

Recherche de traces de 5-fluorouracile sur des flacons à usage parentéral commercialisés par diverses sociétés sur le marché belge

JP Delporte (*), *Pharmacien*, **P. Chenoix** (*), **Ph. Hubert** (**), *Pharmacien*, **Y. Huon** (*), *Pharmacien*

(*) Centre Hospitalier Universitaire de Liège, Pharmacie - Belgique

(**) Université de Liège – Analyse des Médicaments – Belgique

Mots clés :

Agent Cytostatique, contamination, risques professionnels, sécurité, toxicité.

Résumé

Trois solutions injectables de 5-Fluorouracile (5-FU) commercialisées sur le marché Belge par trois firmes pharmaceutiques ont été examinées en vue de rechercher la présence de traces d'agent cytostatique sur le flacon. Des méthodes d'analyse quantitative et de récupération quantitative de traces de produit sur les flacons ont été développées et validées. Chaque série de flacons issue d'un même fabricant était composée de 30 flacons provenant de trois lots différents. Sur les 90 flacons examinés, 3 présentaient des traces de 5-FU quantifiables ($\geq 5\mu\text{g/vial}$) et 27 autres, des traces détectables mais non quantifiables. Cependant, la fréquence et le niveau de contamination semble varier selon la firme pharmaceutique productrice. Le risque potentiel d'une contamination accidentelle ou répétitive aux agents cytostatiques par voie dermique n'a pas été clairement démontré mais est néanmoins admis. C'est pourquoi, il est indispensable que les firmes pharmaceutiques prennent toutes les mesures appropriées pour éviter de telles contaminations et que des mesures internes soient adoptées par le personnel qui, au sein de l'hôpital, pourrait être exposé à ces traces d'agents cytostatiques sur les flacons.

Introduction

Les mesures de précaution qui doivent être prises lors de la manipulation des agents cytostatiques ont fait l'objet de nombreuses publications. Les effets indésirables des agents cytostatiques sont bien documentés, ainsi par exemple les cancers secondaires, les effets sur l'hématopoïèse, sur les organes reproducteurs ou l'immunosuppression. Les risques pour la santé que présentent à long terme des expositions chroniques à des agents cytostatiques ne sont pas exactement connus, que cette exposition ait lieu par voie dermique ou par inhalation. Dans une enquête croisée suite à un questionnaire envoyé à 4.659 infirmier(e)s, aides soignantes, pharmaciens et assistants en pharmacie, Valanis [1,2] a observé une augmentation faible mais significative du nombre de symptômes aigus. Ces symptômes ressentis pendant les trois mois qui précédaient l'enquête par des personnes qui, au cours de différentes activités de manipulation, étaient exposées aux agents cytostatiques incluaient des symptômes cardiaques, gastro-intestinaux, allergiques, infectieux et généraux. Si le nombre de symptômes mentionnés peut être associé de façon significative à différents paramètres comme le nombre d'expositions ou les mesures de protections appliquées, le contact dermique apparaît comme le facteur prédictif le plus important du nombre de symptômes. Les effets carcinogéniques potentiels des cytostatiques et d'autres effets observés chez les personnes qui manipulent fréquemment les agents cytostatiques comme la mutagénicité urinaire, la fréquence des échanges de chromatides sœurs ou des aberrations chromosomiques ont conduit à définir des

recommandations et des mesures de protection [3,4,5]. Plusieurs auteurs ont essayé de démontrer l'efficacité des mesures recommandées pour la protection des travailleurs en mesurant les traces de médicaments cytostatiques présentes dans l'air d'un flux laminaire vertical [6], dans l'espace de travail, sur le plan de travail des flux, sur les gants, le sol, etc [7].

Plus récemment, Ros [8] et Wilken [9] ont mis en évidence la contamination de la surface extérieure de flacons pour injection et de perfusions. Il arrive que des cristaux ou des traces de cytostatiques soient découverts sur l'emballage d'origine. Le personnel impliqué régulièrement dans la préparation d'agents cytostatiques est généralement bien conscient des risques inhérents à ces manipulations. Ils prennent dès lors les précautions appropriées pour se protéger des risques potentiels. Par contre, certains travailleurs qui ne sont pas habituellement confrontés avec ces produits particuliers, mais qui manipulent les médicaments ordinaires dans une usine, une pharmacie ou un service hospitalier (réception des marchandises, transport, ...) peuvent être, sans s'en rendre compte, exposés à des contacts dermiques avec de tels agents. C'est la raison pour laquelle Wilken considère que l'évaluation de la sécurité du produit et la fiabilité de la firme productrice pourraient entrer en ligne de compte lors du choix d'un médicament dans le formulaire hospitalier.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la présence de traces de médicament sur la surface externe de solution injectables commerciales de 5-Fluorouracile (5-FU), un antimétabolite antagonistes pyrimidique utilisé depuis environ 30 ans comme médicament anticancéreux et toujours largement utilisé pour son action palliative dans le traitement de tumeurs communes comme celles du sein et du colon. Il peut être utilisé seul ou associé à d'autres médicaments cytostatiques.

Méthode

Une méthode en trois étapes a été développée.

1. Développement et validation d'une méthode pour la mesure du 5-FU par chromatographie liquide à haute performance (HPLC);
2. Développement et validation d'une méthode pour récupérer les traces de 5-FU déposées sur des flacons en verre ;
3. Mesure quantitative des traces de 5-FU sur différents lots issus de firmes différentes et disponibles sur le marché Belge.

Toutes les précautions furent prises pour assurer la protection des techniciens et de l'environnement.

Mesures du fluorouracile par HPLC

Le 5-FU a été mesuré par HPLC selon une méthode adaptée de McDiarmid [6], utilisant une colonne Bondapak C₁₈ 5 μ 30 cm maintenue à 20°C, une pompe (modèle 2010) Varian - Instrument Group, un détecteur variable-Wavelength (modèle 2050UV) et un intégrateur (modèle 4290) Varian-Instrument Group.

La phase mobile était un mélange aqueux composé de 0,05% d'acide phosphorique ajusté à pH 2.5 avec une solution d'hydroxyde de potassium 5 N. Un flux constant de 1 ml/min a été adopté. La longueur d'onde de détection était de 266 nm. Le temps de rétention était 4.3 min. Dans ces conditions, la limite de détection et la limite de quantification étaient respectivement

0.3 et 1 nG. La courbe standard a été générée par la dilution d'une solution fraîche de 5-FU dans de l'eau distillée de manière à obtenir des concentrations de 1,5,10,20,50 et 100 nG par 50 µl (50 µl = capacité de la boucle d'injection), 4 mesures par concentration ont été effectuées. La linéarité de la réponse surface du pic/concentration a été observée sur une échelle Log/Log (Tests de Hartley, Bartlett et Cochran, $P < 0.05$). Dans la gamme de concentrations, la méthode a été validée pour la répétabilité ($CV < 2.8\%$ à faible niveau de concentration) et la fidélité intermédiaire ($CV < 3.2\%$). L'exactitude moyenne de la mesure a aussi été vérifiée (biais $< 1.2\%$).

Résultats

Validation de la récupération des résidus de 5-FU déposés sur les flacons

25 µL de solutions de concentrations croissantes de 5-FU furent déposés sur des flacons vides qui avaient été préalablement chauffés à 50°C et qui étaient maintenus en rotation sur un axe horizontal. Les dépôts ont été réalisés en ordre aléatoire, en simple aveugle, et les flacons ont été mis à sécher pendant la nuit dans un flux laminaire horizontal. Les dépôts s'échelonnaient de 0 à 50 µG.

Pour récupérer le dépôt, chaque flacon a été lavé avec 3 x 10 mL de solution d'hydroxyde de potassium 0.01 N déposés prudemment sur la surface à l'aide d'une pipette. La solution de rinçage a été ajustée à pH 2.5 avec une solution à 85 % d'acide phosphorique et ensuite diluée avec la phase mobile jusqu'à un volume de 50 mL (trait de jauge). La solution ainsi préparée était prête à être dosée par HPLC. Les données de mesures quantitatives sont présentées au tableau 1.

Tableau 1 : Récupération des dépôts de 5-FU

Quantité théorique déposée (µG)	Quantité mesurée (µG)	Récupération (%)
0.0	0.0	-
5.0	4.6	92.4
7.5	7.2	95.7
10.0	9.9	98.7
12.5	12.4	99.2
15.0	14.4	95.9
20.0	20.0	100.0
25.0	24.9	99.5
30.0	29.4	98.1
40.0	39.4	98.5
50.0	48.9	97.7

Mesure des résidus sur des flacons commerciaux

3 lots différents de 3 origines différentes ont été testés. Fluorouracil[®] 500 mg / 20mL (Source A : Faulding Pharmaceuticals s.a.), Fluracedyl[®] 500 mg / 10 mL (Source B : OPG Pharmachemie) et Fluroblastine[®] 500 mg / 10 mL ou 1 G / 20 mL (Source C : Pharmacia & Upjohn s.a.).

10 flacons de chaque lot ont été choisis au hasard pour le test. Les résultats des mesures sont présentés au tableau 2 (moyenne de deux mesures sur chaque solution de rinçage).

Tableau 2 : Contamination de l'extérieur des flacons par le 5 -FU produit par différentes firmes pharmaceutiques.

Flacon numéro	Source A			Source B			Source C		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3
1	d(**)	-	-	-	d	-	-	d	-
2	-(*)	-	-	-	-	-	-	4.8	-
3	-	-	-	d	-	d	-	d	-
4	d	-	-	d	d	d	-	d	d
5	-	d	d	-	d	-	-	d	18.1
6	-	-	-	-	d	-	-	d	-
7	-	-	-	-	d	-	-	d	d
8	-	-	-	-	d	-	6.5(***)	d	-
9	-	-	-	-	d	-	d	-	-
10	-	-	-	-	d	d	-	-	-

(*) pas de 5-FU détecté ; (**) 5-FU détecté mais en quantité inférieure à la limite de quantification ; (***) 5-FU détecté et quantifié en µG/flacon.

Discussion

Dans la méthode de récupération des dépôts de 5-FU, le pourcentage moyen de récupération sur les flacons était de 97.6 ± 2.2 %, dans la gamme des quantités testées. L'équation de régression montrant la corrélation entre les quantités de 5-FU mesurées (y) et les quantités déposées (x) est donnée par : $y = -0.046 + 0.984 \cdot x$ ($r^2 = 0.999$). L'hypothèse nulle H_0 ($b = 1$), où b est la pente de la courbe a été acceptée pour un seuil d'incertitude inférieur à 5 % ($p < 0.05$), cela signifie que la pente n'est pas statistiquement différente de 1.

De la même façon, l'hypothèse nulle H_0 ($a = 0$), où a est l'ordonnée à l'origine, n'a pas été rejetée au seuil d'incertitude de 5 %, ce qui signifie que l'ordonnée à l'origine n'est pas statistiquement différente de 0.

Ces résultats démontrent la validité de la méthode et pour l'objectif de cette étude.

Parmi les 90 flacons testés, 3 étaient contaminés par des quantités mesurables de 5-FU. Tous les 3 provenaient de la même firme et appartenaient à chacun des lots venant de cette origine (source C). Sur 27 flacons, des traces de 5-FU ont été détectées mais en quantités inférieures à la limite de quantification, 4 flacons étaient issus de la source A, 13 de la B et 10 de la C. On peut considérer que globalement, la contamination est : source C > source B > source A. Toutefois, les niveaux de contamination relevés restent heureusement faibles et ne dépassent pas 18 µg par flacon.

Les résultats obtenus sur quelques lots de solution commerciales de 5-FU ne doivent probablement pas être considérés comme uniques et on peut supposer qu'ils seraient identiques avec d'autres agents cytostatiques. L'origine de la contamination externe a été largement discutée par Wilken [9]. La cause la plus fréquente sont les éclaboussures et la mousse qui se forment pendant le remplissage des flacons. Une autre cause possible de contamination peut résulter du bris des flacons pendant la lyophilisation, pendant leur cheminement sur des tapis roulants et pendant leur transport. Les résultats observés semblent indiquer que les mesures prises par les fabricants pour éviter de tels risques de contamination sont différents et ne présentent pas le même degré d'efficacité.

Conclusion

Comme pour tous les agents cytostatiques, les risques potentiels à long terme d'une exposition accidentelle ou répétée avec des quantités de 5-FU aussi faibles que celles détectées n'ont pas été clairement évalués. Cependant, il est évident que les risques liés à une activité professionnelle doivent être limités au maximum. C'est pourquoi, les pharmaciens hospitaliers devraient faire pression sur les firmes pharmaceutiques pour qu'elles prennent les mesures adéquates pour réduire la contamination de leurs emballages (boîtes, flacons). De la même façon, les risques de bris pendant la fabrication et le transport doivent être minimisés. Enfin, toute livraison de produit cytostatique devrait être clairement identifiée sur l'emballage extérieur.

Les pharmaciens hospitaliers doivent également participer à ces efforts en prenant des mesures internes et par exemple, en vérifiant que le personnel de la pharmacie, des services hospitaliers, de la réception des marchandises et tout ceux qui s'occupent de réceptionner ou de ranger les produits cytostatiques sont conscients des risques potentiels et ont reçu les instructions nécessaires pour une manipulation sans risques de ces produits notamment en portant des gants ou en demandant l'aide de personnes spécialement formées en cas de bris de matériel.

References

1. Valanis B.G., Wollmer W.M., Labuhn K.T., Glass A.G. Acute Symptoms Associated with Antineoplastic Drug Handling among Nurses. *Cancer Nursing*, 1993,16, 288-95.
2. Valanis B.G., Wollmer W.M., Labuhn K.T., Glass A.G. Association of Antineoplastic Drug Handling with Accute Adverse Effects in Pharmacy Personnel, *Am. J. Hosp. Pharm.* 50, 1993, 455-62.
3. de Werk NA, Wadden RA, Win L. Chiou, Exposure of Hospital Workers to Airborne Antineoplastic Agents, *Am.J.Hosp.Pharm.* 1983, 40, 597-601.
4. LeRoy ML, Roberts MJ, Theisen JA, Procedures for Handling Antineoplastic Injections in Comprehensive Cancer Centers, *Am.J.Hosp.Pharm.* 1983, 40, 601-603.
5. Association Francophone des Pharmaciens Hospitaliers de Belgique, Les cytostatiques en pharmacie Hospitalière, AFPHB Edition, 1996.
6. McDiarmid MA, Egan T, Furio M, Bonacci M, Watts SR, Sampling for Airborne Fluorouracil in a Hospital Drug Preparation Area, *Am. J. Hosp. Pharm.*, 1986, 43, 1942-5.
7. Sessink JM, Anzion RB, Van den Broek PHH, Bos RP, Detection of Contamination with Antineoplastic Agents in a Hospital Pharmacy Department. *Pharm.Weekblad (Sc.Ed.)* 1992, 14, 16-22.

8. Ros JJW, Simons KA, Verzijl JM, De Bijl GA, Pelders MG, Praktische toepassingen van een gevalideerde analysemethode voor het aantonen van sporen cyclophosphamide op injectieflacons en in de oncologische dagverpleging. *Ziekenhuisfarmacie*, 1997, 13, 1968-71.
9. Wilken A. Beobachtungen zur Aussenkontamination der Primärverpackungen von Zytostatika, *Krankenhauspharmazie*, 1997, 37-39

Adresse de correspondance

Prof. Dr. J.P. Delporte
CHU de Liège
Pharmacie B35
4000 Liège - Belgique
Tel : + 32 4 366 71 39
Fax : +32 4 355 71 42
Email jpdelporte@chu.ulg.ac.be