

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia

LUCIANA STEIN E SILVA

Contaminação residual em embalagens de medicamentos antineoplásicos

Porto Alegre, 2023

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia

Contaminação residual em embalagens de medicamentos antineoplásicos

Luciana Stein e Silva

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção de título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Edison Capp

Coorientador: Dr. Sandro Luís Ribeiro Ness

Porto Alegre, 2023

CIP - Catalogação na Publicação

Silva, Luciana Stein
Contaminação residual em embalagens de medicamentos
antineoplásicos / Luciana Stein Silva. -- 2023.
58 f.
Orientador: Edison Capp.

Coorientador: Sandro Luis Ribeiro Ness.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e
Obstetrícia, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. exposição ocupacional. 2. antineoplásicos. 3.
CLAE. 4. contaminação. 5. embalagem de medicamentos.
I. Capp, Edison, orient. II. Ness, Sandro Luis
Ribeiro, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu orientador, Prof. Dr. Edison Capp, pela oportunidade, pelas orientações e ensinamentos, auxiliando no meu crescimento profissional.

Ao meu coorientador, farmacêutico Sandro Ness, pelo incentivo, orientação e apoio incansável, em todas etapas do trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia da UFRGS, extensivo a todo corpo docente e funcionários, pelas dúvidas esclarecidas, pelos conhecimentos e experiências transmitidas.

Ao Laboratório de toxicologia da Feevale, em especial prof. Dra. Marina Antunes e a mestranda Laura Cé da Silva por todo auxílio prestado.

Ao Prof. Dr. Hugo Henrique Kegler dos Santos pelo auxílio em estatística.

À minha família, pelo apoio e compreensão constantes em todas etapas da vida.

RESUMO

Introdução: o manuseio de medicamentos antineoplásicos deve seguir cuidados e regras rígidas de segurança com o intuito de reduzir os riscos de exposição ocupacional aos profissionais envolvidos no preparo. A contaminação da superfície externa dos frascos de medicamentos é reconhecida como um risco a saúde.

Objetivo: avaliar a contaminação de frascos e embalagens dos medicamentos antineoplásicos ciclofosfamida e doxorrubicina, através da análise por cromatografia líquida de alta eficiência/espectrometria de massas. **Método:** Estudo transversal. As amostras foram coletadas em papel filtro Whatman umedecido com 1 mL de metanol e mantidas em tubo de ensaio até a análise. As amostras foram preparadas por extração sólido-líquido. Cinco mL de metanol e acetato de etila (1:1, v/v) foram adicionados ao tubo contendo o papel de filtro e homogeneizados em vórtex por 30 minutos à temperatura ambiente. Após centrifugação, 2 mL do sobrenadante foram filtrados para um novo tubo e evaporados a 60°C. O extrato seco foi retomado com 200 µL de água com 0,1% de ácido fórmico e metanol (1:1, v/v). Após a homogeneização, uma alíquota de 10 µL foi injetada no sistema UHPLC-MS/MS.

Resultados: Foi analisado um total de 209 amostras, 66 de ciclofosfamida de um mesmo fabricante e 143 de doxorrubicina de 3 fabricantes diferentes. Os níveis de ciclofosfamida foram detectados em 9 amostras (13,63%), 3 estavam abaixo do limite inferior de quantificação (LLQ) e as outras 6 tinham níveis de contaminação que variavam entre 1,24 e 28,04 ng/filtro. Os níveis de doxorrubicina foram detectados em 36 amostras (25,17%), 2 estavam abaixo do LLQ e as outras tinham níveis entre 1,32 e 664,84 ng/patch. 80% das amostras com contaminação residual eram provenientes de frascos. **Conclusão:** Os resultados revelam a presença de contaminação residual

dos medicamentos ciclofosfamida e doxorrubicina. Embora a quantidade de resíduos encontrados em cada amostra seja pequena, deve-se ter um cuidado especial no manuseio e descarte desses medicamentos. Sugerimos a realização de mais estudos com diferentes metodologias a fim de possibilitar criação de estratégias de prevenção com intuito de minimizar o risco de exposição aos profissionais.

Palavras-chave: Exposição ocupacional, antineoplásicos, CLAE, contaminação, embalagem de medicamentos, ciclofosfamida, doxorrubicina.

ABSTRACT

Introduction: The handling of antineoplastic drugs should follow strict care and safety rules in order to reduce the risks of occupational exposure for the professionals involved in the preparation. Contamination of the external surface of drug vials is recognized as a health risk. **Objective:** To evaluate the contamination of vials and packaging of the antineoplastic drugs cyclophosphamide and doxorubicin, through analysis by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. **Method:** Cross-sectional study. Samples were collected on Whatman filter paper moistened with 1 mL of methanol and kept in a test tube until analysis. Samples were prepared by solid-liquid extraction. Five mL of methanol and ethyl acetate (1:1, v/v) were added to the tube containing the filter paper and homogenized by vortex for 30 minutes at room temperature. After centrifugation, 2 mL of supernatant was filtered to a new tube and evaporated at 60 °C. The dried extract was recovered with 200 µL of water with 0.1% formic acid and methanol (1:1, v/v). After homogenization, a 10 µL aliquot was injected on UHPLC-MS/MS system. **Results:** A total of 209 samples were analyzed, 66 of cyclophosphamide from the same manufacturer and 143 of doxorubicin from 3 different manufacturers. Cyclophosphamide levels were detected in 9 samples (13.63%), 3 were below the lower limit of quantification (LLQ) and the other 6 had contamination levels ranging from 1.24 to 28.04 ng/patch. Doxorubicin levels were detected in 36 samples (25.17%), 2 were below the LLQ and the others had levels between 1.32 and 664.84 ng/patch. 80% of the samples with residual contamination were from vials. **Conclusion:** The results reveal the presence of residual contamination of the drugs cyclophosphamide and doxorubicin. Although the amount of residues found in each sample is small, special care should be taken in the handling and disposal of these drugs. We suggest that further studies with different methodologies be carried out in order to enable the creation of prevention strategies to minimize the risk of exposure for professionals.

Keywords: Occupational exposure, antineoplastic drugs, HPLC, contamination, drug packaging, cyclophosphamide, doxorubicin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos e locais de ação de alguns agentes quimioterápicos empregados na terapia antineoplásica (CHABNER, 2012).....	19
Figura 2. Cabine de Segurança Biológica Classe II B2 (TAYLOR, 2019).	27
Figura 3. Modelo de macacão.	28
Figura 4. Modelo de máscaras.	28

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CBS – Cabine de Segurança Biológica

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EPC – Equipamento de proteção coletiva

EPI – Equipamento de proteção individual

HEPA – High Efficiency Particulate Air

HPLC/UV – High Pressure Liquid Chromatography Ultraviolet

INCA – Instituto Nacional de Câncer

LOD – Limite de detecção

LOQ – Limite de quantificação

MS – Ministério da Saúde

NIOSH – National Institute for Occupational Safety and Health

RNA – Ácido ribonucleico

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
REVISÃO SISTEMATIZADA DA LITERATURA.....	14
ESTRATÉGIA PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES	14
MAPA CONCEITUAL.....	16
TERAPIA ANTINEOPLÁSICA	17
DOXORRUBICINA.....	20
CICLOFOSFAMIDA	21
MANIPULAÇÃO DE ANTINEOPLÁSICOS	22
EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO COLETIVA (EPC).....	26
EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL (EPI).....	27
RISCOS ASSOCIADOS À EXPOSIÇÃO A ANTINEOPLÁSICOS.....	28
MÉTODOS ANALÍTICOS DE MONITORAMENTO AMBIENTAL	29
JUSTIFICATIVA.....	32
HIPÓTESES.....	32
OBJETIVOS	33
OBJETIVO GERAL	33
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
REFERÊNCIAS.....	33
ARTIGO EM INGLÊS	41
CONSIDERAÇÕES FINAIS	59

INTRODUÇÃO

Os efeitos tóxicos dos medicamentos quimioterápicos usados no tratamento do câncer são bem conhecidos desde a sua introdução na década de 1940. Além das preocupações com a segurança do paciente decorrentes do uso desses medicamentos, os riscos ocupacionais em profissionais de saúde que manipulam esses medicamentos precisam ainda ser totalmente avaliados (1).

Há diversas opções de drogas antineoplásicas utilizadas no tratamento do câncer, e mesmo em concentrações muito baixas, podem produzir eventos adversos em pacientes e em profissionais de saúde que manipulam, ou estão em contato com estes medicamentos. A exposição a estas drogas durante a gravidez pode causar anomalias congênitas, abortos, natimortos e baixo peso ao nascer, e pode também diminuir a fertilidade em mulheres. Distúrbios do sistema nervoso central são os eventos adversos agudos mais frequentes relatados pelos profissionais de saúde expostos a estes medicamentos (2–4).

A Adriamicina/Doxorrubicina pertence a classe das drogas antraciclina, enquanto a Ciclofosfamida pertence à classe dos agentes alquilantes. Estas drogas têm efeito citotóxico semelhante, pois interferem na síntese do DNA das células, não apenas as células tumorais, mas também as células normais, especialmente aquelas que se dividem rapidamente, como as da medula óssea, epitélio gastrointestinal, pele, folículo piloso, epitélio germinativo das gônadas e as estruturas embrionárias (5,6).

O Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (7) (NIOSH) divulgou uma lista atualizada de medicamentos perigosos e estimou que milhões de

profissionais de saúde - aqueles que preparam e administram esses medicamentos em pacientes com câncer - correm o risco de exposição a esses medicamentos perigosos no local de trabalho.

A administração intravenosa de drogas antineoplásicas é uma opção terapêutica altamente eficaz em muitas doenças cancerígenas. No entanto, está bem documentado que a exposição a drogas antineoplásicas, mesmo em pequenas quantidades, pode desenvolver efeitos nocivos à saúde de pessoas expostas a estas drogas, como funcionários de hospitais e farmácias, devido ao potencial cancerígeno, teratogênicos e genotóxicos em seres humanos (7).

Alguns estudos confirmaram uma contaminação contínua nas superfícies do local de trabalho em hospital, aumentando a preocupação de que a exposição ainda esteja presente (8–11). Os profissionais de saúde das unidades de oncologia continuam expostos a uma variedade de drogas antineoplásicas durante suas tarefas diárias de administração de quimioterapia e atendimento ao paciente. A contaminação pode ocorrer durante diversas etapas, no recebimento do medicamento, no armazenamento, no preparo, na administração e no descarte dos resíduos (12)

Várias diretrizes nacionais e internacionais sobre manuseio seguro de medicamentos perigosos foram implementadas para minimizar o risco de exposição ocupacional (13–15).

Estudos publicados recentemente (16,17) relataram que as diretrizes de manuseio seguro não eram seguidas de maneira consistente, geralmente devido à pressão do tempo ou à falta de conhecimento dos riscos à saúde. Os estudos

confirmaram esses resultados detectando resíduos de drogas antineoplásicas, seus metabólitos ou marcadores de toxicidade na urina dos profissionais de saúde (18–20). Presume-se que a absorção dérmica seja a principal via de absorção (21), direta ou indiretamente, através do contato com superfícies contaminadas ou com excreções/fluidos corporais do paciente.

Levando-se em consideração a alta relevância deste tema, o objetivo deste trabalho foi avaliar a contaminação residual de frascos e embalagens de medicamentos antineoplásicos, doxorrubicina e ciclofosfamida. Foram realizadas coletas de amostras dos frascos intactos e das embalagens dos medicamentos. Os resultados dessa avaliação podem servir como base para estratégias de prevenção e monitoramento da eficácia das medidas de segurança dentro dos atendimentos aos pacientes oncológicos.

REVISÃO SISTEMATIZADA DA LITERATURA

ESTRATÉGIA PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES

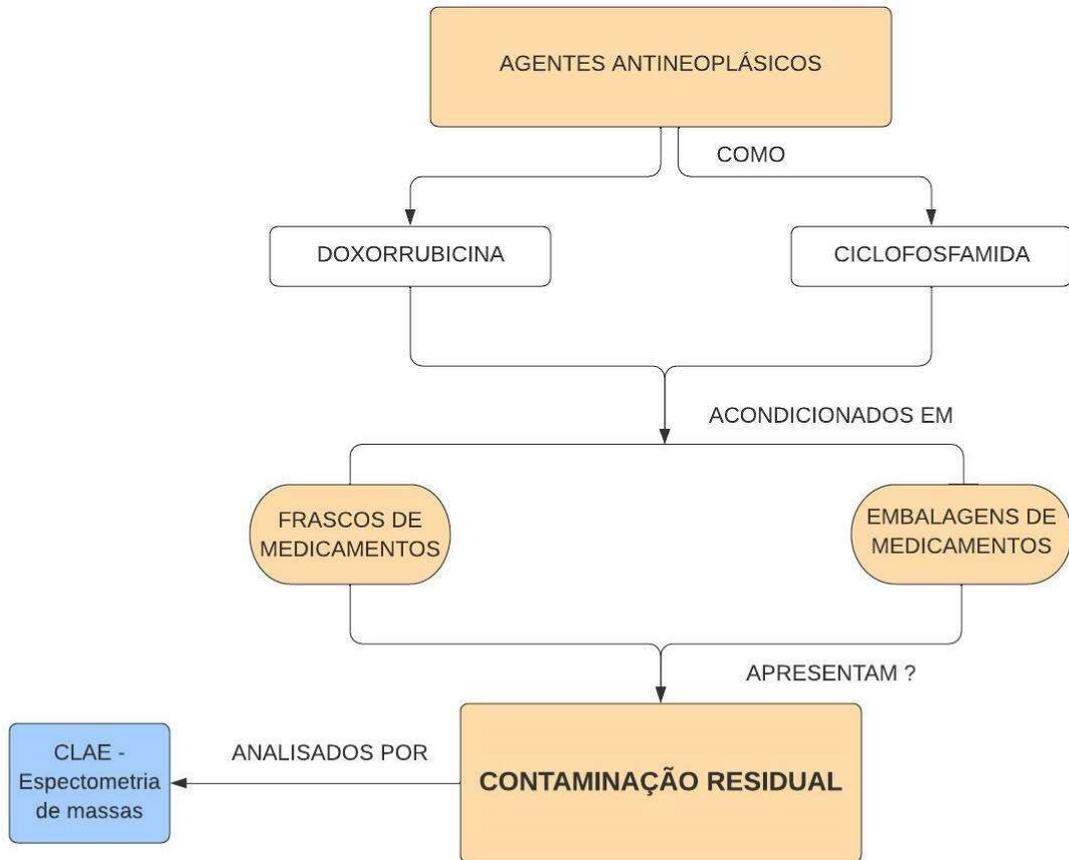
Esta revisão da literatura está focada nos aspectos relacionados ao estudo da exposição ocupacional aos farmacêuticos da oncologia a drogas antineoplásicas, referente à manipulação de doxorubicina e ciclofosfamida.

A estratégia de busca envolveu as seguintes bases de dados: LILACS, SciELO, PubMed e periódicos da CAPES, sem limite de tempo. Foram realizadas buscas através dos termos “exposição ocupacional”, “antineoplásicos”, “CLAE”, “contaminação”, “embalagem de medicamentos” “ciclofosfamida”, “doxorubicina” e suas combinações. Após análise dos títulos e resumo foram selecionados os artigos para serem lidos na íntegra. Os resultados das buscas são sumarizados na tabela 1.

Tabela 1: Estratégia de busca de referências bibliográficas.

Palavras-chave	PubMed	SciELO	LILACS	CAPES
Cyclophosphamide	73.932	523	864	141.844
Doxorubicin	73.078	195	392	161.364
Antineoplastic Agents	1572	0	19	1299
AND Occupational Exposure				
Antineoplastic Agents AND Occupational Exposure AND doxorubicin	59	0	0	241
Antineoplastic Agents AND Occupational Exposure AND Cyclophosphamide	220	0	3	468
Antineoplastic Agents	309	0	1	231
AND contamination AND Chromatography, High Pressure Liquid				
Antineoplastic Agents	73	0	0	136
AND contamination AND Drug Packaging				

Foram incluídos 42 artigos de acordo com os critérios de inclusão, tendo agentes antineoplásicos, contaminação ambiental e pessoal como fator principal. Nas referências há artigos retirados diretamente de revistas, livros, portarias e resoluções.

MAPA CONCEITUAL

Terapia antineoplásica

A quimioterapia antineoplásica consiste na utilização de agentes químicos, isolados ou em combinação, com o objetivo de tratar tumores malignos. Os fármacos atuam em nível celular interferindo no processo de crescimento e divisão (22).

A quimioterapia utiliza substâncias químicas que atuam nas células da mitose, e agentes antimitóticos visam destruir células cancerígenas. Drogas citotóxicas não são seletivas para células malignas e atuam na proliferação rápida de células anormais ou saudáveis, como medula óssea, epitélio gastrointestinal e germinal e folículos capilares. Além disso, os antineoplásicos demonstraram ser cancerígenos e/ou têm efeitos mutagênicos e teratogênicos em seres humanos (23,24).

Os antineoplásicos possuem efeitos citotóxicos e geralmente são mediados por meio da ligação a alvos celulares envolvidos na síntese de DNA e proteína, produzindo uma variedade de efeitos potenciais em células normais e cancerosas, incluindo morte celular; mutação; danos ao DNA que podem ser reparados, reparados incorretamente ou não reparados; e transformação celular (25,26).

Embora exista alguma variação na definição de drogas perigosas, o Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH) descreve drogas perigosas como aquelas com potencial para causar um ou mais dos seguintes fatores: carcinogenicidade (indução de câncer), teratogenicidade (causando defeitos de nascimento), toxicidade no desenvolvimento (com impacto adverso no desenvolvimento), toxicidade reprodutiva (interferindo na reprodução normal),

toxicidade a órgãos a baixas doses ou genotoxicidade (causando mutações, ou seja, alterações na estrutura genética) (7).

Os vários tipos de drogas perigosas incluem drogas alquilantes (por exemplo, ciclofosfamida, clorambucil), antraciclinas e outros antibióticos citotóxicos (por exemplo, daunorrubicina, doxorrubicina), antimetabólitos (por exemplo, metotrexato, fluorouracil, gencitabina), alcaloides da vinca e etoposídeo (por exemplo, vimblastina, vincristina). O mecanismo de ação varia entre diferentes tipos de drogas citotóxicas. Em geral, drogas citotóxicas interferem na replicação celular, danificando o DNA ou impedindo a divisão celular normal (27). A figura 1 mostra os alvos celulares de alguns fármacos utilizados no tratamento do câncer (28).

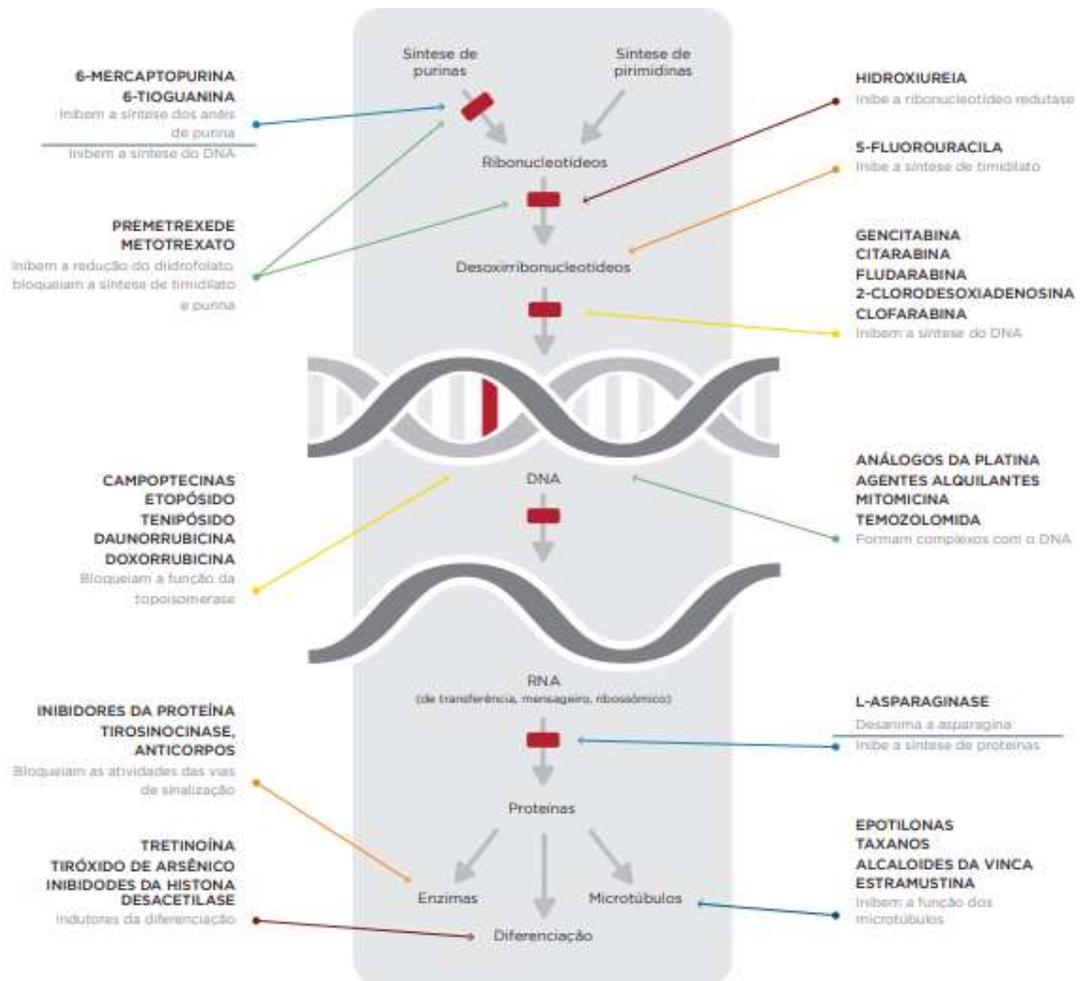


Figura 1. Mecanismos e locais de ação de alguns agentes quimioterápicos empregados na terapia antineoplásica (CHABNER, 2012).

O tratamento do câncer envolve várias terapias combinadas, nas quais a AC (Adriamicina/Doxorrubicina e Ciclofosfamida) é uma das terapias mais frequentes prescritas pelos médicos. A Adriamicina/Doxorrubicina pertence a classe das antraciclinas, enquanto a Ciclofosfamida pertence à classe dos agentes alquilantes. Ambas as drogas têm efeito citotóxico semelhante, pois interferem na síntese do DNA

das células, não apenas as células tumorais, mas também as células normais, especialmente aquelas que se dividem rapidamente e, portanto, afetam os órgãos com rápida divisão celular (5).

Doxorrubicina

A Doxorrubicina, 14-hidroxi-daunomicina (DOX), simultaneamente chamado Adriamicina, é um antibiótico citotóxico antraciclina obtido da cepa bacteriana *Streptomyces* (29). Devido ao seu amplo espectro de ação antineoplásica, a doxorrubicina é atualmente usada no tratamento de leucemia aguda, linfoma de Hodgkin e linfoma não-Hodgkin, sarcomas de tecidos moles (incluindo rabdomyossarcoma), neuroblastoma, tumor de Wilms, carcinoma de mama, hepatocarcinoma, carcinoma ovariano e muitos outros (30–32). Apesar de seu amplo uso clínico, o mecanismo de ação das antraciclinas não é totalmente explicado e permanece incerto.

No entanto, existem vários mecanismos sugeridos pelos quais a doxorrubicina causa a morte de células tumorais. Alguns deles incluem a intercalação ou alquilação do DNA e interrupção do reparo do DNA via topoisomerase II. Isso leva a inibição da síntese de DNA e RNA. Outra maneira é a formação de radicais livres, que podem reagir com a membrana celular e danificar sua função. As toxicidades potenciais das antraciclinas incluem cardiotoxicidade, mielossupressão (que resulta em um número

reduzido de células sanguíneas) e malignidades secundárias (predominantemente tipos de câncer hematológico) (33).

Ciclofosfamida

A Ciclofosfamida é um fármaco citostático alquilante, sintetizada em 1958 e é um dos os medicamentos antitumorais e imunossupressores mais populares da medicina (34). É um pró-fármaco metabolizado após ativação pelas enzimas microsossomais hepáticas nos metabólitos citotóxicos, mostarda fosforamida e acroleína, formando ligações cruzadas com DNA das células tumorais levando à a célula à morte. É utilizada para tratamento de diversas neoplasias (linfomas, neuroblastoma, leucemias, câncer de mama, pulmão, ovário, testículo, endométrio, bexiga, entre outros). Disponível em duas apresentações farmacêuticas, injetável (frasco ampola contendo pó liofilizado de cor branca), e oral (drágeas de cor branca) (22).

Algumas reações adversas que podem ser causadas pela ciclofosfamida: mielosupressão (leucopenia, trombocitopenia, anemia), náuseas e vômitos, cistite, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, complicações cardiovasculares, incluindo bradicardia sinusal, pericardite, miocardite e falência cardíaca (22).

Manipulação de antineoplásicos

O risco de exposição aos agentes antineoplásicos ocorre em diversos momentos, desde o preparo, administração, descarte dos quimioterápicos, e contato com fluídos corpóreos (urina, fezes, vômito). A contaminação pode ocorrer por inalação, contato com a pele e mucosas (22).

Na década de 1980, foram definidas normas que garantissem o manuseio seguro dos agentes antineoplásicos, essas normativas especificavam que estes medicamentos deveriam ser preparados em uma farmácia especializada, com uma sala de preparo equipada com uma cabine de segurança biológica para minimizar riscos de exposição citotóxica (35).

Em 2004 foi publicado pela ANVISA, o regulamento técnico de funcionamento dos serviços de terapia antineoplásica através da resolução de número 220/04, contribuindo para a qualidade e a segurança no preparo de agentes antineoplásicos. De acordo com este regulamento a manipulação de antineoplásicos deve seguir critérios rígidos de utilização de equipamentos de proteção coletiva (cabine de segurança biológica) e individual (36).

O Instituto Nacional de Câncer (INCA), do Ministério da Saúde do Brasil (MS), elaborou em 2015 um manual de boas práticas para a manipulação segura de medicamentos antineoplásicos na central de quimioterapia, destacando aspectos importantes, como descritas no Quadro 1 (37).

Quadro 1. Principais medidas para o manuseio seguro de medicamentos antineoplásicos.

1. Normas de segurança relacionadas ao preparo e administração dos quimioterápicos:

- É obrigatório que o profissional utilize EPI (luvas de látex ou prolipropileno, descartáveis e sem talco; aventais descartáveis, com mangas longas, fechados na parte frontal, punhos com elásticos e com baixa permeabilidade; máscaras com proteção de carvão ativado, que age como filtro químico; óculos de proteção, que impeça a contaminação frontal e lateral de partículas, sem reduzir o campo visual);
- É obrigatória a utilização de capela de fluxo laminar no preparo dos antineoplásicos, aparelhos considerados mais seguros são os verticais de classe II, tipo B, ou classe III;
- Para o preparo e administração dos quimioterápicos, deve-se ter uma área física adequada com as seguintes estruturas: apoio administrativo, recepção, armazenamento de medicamentos e materiais, limpeza e higienização de insumos, paramentação, sala independente para manipulação de quimioterápicos e armazenamento de resíduos. Os ambientes de apoio são constituídos por: área para registro e espera de pacientes, sala de utilidades, sanitário de pacientes, depósito de material de limpeza, sala administrativa, copa e área para guarda de macas e cadeiras de rodas;
- É de competência do farmacêutico o preparo das drogas antineoplásicas e do enfermeiro a administração destes medicamentos;
- Não é recomendada a utilização de adornos e maquiagens em virtude da fixação de aerossóis e partículas de quimioterápicos;
- Lavar as mãos rigorosamente antes e após a colocação das luvas;
- Acondicionar frascos e seringas, com os quimioterápicos a serem administrados, em saco plástico fechado;
- Utilizar equipos, seringas e conectores, preferencialmente luer lock;
- Manter uma gaze próxima às conexões para coleta de eventuais vazamentos, em especial no momento de introdução e retirada de equipos ou conectores;
- Não retirar o ar de seringas e equipos: eles devem vir prontos para aplicação;
- Observar todas as conexões, respiros etc. para detectar vazamentos.

Quadro 1. Principais medidas para o manuseio seguro de medicamentos antineoplásicos (continuação).

2. Normas de segurança relacionadas ao preparo e administração dos quimioterápicos:

- É obrigatório que o profissional utilize EPI (luvas de látex ou prolipropileno, descartáveis e sem talco; aventais descartáveis, com mangas longas, fechados na parte frontal, punhos com elásticos e com baixa permeabilidade; máscaras com proteção de carvão ativado, que age como filtro químico; óculos de proteção, que impeça a contaminação frontal e lateral de partículas, sem reduzir o campo visual);
- É obrigatória a utilização de capela de fluxo laminar no preparo dos antineoplásicos, aparelhos considerados mais seguros são os verticais de classe II, tipo B, ou classe III;
- Para o preparo e administração dos quimioterápicos, deve-se ter uma área física adequada com as seguintes estruturas: apoio administrativo, recepção, armazenamento de medicamentos e materiais, limpeza e higienização de insumos, paramentação, sala independente para manipulação de quimioterápicos e armazenamento de resíduos. Os ambientes de apoio são constituídos por: área para registro e espera de pacientes, sala de utilidades, sanitário de pacientes, depósito de material de limpeza, sala administrativa, copa e área para guarda de macas e cadeiras de rodas;
- É de competência do farmacêutico o preparo das drogas antineoplásicas e do enfermeiro a administração destes medicamentos;
- Não é recomendada a utilização de adornos e maquiagens em virtude da fixação de aerossóis e partículas de quimioterápicos;
- Lavar as mãos rigorosamente antes e após a colocação das luvas;
- Acondicionar frascos e seringas, com os quimioterápicos a serem administrados, em saco plástico fechado;
- Utilizar equipos, seringas e conectores, preferencialmente luer lock;
- Manter uma gaze próxima às conexões para coleta de eventuais vazamentos, em especial no momento de introdução e retirada de equipos ou conectores;
- Não retirar o ar de seringas e equipos: eles devem vir prontos para aplicação;
- Observar todas as conexões, respiros etc. para detectar vazamentos.

Quadro 1. Principais medidas para o manuseio seguro de medicamentos antineoplásicos (continuação).

3. Normas de segurança relacionadas a contaminação ambiental e pessoal:

- Utilizar EPI no manuseio de excretas e fluidos corpóreos dos pacientes;
- Quando houver manuseio de excretas dos pacientes que receberam terapia antineoplásica nas últimas 48 horas, os funcionários devem vestir aventais e luvas de procedimentos;
- O vestuário deve ser removido imediatamente quando houver contaminação;
- As áreas da pele atingidas devem ser lavadas com água e sabão;
- Quando ocorrer a contaminação dos olhos ou outras mucosas, lavar com água ou solução isotônica em abundância, providenciar acompanhamento médico;
- O responsável pela descontaminação deve paramentar-se antes de iniciar o procedimento;
- A área do derramamento, após identificação e restrição de acesso, deve ser limitada com compressas absorventes;
- Descartar agulhas e seringas em recipientes apropriados;
- Manusear roupa de cama, camisolas e pijamas contaminados com luva de procedimento;
- Descartar frascos de soro e equipos em saco plástico fechado, depositado em lixo e devidamente identificado como resíduo químico.

4. Normas de segurança relacionadas aos profissionais:

- Submeter periodicamente à avaliação médica, realizando exames laboratoriais e de imagem, seguidos de registro em prontuário;
- Afastar mulheres grávidas ou em período de amamentação das atividades profissionais relacionadas à administração de quimioterápicos;
- Manter fichas de registro para acompanhamento de acidentes profissionais, com registros completos e precisos;
- Supervisionar o cumprimento das normas de segurança;
- Limitar o número de profissionais que a manipulam e fazer rodízio entre as pessoas envolvidas no preparo e na administração;
- Os profissionais devem receber treinamento inicial e permanente, garantindo a sua capacitação e atualização profissional.

Equipamentos de Proteção Coletiva (EPC)

A preparação dos medicamentos antineoplásicos deve ser feita em Cabine de Segurança Biológica (CSB) Classe II B2, assegurando proteção ao operador, ao produto e ao meio ambiente. A Cabine promove total exaustão externa através do filtro HEPA (*High Efficiency Particulate Air Filter*) com capacidade de reter até 0,3 microns com 99,97% de eficácia. A cabine deve ser validada com periodicidade semestral ou sempre que houver reparos, por profissional treinado e capacitado (22).

Cabines de segurança biológica classe II fornecem 3 níveis de proteção - para o manipulador, para as preparações estéreis manipuladas dentro da cabine, e para o ambiente. Existem 2 tipos comuns de cabine classe II: uma de recirculação (e reutilização) parcial do ar (A2) e a outra sem recirculação de ar, ou seja 100% do ar que circula dentro do aparelho é renovado constantemente (B2). Na cabine classe II B2, o ar ambiente entra por um motor localizado próximo ao topo da cabine e é empurrado e filtrado através do filtro HEPA para área de trabalho. O ar contaminado é filtrado através de outro filtro HEPA e é imediatamente expelido através de um duto exclusivo (Figura 2). Este equipamento trabalha em pressão negativa impedindo a saída do ar contaminado para o ambiente. (38).

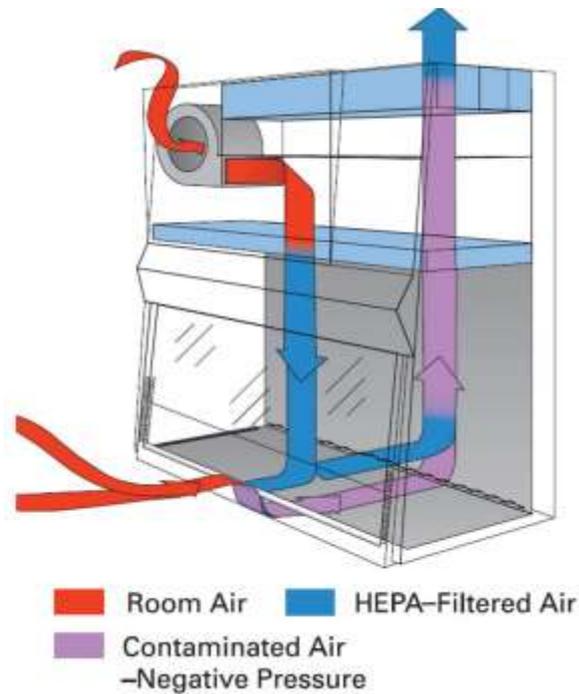


Figura 2. Cabine de Segurança Biológica Classe II B2 (TAYLOR, 2019).

Equipamentos de Proteção Individual (EPI)

Os EPI's são de extrema importância para a segurança dos profissionais responsáveis pela manipulação de medicamentos antineoplásicos. É obrigatório a utilização de luvas (de látex, tipo cirúrgica, com punho longo, sem talco e estéreis) avental longo ou macacão (com baixa liberação de partículas, impermeável, frente fechada, com mangas longas e punho elástico), óculos de proteção e máscaras (com proteção de carvão ativado) (22,39).



Figura 3. Modelo de macacão.



Figura 4. Modelo de máscaras.

Riscos associados à exposição a antineoplásicos

Farmacêuticos que preparam esses medicamentos e enfermeiros que administram são os dois grupos ocupacionais que têm a maior exposição potencial a agentes antineoplásicos. Além disso, médicos e recepcionistas também podem ser expostos através do contato com pacientes. Esses medicamentos podem ser absorvidos pela inalação de aerossóis formados e dispersos no local de trabalho ou pelo contato direto com a pele (40–42). A absorção dérmica tem sido sugerida como a forma mais provável de exposição a drogas antineoplásicas no ambiente de saúde (43).

Fuchs e colaboradores (1995) desenvolveram um estudo na Alemanha com 91 enfermeiros provenientes de quatro hospitais, que foram submetidas a exames de sangue para detecção de alterações cromossômicas. Dez enfermeiras que manipulavam quimioterapia sem medidas de proteção (capela, luvas ou mesmo máscara) apresentaram alterações cromossômicas 50% maiores que o grupo-controle. Cabe ressaltar que o estudo não observou diferença no nível dessas alterações entre o grupo que manipulava quimioterapia com proteção e o grupo que não manipulava quimioterapia (44).

O contato com medicamentos citotóxicos pode causar risco genotóxico, modificações na sequência nucleotídica ou da estrutura em dupla hélice do DNA, aos trabalhadores da saúde expostos a essas substâncias, não é possível estabelecer uma relação dose-efeito, mas a exposição aos trabalhadores, mesmo em doses baixas, representa um risco. Portanto, é difícil definir um nível de exposição que possa ser considerado seguro para os seres humanos (23,45).

Métodos analíticos de monitoramento ambiental

Existem diversos métodos para avaliar o monitoramento ambiental e a exposição dos trabalhadores às drogas citotóxicas. O método mais sensível para identificar e quantificar a presença de resíduos nas superfícies dos medicamentos antineoplásicos é através da amostragem pela técnica de limpeza (*wipe test*) (46,47). Métodos analíticos confiáveis e validados são necessários para garantir o manuseio

seguro dos medicamentos antineoplásicos reduzindo a exposição dos profissionais de saúde.

Um estudo piloto avaliou a contaminação das superfícies externas dos frascos de ciclofosfamida, de dois fabricantes disponíveis no mercado canadense, analisado através da cromatografia líquida de alta eficiência/espectrometria de massa. Foi observado que 9 de 10 frascos de um fabricante e 4 de 10 frascos do outro fabricante apresentaram traços de ciclofosfamida. Na segunda fase do estudo, demonstram que a limpeza dos frascos com água diminuiu a contaminação dos frascos. Na terceira fase do estudo, avaliaram 3 técnicas de limpeza nos frascos intencionalmente contaminados, demonstrando diferentes níveis de detecção de resíduos. Isto sugere que a limpeza de frascos possa ajudar a reduzir o risco de exposição ocupacional, e que mais estudos devem ser realizados para estabelecer diretrizes e procedimentos de descontaminação das superfícies dos frascos de medicamentos (12).

Em um outro estudo, foram avaliadas as contaminações externas e a contaminação cruzada por drogas citotóxicas na superfície de 133 frascos de fabricantes e laboratórios diferentes. Os frascos testados continham diversos quimioterápicos dentre eles, a doxorrubicina e ciclofosfamida. A contaminação externa por drogas citotóxicas foi detectada em 63% dos frascos testados. A contaminação química na tampa dos frascos foi detectada em 38%. Nenhuma contaminação ou níveis muito baixos de drogas citotóxicas, foram detectados nos frascos protegidos pelo envoltório plástico (48).

Ness e colaboradores (2016), analisaram a contaminação das superfícies de trabalho com gencitabina após preparação em sistema fechado versus técnicas de agulha padrão, usando cromatografia líquida de alta eficiência com ultravioleta (CLAE-UV). Das 303 amostras coletadas, 31 foram obtidas de frascos intactos, enquanto 272 foram usadas para comparar os níveis de contaminação com gencitabina após preparação convencional versus sistema fechado. Um total de 16,1% dos frascos intactos removidos da embalagem original apresentava resíduos de quimioterápicos. O método utilizado no estudo foi eficaz na detecção da gencitabina nos dispositivos e equipamentos de proteção individual envolvidos na manipulação da droga (49).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é um método adequado, validado e sensível para avaliar a contaminação de medicamentos citotóxicos nas superfícies (50). A cromatografia líquida de alta eficiência acoplada espectrometria de massas pode ser utilizada para monitorar uma ampla variedade de drogas quimioterápicas, fornece alta sensibilidade e especificidade (como limites de detecção de baixo ng/ml) mesmo em matrizes de amostras complexas (51,52).

Um método baseado em Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE) foi desenvolvido e validado para testar a presença em superfície com cinco fármacos citotóxicos, amplamente utilizado na prática clínica, a Ciclofosfamida, Metotrexato, Fluorouracil, Ifosfamida e Doxorubicina. Esse método é confiável, preciso e linear na variação avaliada e forneceu capacidade para detectar cinco diferentes agentes, simultaneamente. A validação desse estudo avaliou os seguintes parâmetros:

potência, linearidade, baixo limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), precisão e estabilidade (23).

JUSTIFICATIVA

O manuseio dos medicamentos antineoplásicos deve seguir cuidados e regras rígidas de segurança, para minimizar os riscos de exposição ocupacional aos profissionais envolvidos. A contaminação da superfície externa dos frascos de medicamentos é reconhecida como um risco à saúde. A identificação de potenciais fontes de contaminação torna-se importante para adequação de medidas de proteção e um monitoramento eficaz.

HIPÓTESES

Hipótese nula (H0)

Não existe contaminação residual em frascos e embalagens de medicamentos ciclofosfamida e doxorrubicina.

Hipótese alternativa (H1)

Existe contaminação residual em frascos e embalagens dos medicamentos ciclofosfamida e doxorrubicina.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a contaminação residual de frascos e embalagens dos medicamentos antineoplásicos ciclofosfamida e doxorrubicina, através da análise por cromatografia líquida de alta eficiência/espectrometria de massas.

Objetivos específicos

Comparar se há diferença nos níveis de contaminação entre as diferentes marcas utilizadas, as embalagens (frasco ou caixa), forma farmacêutica (pó ou líquido), e frasco protegidos por plástico.

REFERÊNCIAS

1. Lawson CC, Rocheleau CM, Whelan EA, Lividoti Hibert EN, Grajewski B, Spiegelman D, et al. Occupational exposures among nurses and risk of spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol.* abril de 2012;206(4):327.e1-8.
2. Alehashem M, Baniasadi S. Important exposure controls for protection against antineoplastic agents: Highlights for oncology health care workers. *Work Read Mass.* 2018;59(1):165–72.
3. Connor TH, Lawson CC, Polovich M, McDiarmid MA. Reproductive health risks associated with occupational exposures to antineoplastic drugs in health care settings: a review of the evidence. *J Occup Environ Med.* setembro de 2014;56(9):901–10.

4. Sugiura S, Gohma H, Hamajima N. [Measures of preventing occupational exposure to hazardous drugs-based on new insights]. *Gan To Kagaku Ryoho*. agosto de 2014;41(8):923–5.
5. Partridge AH, Burstein HJ, Winer EP. Side effects of chemotherapy and combined chemohormonal therapy in women with early-stage breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2001;(30):135–42.
6. Gomes MJVM, Reis AMM. Ciências farmacêuticas. Uma abordagem em farmácia hospitalar. São Paulo: Atheneu; 2001. 431 p.
7. NIOSH List of Antineoplastic and Other Hazardous Drugs in Healthcare Settings, 2016. :42.
8. Janes A, Tanguay C, Caron NJ, Bussi eres JF. Environmental Contamination with Cyclophosphamide, Ifosfamide, and Methotrexate: A Study of 51 Canadian Centres. *Can J Hosp Pharm*. agosto de 2015;68(4):279–89.
9. Kibby T. A review of surface wipe sampling compared to biologic monitoring for occupational exposure to antineoplastic drugs. *J Occup Environ Hyg*. 2017;14(3):159–74.
10. Kopp B, Schierl R, Nowak D. Evaluation of working practices and surface contamination with antineoplastic drugs in outpatient oncology health care settings. *Int Arch Occup Environ Health*. janeiro de 2013;86(1):47–55.
11. Martín Lancharro P, De Castro-Acu a Iglesias N, González-Barcala FJ, Moure González JD. Evidence of exposure to cytostatic drugs in healthcare staff: a review of recent literature. *Farm Hosp Organo Of Expresion Cient Soc Espanola Farm Hosp*. 1  de novembro de 2016;40(n06):604–21.

12. Touzin K, Bussi eres JF, Langlois E, Lefebvre M, Gallant C. Cyclophosphamide contamination observed on the external surfaces of drug vials and the efficacy of cleaning on vial contamination. *Ann Occup Hyg.* novembro de 2008;52(8):765–71.
13. Connor TH, McDiarmid MA. Preventing occupational exposures to antineoplastic drugs in health care settings. *CA Cancer J Clin.* dezembro de 2006;56(6):354–65.
14. Easty AC, Coakley N, Cheng R, Cividino M, Savage P, Tozer R, et al. Safe handling of cytotoxics: guideline recommendations. *Curr Oncol Tor Ont.* fevereiro de 2015;22(1):e27-37.
15. International Society of Oncology Pharmacy Practitioners Standards Committee. ISOPP standards of practice. Safe handling of cytotoxics. *J Oncol Pharm Pract Off Publ Int Soc Oncol Pharm Pract.* 2007;13 Suppl:1–81.
16. Boiano JM, Steege AL, Sweeney MH. Adherence to safe handling guidelines by health care workers who administer antineoplastic drugs. *J Occup Environ Hyg.* 2014;11(11):728–40.
17. Hon CY, Teschke K, Shen H. Health Care Workers' Knowledge, Perceptions, and Behaviors Regarding Antineoplastic Drugs: Survey From British Columbia, Canada. *J Occup Environ Hyg.* 2015;12(10):669–77.
18. Hon CY, Teschke K, Shen H, Demers PA, Venners S. Antineoplastic drug contamination in the urine of Canadian healthcare workers. *Int Arch Occup Environ Health.* outubro de 2015;88(7):933–41.
19. McDiarmid MA, Oliver MS, Roth TS, Rogers B, Escalante C. Chromosome 5 and 7 abnormalities in oncology personnel handling anticancer drugs. *J Occup Environ Med.* outubro de 2010;52(10):1028–34.

20. Moretti M, Grollino MG, Pavanello S, Bonfiglioli R, Villarini M, Appolloni M, et al. Micronuclei and chromosome aberrations in subjects occupationally exposed to antineoplastic drugs: a multicentric approach. *Int Arch Occup Environ Health*. agosto de 2015;88(6):683–95.
21. Fransman W, Vermeulen R, Kromhout H. Dermal exposure to cyclophosphamide in hospitals during preparation, nursing and cleaning activities. *Int Arch Occup Environ Health*. junho de 2005;78(5):403–12.
22. Bonassa, Edva Moreno Aguilar, Gato, Maria Inês Rodrigues. *Terapêutica Oncológica para Enfermeiros e Farmacêuticos*. 4º ed. São Paulo: Atheneu; 2012.
23. Alcântara AMPP, Venuto LMA, França ALF, Vieira E, Martins I. Liquid chromatographic method for simultaneous determination of five antineoplastic drugs. *Lat Am J Pharm [Internet]*. 2009 [citado 25 de julho de 2020];28, nº 4. Disponível em: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/7796>
24. Baba AI, Câtoi C. PRINCIPLES OF ANTICANCER THERAPY [Internet]. *Comparative Oncology*. The Publishing House of the Romanian Academy; 2007 [citado 25 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9546/>
25. Winkler GC, Barle EL, Galati G, Kluwe WM. Functional differentiation of cytotoxic cancer drugs and targeted cancer therapeutics. *Regul Toxicol Pharmacol RTP*. outubro de 2014;70(1):46–53.
26. Casorelli I, Bossa C, Bignami M. DNA damage and repair in human cancer: molecular mechanisms and contribution to therapy-related leukemias. *Int J Environ Res Public Health*. agosto de 2012;9(8):2636–57.
27. British National Formulary (BNF) [Internet]. MedicinesComplete. [citado 26 de julho de 2020]. Disponível em: <https://about.medicinescomplete.com/publication/british-national-formulary/>

28. Chabner BA, Knollmann, Bjorn C, Brunton, Laurence L. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman. 12º ed. São Paulo: Amgh; 2012.
29. Suzuki F, Hashimoto K, Kikuchi H, Nishikawa H, Matsumoto H, Shimada J, et al. Induction of tumor-specific cytotoxicity and apoptosis by doxorubicin. *Anticancer Res.* abril de 2005;25(2A):887–93.
30. Dagher R, Helman L. Rhabdomyosarcoma: an overview. *The Oncologist.* 1999;4(1):34–44.
31. Frost BM, Eksborg S, Björk O, Abrahamsson J, Behrendtz M, Castor A, et al. Pharmacokinetics of doxorubicin in children with acute lymphoblastic leukemia: multi-institutional collaborative study. *Med Pediatr Oncol.* maio de 2002;38(5):329–37.
32. Krischke M, Hempel G, Völler S, André N, D’Incalci M, Bisogno G, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of doxorubicin in children with cancer: results of a “European Pediatric Oncology Off-patents Medicines Consortium” trial. *Cancer Chemother Pharmacol.* dezembro de 2016;78(6):1175–84.
33. Yang F, Teves SS, Kemp CJ, Henikoff S. Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochim Biophys Acta.* janeiro de 2014;1845(1):84–9.
34. Emadi A, Jones RJ, Brodsky RA. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nat Rev Clin Oncol.* novembro de 2009;6(11):638–47.
35. Dranitsaris G, Johnston M, Poirier S, Schueller T, Milliken D, Green E, et al. Are health care providers who work with cancer drugs at an increased risk for toxic events? A systematic review and meta-analysis of the literature. *J Oncol Pharm Pract Off Publ Int Soc Oncol Pharm Pract.* junho de 2005;11(2):69–78.
36. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução RDC n. 220, de 21 de setembro de 2004.

37. manual-exposicao-ao-risco-quimico.pdf [Internet]. [citado 25 de janeiro de 2022]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//manual-exposicao-ao-risco-quimico.pdf>
38. Taylor AV, Baker N, Hulsey M, Bennett CC, Meiners M, Gonzales BA. Evaluating containment effectiveness of A2 and B2 biological safety cabinets. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm*. 17 de abril de 2019;76(9):599–607.
39. Almeida, José Ricardo Chamhum de. *Farmacêuticos em oncologia: uma nova realidade*. 2º ed. São Paulo: Atheneu; 2010.
40. Larson RR, Khazaeli MB, Dillon HK. Development of an HPLC method for simultaneous analysis of five antineoplastic agents. *Appl Occup Environ Hyg*. fevereiro de 2003;18(2):109–19.
41. Sabatini L, Barbieri A, Tosi M, Violante FS. 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 JMS*. maio de 2005;40(5):669–74.
42. Sottani C, Turci R, Schierl R, Gaggeri R, Barbieri A, Violante FS, et al. Simultaneous determination of gemcitabine, taxol, cyclophosphamide and ifosfamide in wipe samples by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry: protocol of validation and uncertainty of measurement. *Rapid Commun Mass Spectrom RCM*. 2007;21(7):1289–96.
43. Connor TH, Zock MD, Snow AH. Surface wipe sampling for antineoplastic (chemotherapy) and other hazardous drug residue in healthcare settings: Methodology and recommendations. *J Occup Environ Hyg*. setembro de 2016;13(9):658–67.

44. Fuchs J, Hengstler JG, Jung D, Hiltl G, Konietzko J, Oesch F. DNA damage in nurses handling antineoplastic agents. *Mutat Res.* março de 1995;342(1–2):17–23.
45. Mateo González-Román M, Hidalgo García PP, Peña Otero D. Cytostatic drugs and risk of genotoxicity in health workers. A literature review. *Enfermeria Clin Engl Ed.* agosto de 2021;31(4):247–53.
46. Nussbaumer S, Geiser L, Sadeghipour F, Hochstrasser D, Bonnabry P, Veuthey JL, et al. Wipe sampling procedure coupled to LC-MS/MS analysis for the simultaneous determination of 10 cytotoxic drugs on different surfaces. *Anal Bioanal Chem.* março de 2012;402(8):2499–509.
47. Kåredal M, Jönsson R, Wetterling M, Björk B, Hedmer M. A quantitative LC-MS method to determine surface contamination of antineoplastic drugs by wipe sampling. *J Occup Environ Hyg.* 21 de dezembro de 2021;1–17.
48. Fleury-Souverain S, Nussbaumer S, Mattiuzzo M, Bonnabry P. Determination of the external contamination and cross-contamination by cytotoxic drugs on the surfaces of vials available on the Swiss market. *J Oncol Pharm Pract Off Publ Int Soc Oncol Pharm Pract.* abril de 2014;20(2):100–11.
49. Ness SLR, Pilla C, Tubino GV. Levels of surface contamination with gemcitabine using standard preparation techniques versus closed-system devices. 2016;9.
50. Rossignol E, Amiard MB, Sorrieul J, Bard JM, Bobin-Dubigeon C. A fully validated simple new method for environmental monitoring by surface sampling for cytotoxics. *J Pharmacol Toxicol Methods.* fevereiro de 2020;101:106652.
51. Marie P, Christophe C, Manon R, Marc M, Charleric B, Patrice V. Environmental monitoring by surface sampling for cytotoxics: a review. *Environ Monit Assess.* janeiro de 2017;189(2):52.

52. Sabatini L, Barbieri A, Tosi M, Violante FS. 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 JMS*. maio de 2005;40(5):669–74.

ARTIGO EM INGLÊS

Residual contamination in anticancer drug packaging

Luciana Stein e, Silva¹, Cibele da Silva Barbosa, Machado¹, Rafael, Linden³, Marina Venzon, Antunes³, Edison Capp^{1,4}, Sandro Luís Ribeiro Ness²

¹Graduate Program in Health Sciences: Gynecology and Obstetrics, Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

²Center for Intravenous Drug Preparation, Department of Pharmacy, Hospital de Clínicas Porto Alegre

³Analytical Toxicology Laboratory, Feevale University, Novo Hamburgo-RS, Brazil

⁴ Department of Gynecology and Obstetrics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

Corresponding author

Luciana Stein e Silva

Rua Faria Santos 710/904.

Porto Alegre, RS, Brazil

CEP 90670-150

lusteinn@hotmail.com

ABSTRACT

Background: The handling of antineoplastic drugs should follow strict supervision and safety rules to minimize the risks of occupational exposure to which professionals. Contamination of the external surface of drug vials is recognized as a health risk. The identification of potential sources of contamination is important for appropriate protective measures and effective monitoring. **Objective:** To determine if there is residual contamination on the surface of vials and containers of the antineoplastic drugs doxorubicin (DOX) and cyclophosphamide (CP) by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) analysis. **Methods:** Samples were collected using a Whatman filter paper moistened with 1 mL of methanol and kept in a test tube until analysis. Samples were prepared by solid-liquid extraction. 5 mL of methanol and ethyl acetate (1:1, v/v) were added to the tube containing the filter paper and homogenized by vortex for 30 minutes at room temperature. After centrifugation, 2 mL of supernatant was filtered to a new tube and evaporated at 60 °C. The dried extract was recovered with 200 µL of water with 0.1% formic acid and methanol (1:1, v/v). After homogenization, an aliquot of 10 µL was injected on UHPLC-MS/MS system. Chromatographic separation occurred in an Acquity UPLC BEH C18 (50 x 2,1 mm; 1.7 µm) at 40 °C. Mobile phase was water with 0.1% formic acid (eluent A) and acetonitrile with 0.1% formic acid (eluent B) eluted in gradient mode from 90:10 to 50:50 (A:B, v/v) at flow rate of 0.3 mL min⁻¹. Monitored transitions for quantitation were 261.9/141 for CP and 544/360.8 for DOX. Retention times were 2.7 and 2.8 minutes for CP and DOX, respectively. Calibration and control samples were analyzed in all batches, with linear intervals ranging from 1 to 1000 ng/patch. **Results:** A total of 209 samples were analyzed, 66 of cyclophosphamide and 143 of doxorubicin. All cyclophosphamide samples belong to the same manufacturer, while the doxorubicin samples are from three different manufacturers. Cyclophosphamide levels were detected in 9 samples (13.63%), 3 were below the lower limit of quantification (LLQ) and the other 6 had contamination levels ranging from 1.24 to 28.04 ng/filter. Doxorubicin levels were detected in 36 samples (25.17%),

2 were below the LLQ and the others had levels between 1.32 and 664.84 ng/filter. The majority of samples with residual contamination were in vials (80.0%), however boxes also showed contamination. **Conclusions:** The results reveal the presence of residual contamination of the drugs cyclophosphamide and doxorubicin, regardless of the packaging, pharmaceutical form or plastic protection surrounding the vial. Although the amount of residues found in each sample is small, special care should be taken in the handling and disposal of these drugs. The use of personal protective equipment is fundamental while handling the vials and packaging of cytotoxic drugs. We suggest further studies to be carried out with different methodologies in order to enable the creation of preventive strategies to minimize the risk of exposure to professionals. HCPA.

INTRODUCTION

Chemotherapy is a type of therapy that uses chemicals that act on cells in mitosis and antimetabolic agents to destroy cancer cells (1). In addition, antineoplastic drugs have been shown to have carcinogenic, mutagenic, teratogenic, and genotoxic effects in humans (2–6).

Breast cancer is the most commonly diagnosed cancer in women, accounting for 25% of all cancer cases and 15% of all cancer deaths in women worldwide (7). Treatment involves a combination of various therapies, of which CA (Doxorubicin and Cyclophosphamide) is one of the most frequent therapies prescribed by physicians (8).

In the 1980s, the Occupational Safety and Health Administration (OSHA) first published regulations to ensure the safe handling of antineoplastic agents. These regulations specified that these drugs should be prepared in a specialized pharmacy with a preparation room equipped with a biological safety cabinet to minimize the risk of cytotoxic exposure (4,9).

Pharmacists who prepare these drugs and nurses who administer them are the two occupational groups that have the highest potential exposure to antineoplastic agents. In addition, a wider range of health care workers may also be exposed, such as physicians, pharmacy and nursing technicians, and hygiene assistants. These drugs can be absorbed through inhalation of aerosols formed and dispersed in the workplace or through direct skin contact (10–14). Dermal absorption has been suggested as the most likely form of exposure to antineoplastic drugs in the healthcare setting (14,15).

Contact with cytotoxic drugs can cause damage to the health of professionals exposed to these substances, due to modifications in the nucleotide sequence or the double helix structure of DNA, and this exposure even at low doses represents a risk.

However, it is difficult to define a level of exposure that can be considered safe for humans (2,16).

There are several methods for evaluating environmental monitoring and worker exposure to cytotoxic drugs. The most sensitive method to identify and quantify the presence of residues on the surface of antineoplastic drugs is through the wipe test (17,18).

High-performance liquid chromatography coupled mass spectrometry can be used to monitor a wide variety of chemotherapeutic drugs, provides high sensitivity and specificity (such as low ng/ml detection limits) even in complex sample matrices (19,20).

Taking into consideration the high relevance of this theme, the objective of this work was to evaluate the residual contamination of intact vials and packages of the antineoplastic drugs, doxorubicin and cyclophosphamide.

METHODS

Study design

A cross-sectional study was conducted.

Samples

The calculated sample size was 280 samples (boxes and bottles) of medications. For this calculation the program WinPepi - Programs for Epidemiologists for Windows, version 11.65 was used. It was considered that the variability (standard deviation), according to (NESS, 2016) the amount of residue on the bottle surface would be 2.89 mg/mL, so that it was possible to estimate a average with a margin of

error of 1 mg/mL and 95% confidence level, it was necessary to have at least 33 samples of each surface to be evaluated (21).

The samples were collected at the Center of Intravenous Drug Preparation, in the Department of Pharmacy of the Clinical Hospital of Porto Alegre (HCPA), by the researchers.

Packaging/boxes and intact vials of doxorubicin and cyclophosphamide were analyzed. A total of 66 cyclophosphamide samples, 33 packages/boxes and 33 glass vials, were evaluated. For doxorubicin, samples from 3 different laboratories/manufacturers were used, 33 packs/boxes and 33 glass vials from Laboratory B, 33 packs/boxes and 33 glass vials from Laboratory C, and 4 packs/boxes and 7 glass vials from Laboratory D, for a total of 143 samples of doxorubicin. Only laboratory D's packages/boxes stored more than one vial per box, i.e., in each laboratory D box, 10 vials are stored. Each bottle was in its original packaging and showed no signs of breakage or humidity.

A new pair of gloves was used for each sample. Samples were collected using a uniform sampling procedure by rubbing in two different directions (up and down, right and left) on the inner surfaces of the packages/boxes and the outer surfaces of the vials. Samples were collected on Whatman filter paper moistened with 1 mL methanol and kept in a test tube until analysis. The samples were prepared by solid-liquid extraction. 5 mL methanol and ethyl acetate (1:1, v/v) were added to the tube containing the filter paper and homogenized by vortexing for 30 minutes at room temperature. After centrifugation, 2 mL of the supernatant was filtered into a new tube and evaporated at 60 °C. The dried extract was recovered with 200 µL of water with 0.1% formic acid and methanol (1:1, v/v). After homogenization, a 10 µL aliquot was injected into the UHPLC-MS/MS system.

Chromatographic separation occurred on an Acquity UPLC BEH C18 column (50 x 2.1 mm; 1.7 µm) maintained at 40 °C and flow rate of 0.3 mL/min. The mobile phases were water with 0.1% formic acid (eluent A) and acetonitrile with 0.1% formic

acid (eluent B) at an initial gradient of 90:10, reaching 50:50 (A:B, v/v). The transitions monitored for quantification were 261.9/141 for CP and 544/360.8 for DOX. The retention times were 2.7 and 2.8 minutes for CP and DOX, respectively. The calibration curve and quality controls were analyzed in all batches, with linearity between 1 and 1000 ng/filter.

The analysis of contaminated or uncontaminated samples was evaluated by Fisher's exact test and the frequency of contaminated vials was described by the total number and percentage and the significance level of $p \leq 0.05$ was considered as statistically significant. The program used to perform the statistical analysis was SPSS version 18.0.

This study was approved by Research Ethics Board from Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Brazil (#21-0273).

RESULTS AND DISCUSSION

The objective of this study was to evaluate the residual contamination of vials and packages of antineoplastic drugs, doxorubicin and cyclophosphamide. For this, a total of 209 samples were analyzed, 66 of cyclophosphamide and 143 of doxorubicin. All cyclophosphamide samples belonged to the same manufacturer, while doxorubicin samples were from three different manufacturers. Due to the unavailability of doxorubicin samples from one of the laboratories, 4 packages and 7 vials were analyzed, a total of 11 samples from laboratory D.

Although it did not reach the number of samples initially calculated, the results had sufficient statistical power to find differences in the laboratory and package comparisons, with test power above 80%.

Assessing residual contamination, the levels differed significantly between laboratories (Table 1). Cyclophosphamide levels were detected in 9 samples (13.6%),

Three samples were below the lower limit of quantification (LLQ) and the other 6 showed contamination levels ranging from 1.24 to 28.04 ng/filter (with a mean equal to 8.78). Doxorubicin levels were detected in 36 samples (25.17%), 2 were below the LLQ and the rest had levels between 1.32 and 664.84 ng/filter (with a mean equal to 42.66).

The packages/boxes of laboratory D stored 10 vials per box, i.e., they are not unitary packages, and it is believed that this may favor the increase in residual contamination of the packages. According to the analyses, of the four boxes evaluated, all presented contamination.

There is no surface contamination limit considered safe (22,23), so levels of doxorubicin and cyclophosphamide above 1ng/filter can be considered contaminated. In other words, any level of contamination, even those that may be below the LLQ demand special attention since they can cause various risks.

The type of packaging and the medication were also analyzed, and it can be observed that the vast majority of samples with residual contamination were in vials (80.0%), but boxes also showed contamination (Table 1).

In fact, several studies have demonstrated the presence of contamination on the external surfaces of vials of dangerous drugs, highlighting the need to ensure that safety control measures are applied in the handling of cytotoxic drugs (24–27). In Delphine Hilliquin's study, twenty-four studies published between 1992 and 2014 in which contamination of the exterior of commercial packaging of antineoplastic drugs was widespread were evaluated. There was no definitive sign of improvement over the years. Contamination was observed in different types of packaging and different manufacturers (28).

It is known that waste containing chemicals that may present risk to public health or the environment must, according to the regulations in force in Brazil, the Resolution – RDC n° 222, from March 28, 2019 (29), be discarded in chemical waste (GROUP B),

and the secondary packaging not contaminated by the product should be discarded as Group D waste, which can be sent for recycling process. Since the outside of the antineoplastic containers is still an important source of contamination, the importance of the correct disposal of the packaging is emphasized.

Since there was no significant difference in the contamination of cyclophosphamide and doxorubicin ($p=0.07$), the complementary comparisons were performed in all samples. In table 2 we describe the comparisons in relation to the pharmaceutical form (liquid or powder), and whether the glass vial had plastic protection. There was no significant difference in the contamination of the drug bottles in relation to the pharmaceutical form ($p=0.672$).

The vials that were wrapped with plastic protection were presented in liquid pharmaceutical form, the main function of this plastic container would be to establish one more physical barrier between the professional and the drug and ensure greater safety in case of breakage. However, our findings did not demonstrate that this protection prevented the presence of cytotoxic drug residues in the bottles, since no significant difference was detected between bottles with protection and without protection (Table 2). Studies corroborate our findings, confirming that the protective plastic packaging may contribute to a false sense of safety and should be handled with the same precautions as other antineoplastic drug packaging (30,31).

With the chemical contamination observed in the tested vials, a decontamination step and the application of recommendations to reduce the risk of exposure to cytotoxic drugs for the healthcare worker are of utmost importance. The use of personal protective equipment, such as masks, apron/mask and especially gloves, is essential for the protection of the professionals handling these drugs (28,32).

The risk of exposure to antineoplastic drugs is present at any time during their handling, reception, preparation, administration of the drug, disposal of waste and body excretions (33). In view of the findings, there is a need to use prevention strategies and to monitor the effectiveness of safety measures (21,34), in order to minimize the risk

of exposure of all professionals involved in handling the drugs, not only of those directly involved in the preparation. That means, it is fundamental that the entire team involved in the handling of these drugs receives constant training, reinforcing the definition and periodic review of norms and procedures on the handling of antineoplastic agents.

A limitation of the present study was the small number of doxorubicin samples from laboratory D, with only 11 samples (4 boxes and 7 vials). However, even with the small sample size, the results were surprising, as 100% presented residual contamination. This indicates a great need for further studies with a larger number of samples so that the inference of the findings can be presented as widely relevant. Even with such a limitation, the study shows great importance in the advancement of knowledge about residual contamination of packages and vials, as well as suggesting the need for more attention to health and occupational risks of professionals who deal directly with antineoplastic drugs.

CONCLUSION

Our findings reveal that the vials and packages of cytotoxic drugs presented residual contamination, regardless of the packaging, pharmaceutical form or plastic protection surrounding the vial. Although the amount of residues found in each sample is small, special care should be taken in the handling and disposal of these drugs. It is essential to use personal protective equipment, such as gloves, impermeable aprons, and masks, while handling the vials and packaging of cytotoxic drugs.

We suggest that further studies with different methodologies be conducted to enable the creation of prevention strategies to minimize the risk of exposure for the professionals involved in the preparation of the medications.

REFERENCES

1. British National Formulary (BNF) [Internet]. MedicinesComplete. [citado 26 de julho de 2020]. Disponível em: <https://about.medicinescomplete.com/publication/british-national-formulary/>
2. Alcântara AMPP, Venuto LMA, França ALF, Vieira E, Martins I. Liquid chromatographic method for simultaneous determination of five antineoplastic drugs. *Latin American Journal of Pharmacy* [Internet]. 2009 [citado 25 de julho de 2020];28, nº 4. Disponível em: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/7796>
3. Baba AI, Câtoi C. PRINCIPLES OF ANTICANCER THERAPY [Internet]. *Comparative Oncology*. The Publishing House of the Romanian Academy; 2007 [citado 25 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9546/>
4. Yodaiken RE, Bennett D. OSHA work-practice guidelines for personnel dealing with cytotoxic (antineoplastic) drugs. *Occupational Safety and Health Administration. Am J Hosp Pharm*. maio de 1986;43(5):1193–204.
5. NIOSH List of Antineoplastic and Other Hazardous Drugs in Healthcare Settings, 2016. :42.
6. Centre international de recherche sur le cancer, organizador. A review of human carcinogens. Lyon: International agency for research on cancer; 2012. (IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans).
7. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. março de 2015;65(2):87–108.
8. Partridge AH, Burstein HJ, Winer EP. Side effects of chemotherapy and combined chemohormonal therapy in women with early-stage breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monographs*. 2001;(30):135–42.
9. Dranitsaris G, Johnston M, Poirier S, Schueller T, Milliken D, Green E, et al. Are health care providers who work with cancer drugs at an increased risk for toxic

events? A systematic review and meta-analysis of the literature. *J Oncol Pharm Pract.* junho de 2005;11(2):69–78.

10. Larson RR, Khazaeli MB, Dillon HK. Development of an HPLC method for simultaneous analysis of five antineoplastic agents. *Appl Occup Environ Hyg.* fevereiro de 2003;18(2):109–19.

11. Sabatini L, Barbieri A, Tosi M, Violante FS. 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.* maio de 2005;40(5):669–74.

12. Sottani C, Turci R, Schierl R, Gaggeri R, Barbieri A, Violante FS, et al. Simultaneous determination of gemcitabine, taxol, cyclophosphamide and ifosfamide in wipe samples by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry: protocol of validation and uncertainty of measurement. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2007;21(7):1289–96.

13. Hon CY, Teschke K, Shen H, Demers PA, Venners S. Antineoplastic drug contamination in the urine of Canadian healthcare workers. *Int Arch Occup Environ Health.* outubro de 2015;88(7):933–41.

14. International Society of Oncology Pharmacy Practitioners Standards Committee. ISOPP standards of practice. Safe handling of cytotoxics. *J Oncol Pharm Pract.* 2007;13 Suppl:1–81.

15. Connor TH, Zock MD, Snow AH. Surface wipe sampling for antineoplastic (chemotherapy) and other hazardous drug residue in healthcare settings: Methodology and recommendations. *J Occup Environ Hyg.* setembro de 2016;13(9):658–67.

16. Mateo González-Román M, Hidalgo García PP, Peña Otero D. Cytostatic drugs and risk of genotoxicity in health workers. A literature review. *Enferm Clin (Engl Ed)*. agosto de 2021;31(4):247–53.
17. Nussbaumer S, Geiser L, Sadeghipour F, Hochstrasser D, Bonnabry P, Veuthey JL, et al. Wipe sampling procedure coupled to LC-MS/MS analysis for the simultaneous determination of 10 cytotoxic drugs on different surfaces. *Anal Bioanal Chem*. março de 2012;402(8):2499–509.
18. Kåredal M, Jönsson R, Wetterling M, Björk B, Hedmer M. A quantitative LC-MS method to determine surface contamination of antineoplastic drugs by wipe sampling. *J Occup Environ Hyg*. 21 de dezembro de 2021;1–17.
19. Marie P, Christophe C, Manon R, Marc M, Charleric B, Patrice V. Environmental monitoring by surface sampling for cytotoxics: a review. *Environ Monit Assess*. janeiro de 2017;189(2):52.
20. Sabatini L, Barbieri A, Tosi M, Violante FS. 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*. maio de 2005;40(5):669–74.
21. Ness SLR, Pilla C, Tubino GV. Levels of surface contamination with gemcitabine using standard preparation techniques versus closed-system devices. 2016;9.
22. Chaffee BW, Lander MJ, Christen C, Redic KA. Surface contamination of counting tools after mock dispensing of cyclophosphamide in a simulated outpatient pharmacy. *J Oncol Pharm Pract*. janeiro de 2019;25(1):85–93.
23. Touzin K, Bussièrès JF, Langlois E, Lefebvre M, Gallant C. Cyclophosphamide contamination observed on the external surfaces of drug vials and

the efficacy of cleaning on vial contamination. *Ann Occup Hyg.* novembro de 2008;52(8):765–71.

24. Connor TH, Sessink PJM, Harrison BR, Pretty JR, Peters BG, Alfaro RM, et al. Surface contamination of chemotherapy drug vials and evaluation of new vial-cleaning techniques: results of three studies. *Am J Health Syst Pharm.* 1º de março de 2005;62(5):475–84.

25. Fleury-Souverain S, Nussbaumer S, Mattiuzzo M, Bonnabry P. Determination of the external contamination and cross-contamination by cytotoxic drugs on the surfaces of vials available on the Swiss market. *J Oncol Pharm Pract.* abril de 2014;20(2):100–11.

26. Mason HJ, Morton J, Garfitt SJ, Iqbal S, Jones K. Cytotoxic drug contamination on the outside of vials delivered to a hospital pharmacy. *Ann Occup Hyg.* novembro de 2003;47(8):681–5.

27. Naito T, Osawa T, Suzuki N, Goto T, Takada A, Nakamichi H, et al. Comparison of contamination levels on the exterior surfaces of vials containing platinum anticancer drugs in Japan. *Biol Pharm Bull.* 2012;35(11):2043–9.

28. Hilliquin D, Bussi eres JF. External contamination of antineoplastic drug containers from a Canadian wholesaler. *J Oncol Pharm Pract.* março de 2020;26(2):423–7.

29. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução RDC n. 222, de 28 de março de 2019.

30. Cotteret C, Secretan PH, Gilles-Afchain L, Rousseau J, Vidal F, Salguero-Hernandez G, et al. External contamination of antineoplastic drug vials: an occupational risk to consider. *Eur J Hosp Pharm.* 25 de setembro de 2020;ejhpharm-2020-002440.

31. Schierl R, Herwig A, Pfaller A, Groebmair S, Fischer E. Surface contamination of antineoplastic drug vials: comparison of unprotected and protected vials. *Am J Health Syst Pharm*. 15 de março de 2010;67(6):428–9.
32. Easty AC, Coakley N, Cheng R, Cividino M, Savage P, Tozer R, et al. Safe handling of cytotoxics: guideline recommendations. *Curr Oncol*. fevereiro de 2015;22(1):e27-37.
33. Connor TH, Lawson CC, Polovich M, McDiarmid MA. Reproductive health risks associated with occupational exposures to antineoplastic drugs in health care settings: a review of the evidence. *J Occup Environ Med*. setembro de 2014;56(9):901–10.
34. Ness SLR, Mascarenhas MÁ, Arbo MD, Tonietto BD, Cestonaro LV, Dos Santos NG, et al. Occupational exposure assessment in professionals who manipulate and administer antineoplastic drugs in a university hospital in Southern Brazil. *J Oncol Pharm Pract*. julho de 2021;27(5):1205–13.

Subtitles

Table 1. Analysis of results according to laboratory, drug, and package.

Table 2: Analysis of the results according to pharmaceutical form and plastic protection on the bottle.

Table 1

	Uncontaminated	Contaminated	P*
Laboratory			<0,001
A (n=66)	57 (86,3%)	9 (13,6%)	
B (n=66)	42 (63,7%)	24 (36,3%)	
C (n=66)	65 (98,5%)	1 (1,5%)	
D (n=11)	0 (0%)	11 (100%)	
Medication			
Cyclophosphamide (n=66)	57 (34,7%) 107 (65,2%)	9 (20,0%) 36 (80,0%)	0,07
Doxorubicin (n=143)			<0,001*
Packaging	94 (57,3%)	9 (20,0%)	
Box (n=103)	70 (42,6%)	36 (80,0%)	
Bottle (n=106)			
TOTAL	164	45	209

* Fisher's exact test

Table 2

	Uncontaminated	Contaminated	P*
Pharmaceutical Form			
Liquid (n=66)	45	21	0,672
Powder (n=40)	25	15	
Plastic protection			
Not (n=40)	25	15	0,672
Yes (n=66)	45	21	
TOTAL	70	36	106

* Fisher's exact test

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método utilizado foi eficaz para a detecção de resíduos nas embalagens e frascos dos medicamentos ciclofosfamida e doxorrubicina, avaliamos o nível de contaminação presente nas superfícies dos medicamentos. Esses achados nos demonstra a necessidade de cuidados especiais no manuseio de medicamentos antineoplásicos, assim como a utilização de equipamentos de proteção individual em todas etapas, não somente durante o preparo destes medicamentos, mas também no recebimento, armazenamento e transporte. É fundamental que toda equipe envolvida no manuseio destes medicamentos receba treinamentos frequente.