ± 3.0	106.2 ± 2.9
	100	101.9 ± 1.4	99.3 ± 2.6	91.3 ± 1.6	102.8 ± 1.8
VP-16	5	98.6 ± 11.2	95.0 ± 8.5	101.3 ± 5.6	99.3 ± 8.0
	25	96.0 ± 7.0	94.2 ± 6.1	95.2 ± 9.2	108.3 ± 8.0
	100	101.4 ± 2.1	98.8 ± 2.7	95.9 ± 2.9	109.3 ± 3.5

续表 2

化合物 Compounds	浓度/(ng·mL ⁻¹) Concentration	基质效应/% Matrix effect	内标归一化的基质效应/% IS-normalized matrix effect	回收率/% Recovery	内标归一化的回收率/% IS-normalized recovery
TAX	5	101.0±10.0	97.7±12.9	87.6±7.6	85.6±2.1
	25	91.5±8.3	89.9±9.8	87.0±10.7	98.9±10.1
	100	99.6±6.4	97.1±6.8	89.2±6.2	99.2±7.1
APR	10	102.7±1.9		92.5±9.1	

2.5 样品前处理条件的优化

2.5.1 提取溶液的选择

提取溶液的选择以提取更多的目标化合物和更少的杂质为目的. 水、甲醇和乙腈是最常用的提取溶剂^[22]. 本研究比较了不同比例(20%、40%、60%和80%)的乙腈水溶液(含0.1%甲酸)对5种细胞毒性药物的提取效率. 将浓度4000 ng·mL⁻¹工作液50 μL喷洒到2 cm×2 cm滤纸上作为模拟样品进行考察, 结果显示如图2, 20%乙腈-0.1%甲酸溶液为提取溶剂时, 5种药物的平均提取回收率即可达到84.7%—102%, 能够满足 OSHA 表面采样评估指南建议分析物的采集回收率需高于75%^[23]. 乙腈浓度的增加并未显著提高提取回收率, 而当乙腈浓度增加到80%时, 表柔比星的峰型变得很差, 且考虑到有机溶剂的有毒性, 因此选择20%乙腈-0.1%甲酸溶液为提取溶剂.

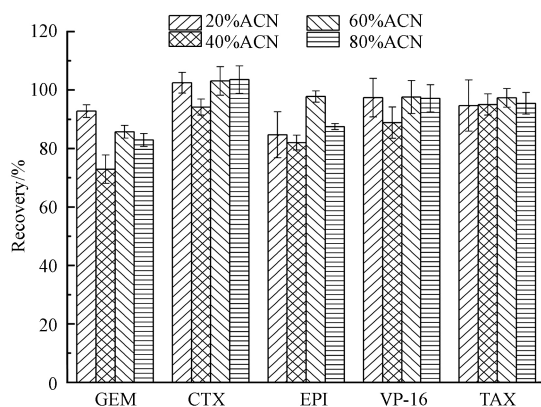


图2 不同提取溶剂的提取效率

Fig.2 Extraction efficiency of different extraction solvents

2.5.2 提取次数的选择

本实验分别考察了用1 mL 20%乙腈-0.1%甲酸溶液对4000 ng·mL⁻¹工作液50 μL喷洒到2 cm×2 cm滤纸上作的模拟样品提取1次和提取2次的提取效率. 结果如图3所示, 提取1次和提取2次的平均回收率分别为84.7%—102%和98.0%—112%, 尤其是表柔比星的提取效率从84.7%提高至98.0%, 故本实验选择1 mL 20%乙腈-0.1%甲酸溶液提取2次为提取方法.

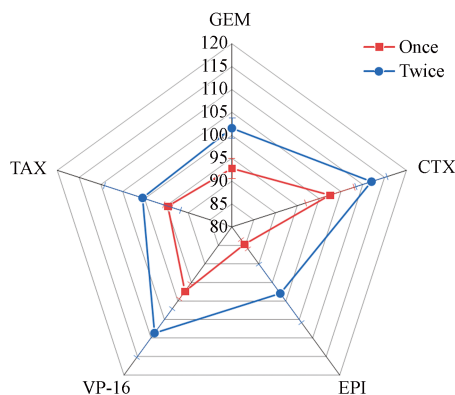


图3 不同提取次数的提取效率

Fig.3 Extraction efficiency of different extraction times

2.5.3 擦拭溶液的选择

评估了几种擦拭溶剂分别在 10 cm×10 cm 的不锈钢、玻璃和 PVC 板上进行擦拭取样的回收率. 用 4000 ng·mL⁻¹ 的标准溶液 50 μL 对 10 cm×10 cm 的不锈钢、玻璃和 PVC 板进行模拟污染, 静置待干过夜, 按照 1.2.1 节进行样品采集和处理, 并计算平均回收率. 结果显示如图 4, 在 20% 乙腈-0.1% 甲酸溶液擦拭在 3 种材质物表对于表柔比星、紫杉醇的回收率均较低, 表柔比星擦拭回收率 18.2%—37.6%, 紫杉醇 13.1%—32.2%. 而增加乙腈比例, 表柔比星、紫杉醇的回收率能够得到改善. 当 80% 乙腈-0.1% 甲酸溶液为擦拭溶液时, 表柔比星和紫杉醇的回收率分别达到 71.3%—92.5% 和 88.1%—114%. 从总体上看, 不锈钢材质上的擦拭回收率较玻璃和 PVC 上低, 5 种药物在玻璃板、PVC 板和不锈钢板上的平均回收率分别为 80.8%—106%、80.7%—108%、70.8%—94.1%, RSD 分别为 4.8%—11.1%、1.4%—5.3%、2.0%—6.8%, 这可能与表面本身粗糙度相关, 有研究表明粗糙度较大的表面回收率较低^[24-25]. 尽管如此, 5 种药物在玻璃板、PVC 板和不锈钢板上的平均回收率均能满足本研究的分析要求. 因此, 选择 80% 乙腈-0.1% 甲酸溶液用于不锈钢、玻璃和 PVC 板表面细胞毒性药物残留擦拭取样.

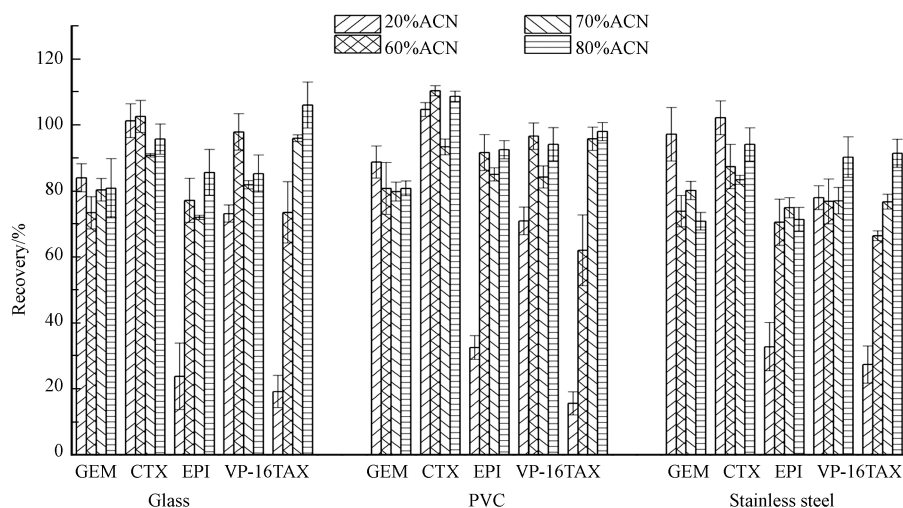


图 4 不同擦拭溶剂对 3 种材质上 5 种药物残留的擦拭回收率

Fig.4 Wiping recovery of five drug residues on three materials with different wiping solvents

2.6 线性范围、检出限和定量限

在最佳的串联质谱条件下, 测定不同浓度的细胞毒性药物混合标准工作液, 以质量浓度为横坐标 (X), 待测物与内标峰面积的比值 (Y) 为纵坐标绘制标准曲线, 结果如表 3 所示, 5 种药物在线性范围内的线性关系良好, R^2 均大于 0.999, 检出限 (LODs) 为 0.2—1 pg·cm⁻², 吉西他滨和环磷酰胺定量限 0.6 pg·cm⁻², 表柔比星和依托泊苷定量限 1.2 pg·cm⁻², 紫杉醇定量限 3.2 pg·cm⁻², 均低于文献报道的定量限, 表明该方法灵敏度高^[11,14].

表 3 5 种细胞毒性药物的线性方程、线性范围、相关系数、检出限与定量限

Table 3 Linear regression equation, R^2 , linear range, detection limit and quantitative limit of 5 cytotoxic drugs

化合物 Compounds	线性回归方程 Regression equation	线性范围/(ng·mL ⁻¹) Linear range	R^2	LOD/(pg·cm ⁻²)	LOQ/(pg·cm ⁻²)
GEM	$y=0.186x+0.00628$	0.1—800	0.9990	0.2	0.6
CTX	$y=0.0475x-0.00165$	0.1—800	0.9996	0.2	0.6
EPI	$y=0.0099x+0.000765$	0.1—200	0.9994	0.4	1.2
VP-16	$y=0.0209x+0.00026$	0.1—200	0.9996	0.4	1.2
TAX	$y=0.00189x+0.0000717$	0.2—200	0.9994	1	3.2

2.7 回收率与精密度

分别在 10 cm×10 cm 不同空白物表 (不锈钢、玻璃和 PVC 板) 上添加 50 μL 200、1000、4000 ng·mL⁻¹

的 3 个水平的混合标准物质, 相当于每种药物添加 10、50、200 ng, 每个浓度分别制备 6 个平行样, 按照“1.2.1”进行样品采集和处理, 计算其平均回收率和相对标准偏差(RSD), 结果见表 4.

表 4 不同材质物表上 5 种细胞毒性药物的回收率及相对标准偏差($n=6$)

Table 4 Recovery and RSD of 5 cytotoxic drugs on different materials surfaces ($n=6$)

	化合物 Compounds	添加10 ng Added		添加50 ng Added		添加200ng Added	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery /%	RSD/%	Recovery /%	RSD/%
玻璃表面 Glass surface	GEM	86.4	4.9	104	4.5	84.9	4.3
	CTX	108	1.9	106	2.7	98.0	2.4
	EPI	98.5	7.1	93.0	4.8	97.0	6.6
	VP-16	102	4.3	97.9	8.3	99.5	6.9
	TAX	105	2.9	99.3	4.2	101	6.6
PVC 表面 PVC surface	GEM	87.7	5.5	89.1	6.4	85.1	1.4
	CTX	107	4.7	98.6	4.0	98.7	3.8
	EPI	97.5	2.2	99.2	0.8	94.0	6.1
	VP-16	96.7	3.1	95.1	0.8	92.1	4.8
	TAX	93.1	13.3	101	6.8	97.6	5.1
不锈钢表面 Stainless steel surface	GEM	89.0	4.7	88.8	6.3	87.2	9.7
	CTX	85.7	4.5	101	1.5	97.9	3.6
	EPI	68.3	3.8	67.1	1.3	69.4	7.7
	VP-16	83.5	2.5	90.3	9.0	89.3	8.4
	TAX	76.0	8.8	87.4	4.8	85.9	11.0

实验结果表明, 在 3 个加标水平下, 5 种药物在玻璃板上的平均回收率为 84.9%—108%, RSD 为 1.9%—8.3%; PVC 板上的平均回收率为 85.1%—107%, RSD 为 0.8%—13.3%; 不锈钢板上的平均回收率为 67.1%—101%, RSD 为 1.3%—11.0%, 本方法的准确度和精密度较好.

2.8 实际样品测定

每日细胞毒性药物配置结束后, 工作人员会对生物安全柜、地面、传递窗等进行清洁消毒. 对清洁后的生物安全柜工作台面、侧壁、玻璃挡板、推车、地面和传递窗等表面按照“1.2.1”进行样品采集处理, 并用本文建立的 UPLC-MS/MS 方法进行细胞毒性药物残留测定. 结果见表 5, 在生物安全柜内的细胞毒性药物的残留量最大, 其中以环磷酰胺残留最严重, 残留量为 34.3—10898.8 $\text{pg}\cdot\text{cm}^{-2}$, 显著高于 MEWIP 研究中的目标污染水平 100 $\text{pg}\cdot\text{cm}^{-2}$ [26]; 其次, 在门把手和配置间推车上发现大量细胞毒性药物残留, 同时在 PIVAS 工作区域其他物体表面、地板等区域亦检测出不同程度的药物残留.

表 5 PIVAS 工作区域 5 种细胞毒性药物残留情况

Table 5 Residues of 5 cytotoxic drugs in PIVAS working area

	残留量/ ($\text{pg}\cdot\text{cm}^{-2}$)				
	Residues				
	GEM	CTX	EPI	VP-16	TAX
准备区桌面 Preparation area -desktop	13.6	34.3	—	1.8	24.8
准备区推车 Preparation area-trolley worktop	69.0	83.0	—	37.8	69.0
准备区地面 Preparation area-floor	9.1	64.7	—	—	66.6
成品复核区桌面 Check area-desktop	48.5	184.5	—	27.4	47.6
配置间推车 Clean room- trolley worktop	339.3	594.3	—	14.9	47.8

续表 5

	残留量/(pg·cm ⁻²)				
	Residues				
	GEM	CTX	EPI	VP-16	TAX
传递窗	95.1	246.4	—	12.8	23.4
Delivery window					
传递窗门把手	443.5	888.6	2.6	87.5	75.6
Delivery window handles					
配置间门把手	443.0	689.9	—	127.5	60.2
Clean room- door handles					
配置间地面	54.3	1463.6	—	24.1	32.7
Clean room-floor					
生物安全柜台面	792.9	6391.9	1.9	292.3	349.0
BSC workbench					
生物安全柜侧壁	1552.7	3545.7	—	375.8	314.2
BSC side wall					
生物安全柜内侧玻璃	1013.4	10898.8	10.8	364.8	404.2
Inside the windscreen of BSC					
生物安全柜外侧玻璃	604.9	2253.2	—	85.1	102.7
Outside the windscreen of BSC					
生物安全柜外沿	819.9	2650.8	1.6	1109.4	503.6
Outer edge of BSC					

注:“—”表示无对应值。Note:“—” Represented no corresponded value

3 结论(Conclusions)

本研究建立了在 PIVAS 环境物体表面中同时检测分析吉西他滨、环磷酰胺、表柔比星、依托泊苷及紫杉醇 5 种细胞毒性药物残留的 UPLC-MS/MS 测定方法。该方法前处理简单,对不同材质表面细胞毒性药物残留检测均具有较好的准确度和精密度,通过内标法检测提高了灵敏度与准确性,为 PIVAS 工作环境细胞毒性药物残留检测提供了新的技术手段,对于进一步促进 PIVAS 工作流程优化和完善工作人员的保护措施,降低职业暴露风险意义重大。

参考文献 (References)

- [1] SKOV T, MAARUP B, OLSEN J, et al. Leukaemia and reproductive outcome among nurses handling antineoplastic drugs [J]. *British Journal of Industrial Medicine*, 1992, 49(12): 855-861.
- [2] FRANSMAN W, ROELEVELD N, PEELEN S, et al. Nurses with dermal exposure to antineoplastic drugs: reproductive outcomes [J]. *Epidemiology*, 2007, 18(1): 112-119.
- [3] SUSPIRO A, PRISTA J. Biomarkers of occupational exposure do anticancer agents: A minireview [J]. *Toxicology Letters*, 2011, 207(1): 42-52.
- [4] National Toxicology Program. NTP 12th Report on Carcinogens[R]. Report on Carcinogens: Carcinogen Profiles, 2011, 12: 499.
- [5] CONNOR TH, LAWSON CC, POLOVICH M, et al. Reproductive health risks associated with occupational exposures to antineoplastic drugs in health care settings: a review of the evidence [J]. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 2014, 56(9): 901-910.
- [6] FRANSMAN W, PEELEN S, HILHORST S, et al. A pooled analysis to study trends in exposure to antineoplastic drugs among nurses [J]. *The Annals of Occupational Hygiene*, 2007, 51(3): 231-239.
- [7] VIEGAS S, OLIVEIRA AC, CAROLINO E, et al. Occupational exposure to cytotoxic drugs: the importance of surface cleaning to prevent or minimise exposure [J]. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 2018, 69(3): 238-249.
- [8] HON C Y, TESCHKE K, CHU W, et al. Antineoplastic drug contamination of surfaces throughout the hospital medication system in Canadian hospitals [J]. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 2013, 10(7): 374-383.
- [9] CONNOR TH, SESSINK PJ, HARRISON BR, et al. Surface contamination of chemotherapy drug vials and evaluation of new vial-cleaning techniques: results of three studies [J]. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2005, 62(5): 475-484.
- [10] MARIE P, CHRISTOPHE C, MANON R, et al. Environmental monitoring by surface sampling for cytotoxics: a review [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2017, 189(2): 52.
- [11] ACRAMEL A, CHOUQUET T, PLÉ A, et al. Development and validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry quantification method for 14 cytotoxic drugs in environmental samples [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2020,

- 34(4): e8594.
- [12] 包健安, 沈国荣, 王人英, 等. 多中心PIVAS集中调配人员抗肿瘤药物职业暴露评估 [J]. *中国医院药学杂志*, 2016, 36(9): 701-706.
BAO J A, SHEN G R, WANG R Y, et al. A multicenter investigation of occupational exposure risks in workers to antineoplastic drugs in pharmacy intravenous admixture services [J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2016, 36(9): 701-706 (in Chinese).
- [13] 胡小刚, 张小华, 陈开杰, 等. 基于生物学指标评估我院PIVAS医务人员职业性接触抗肿瘤药物的风险 [J]. *中国药房*, 2020, 31(18): 2283-2288.
HU X G, ZHANG X H, CHEN K J, et al. Evaluation of the risk of medical staff occupationally exposed to antineoplastic drugs in PIVAS of our hospital based on biological indicators [J]. *China Pharmacy*, 2020, 31(18): 2283-2288 (in Chinese).
- [14] ROSSIGNOL E, AMIAND M B, SORRIEUL J, et al. A fully validated simple new method for environmental monitoring by surface sampling for cytotoxics [J]. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2020, 101: 106652.
- [15] 李芸, 沈国荣, 张晶晶, 等. 我国10家医院静脉药物调配中心抗肿瘤药物环境污染评估及工作人员防护措施效果比较 [J]. *中国医院药学杂志*, 2021, 41(24): 2591-2596.
LI Y, SHEN GR, ZHANG JJ, et al. Antineoplastic drug environmental pollution assessment and outcome comparisons of different staff protective measures in pharmacy intravenous admixture services at ten domestic hospitals [J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2021, 41(24): 2591-2596 (in Chinese).
- [16] 邹东岑, 徐帆. 4种细胞毒性药物对不同材质手套的穿透性研究 [J]. *华西药学杂志*, 2019, 34(5): 475-480.
ZOU D C, XU F. Investigation on 4 cytotoxic drugs penetrating gloves made from different materials [J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2019, 34(5): 475-480 (in Chinese).
- [17] 尹红梅. 某医院静脉用药调配中心工作人员抗肿瘤药物职业暴露评估研究 [J]. *中国当代医药*, 2020, 27(18): 179-182.
YIN H M. Study of occupational exposure risk in workers to anticancer drugs in pharmacy intravenous admixture service of a hospital [J]. *China Modern Medicine*, 2020, 27(18): 179-182 (in Chinese).
- [18] NUSSBAUMER S, GEISER L, SADEGHIPOUR F, et al. Wipe sampling procedure coupled to LC-MS/MS analysis for the simultaneous determination of 10 cytotoxic drugs on different surfaces [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 402(8): 2499-2509.
- [19] TURCI R, SOTTANI C, SPAGNOLI G, et al. Biological and environmental monitoring of hospital personnel exposed to antineoplastic agents: a review of analytical methods [J]. *Journal of Chromatography B*, 2003, 789(2): 169-209.
- [20] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3): 209-249.
- [21] COX J, SPEED V, O'NEAL S, et al. Development and evaluation of a novel product to remove surface contamination of hazardous drugs [J]. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 2017, 23(2): 103-115.
- [22] PORTILHA-CUNHA MF, ALVES A, SANTOS MSF. Cytostatics in indoor environment: an update of analytical methods [J]. *Pharmaceuticals*, 2021, 14(6): 574.
- [23] Occupational Safety and Health Administration (OSHA). Evaluation Guidelines for Surface Sampling Methods; OSHA Salt Lake Technical Center: Salt Lake City, UT, USA, 2001.
- [24] COLOMBO M, JERONIMO M, ASTRAKIANAKIS G, et al. Wipe sampling method and evaluation of environmental variables for assessing surface contamination of 10 antineoplastic drugs by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Annals of Work Exposures and Health*, 2017, 61(8): 1003-1014.
- [25] JERONIMO M, COLOMBO M, ASTRAKIANAKIS G, et al. A surface wipe sampling and LC-MS/MS method for the simultaneous detection of six antineoplastic drugs commonly handled by healthcare workers [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(23): 7083-7092.
- [26] KIFFMEYER T K, TUERK J, HAHN M, et al. Application and assessment of a regular environmental monitoring of the antineoplastic drug contamination level in pharmacies - the MEWIP project [J]. *The Annals of Occupational Hygiene*, 2013, 57(4): 444-455.