

MESTRADO

Toxicologia Analítica Clínica e Forense

**Desenvolvimento de metodologias para
avaliação e limitação da exposição
ocupacional de profissionais de farmácia
a fármacos citotóxicos**

Nuro Joaquim Ali

M

2022



O presente trabalho decorreu no Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho E.P.E., no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto e no Laboratório do Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA) da Escola Superior de Saúde (ESS) do Instituto Politécnico do Porto (IPP), Porto.



NURO JOAQUIM ALI

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS PARA AVALIAÇÃO E LIMITAÇÃO DA
EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL DE PROFISSIONAIS DE FARMÁCIA A FÁRMACOS
CITOTÓXICOS**

**DISSERTAÇÃO DO 2º CICLO DE ESTUDOS CONDUCENTE AO GRAU DE MESTRE
EM TOXICOLOGIA ANALÍTICA CLÍNICA E FORENSE**

Trabalho realizado sob orientação de:

**ORIENTADOR: Professor Doutor Fernando Xavier Ferreira Moreira (Professor
Adjunto Convidado da Escola Superior de Saúde (ESS), Instituto Politécnico do
Porto (IPP), Porto, Portugal)**

**CO-ORIENTADORA: Professora Doutora Helena Maria Ferreira da Costa Ferreira
Carmo, (Professora Auxiliar da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto,
Porto, Portugal)**

Porto

Outubro de 2022

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA DISSERTAÇÃO.

Nuno joaquim Ali

AGRADECIMENTOS

À Allah (Deus), em primeiro lugar, que sempre me conduziu com as devidas lições de amor, fraternidade e compaixão hoje e sempre.

Para a realização desta dissertação algumas pessoas me ajudaram e sem as quais não teria sido possível consegui-lo. E por esse motivo não posso deixar de expressar algumas palavras de reconhecimento e a minha profunda gratidão.

Agradeço ao meu Orientador, Professor Doutor Fernando Moreira pelo modo como me recebeu, pelo incentivo, compreensão, confiança, paciência e disponibilidade demonstrada ao longo de todo este percurso. Obrigado pelas palavras de determinação e força, em todos os momentos em que desanimei e tudo parecia estar a correr mal. O meu muito obrigado.

À Professora Doutora Helena Maria Ferreira da Costa Ferreira Carmo, como minha coorientadora, e coordenadora do curso de Toxicologia Analítica Clínica e Forense, agradeço pela orientação desta dissertação, pela paciência, partilha dos seus conhecimentos e disponibilidade sempre demonstrada. Portanto, agradeço também pela oportunidade de frequentar o curso do meu sonho e que hoje já se está a concretizar, permitindo-me realizar um trabalho numa área que tanto gosto.

Agradeço, à Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto, Área Técnico-Científica de Farmácia, pelo acolhimento, disponibilidade dos equipamentos ao longo de todo o meu trajeto, particularmente ao seu Coordenador e Coordenador do Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Professor Doutor Agostinho Cruz, e à Professora Doutora Patrícia Correia pela transmissão de conhecimento e apoio no equipamento de HPLC-DAD, assim como pela prontidão demonstrada sempre que precisei e pelo seu otimismo. Agradeço também às restantes professoras que trabalham na Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto, bem como à Dra. Mariana Leitão, pela ajuda prestada no CISA. Agradeço ainda à Dra. Luísa Rocha, Dra. Cristina Fernandes e Dra. Raquel Robalo do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho E.P.E., pela ajuda na integração e adaptação no serviço farmacêutico do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, E.P.E., Vila Nova de Gaia, Portugal, e pelo seu acompanhamento inicial durante os primeiros passos desta jornada. Obrigado aos restantes profissionais do Serviço Farmacêutico do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, E.P.E., Vila Nova de Gaia, Portugal, pela disponibilidade demonstrada nas colheitas das amostras e por me terem ajudado na materialização deste trabalho.

Agradeço ao Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, por todos os materiais e equipamentos disponibilizados para a realização do trabalho, assim como a todos os membros do laboratório pela ajuda.

Aos meus pais, irmãos e meu filho o Nurdin Nuro Ali por todo o apoio incondicional, por nunca deixarem de acreditar, por me terem sempre ajudado a ultrapassar as dificuldades e por estarem sempre ao meu lado em todas as fases da minha vida, o meu muito obrigado. A vocês dedico esta dissertação.

Por último, e não menos importante, Obrigado Ana Job, pela enorme paciência, pelo carinho, pelo apoio incansável, pelas palavras reconfortantes e por acreditares sempre em mim.

RESUMO

Os fármacos citotóxicos para tratamento de neoplasias, implicam, genericamente, uma preparação prévia. Esta preparação está associada a potenciais riscos para a saúde dos profissionais que manipulam os fármacos citotóxicos de forma rotineira. Os trabalhos realizados no âmbito desta dissertação tiveram como principais objetivos o desenvolvimento de um método de baixo custo que permita o treino e monitorização dos profissionais que manipulam fármacos citotóxicos e a validação e aplicação de um método analítico para deteção de ciclofosfamida em superfícies potencialmente contaminadas. Para a realização do primeiro trabalho, e com o objetivo de simular a ocorrência de eventuais derrames, foi comparada a fluorescência sob luz ultravioleta e a absorvância em espectrofotometria UV/vis, de água tônica comercialmente disponível (6 produtos de 3 diferentes marcas), com as de um marcador fluorescente, o dicloridrato de quinina. Para avaliar a adequação da água tônica em substituição do dicloridrato de quinina, foram ainda questionados 12 profissionais que realizaram um protocolo de simulação de manipulação de fármacos citotóxicos com água tônica. No segundo trabalho experimental, foi realizada uma validação de um método analítico para deteção de ciclofosfamida por HPLC-DAD. Os resultados obtidos no primeiro trabalho revelaram que, independentemente da marca, a água tônica comercialmente disponível e ausente de corantes, é visível sob luz ultravioleta e apresenta absorvância entre os 300nm e os 400nm. Entre os participantes, 92% (n=11) consideraram o protocolo como “muito adequado” ou “totalmente adequado” para auxiliar no reconhecimento de locais mais suscetíveis de contaminação. Durante a simulação, 58% dos profissionais (n=7) tiveram derrames com água tônica. O método analítico para deteção de ciclofosfamida foi validado quanto à linearidade, precisão intra-dia (92-98%) e inter-dia (91-98%), exatidão (80-106%), recuperação (97-114%) e sensibilidade (LD = 0,089 µg/cm²; LQ = 0,269 µg/cm²). Foram analisadas 50 amostras reais de um hospital do Norte de Portugal e todas apresentaram valores inferiores ao LD. Conclui-se que a água tônica, é uma alternativa viável e de fácil acesso para treino e monitorização da manipulação de fármacos citotóxicos. Através da monitorização analítica, verifica-se ainda que, apesar da ocorrência de derrames durante a manipulação, a adoção de cuidados de limpeza adequados nos espaços onde se recebem e manipulam citotóxicos permite que se limite drasticamente a sua deposição nas superfícies.

Palavras-chave: *Citotóxicos, exposição ocupacional, métodos analíticos, toxicologia*

ABSTRACT

The cytotoxic drugs for the treatment of cancer usually require a previous preparation. This preparation is associated with potential health risks for the professionals that routinely handle cytotoxic drugs. The work carried out in this dissertation had as main objectives the development of a low-cost method that allows the training and monitoring of professionals who handle cytotoxic drugs and the validation and application of an analytical method for the detection of cyclophosphamide in potentially surfaces. For the first work, to simulate eventual spills during manipulation, the fluorescence under ultraviolet light and the absorbance in UV/vis spectrophotometry, of commercially available tonic water (6 products of 3 different brands) were compared with those of the fluorescent marker, quinine dihydrochloride. To evaluate the suitability of tonic water as a substitute for quinine dihydrochloride, 12 professionals were also questioned and performed a simulation protocol of cytotoxic drug manipulation using tonic water. In the second experimental work, the validation of an analytical method for detection of cyclophosphamide by HPLC-DAD, was performed. The results obtained in the first work revealed that, regardless of the brand, tonic water commercially available and absent of dyes, is visible under ultraviolet light and shows absorbance between 300nm and 400nm. Among the participants, 92% (n=11) considered the protocol as "very adequate" or "totally adequate" to assist in the recognition of sites most susceptible to contamination. During the simulation, 58% of professionals (n=7) experienced spills with tonic water. The analytical method for detection of cyclophosphamide was validated for linearity, intra-day (92-98%) and inter-day (91-98%) precision, accuracy (80-106%), recovery (97-114%) and sensitivity (LOD = 0.089 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; LQ = 0.269 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). Fifty real samples from a hospital in Northern Portugal were analysed and all showed values below the LOD. We conclude that tonic water is a viable and affordable alternative for training and monitoring cytotoxic drug manipulation. With the analytical monitoring, it was also found that, despite the occurrence of spills during handling, the adoption of proper cleaning procedures in the areas where cytotoxic drugs are received and handled allows a drastic limitation of their deposition on surfaces.

Keywords: *Cytotoxic agents, occupational exposure, analytical methods, toxicology*

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
ÍNDICE GERAL	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABELAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xii
Capítulo I	1
I.1 Enquadramento	2
I.2 Objetivos e estrutura da dissertação	6
Capítulo II	7
II.1 Introdução	8
II.2 Metodologia	9
II.2.1 Materiais	9
II.2.2 Métodos	10
II.3 Resultados e Discussão	11
II.4 Conclusão	17
Capítulo III	19
III.1 Introdução	20
III.2 Metodologia	22
III.2.1 Reagentes e materiais	22
III.2.2 Métodos	22
III.3 Resultados e Discussão	27
III.3.1 Linearidade	27
III.3.2 Sensibilidade	28
III.3.3 Precisão inter-dia	28
III.3.4 Precisão intra-dia	29
III.3.5 Taxa de Recuperação	29
III.3.6 Exatidão	29
III.3.7 Análise de amostras colhidas em ambiente hospitalar	30
III.4 Conclusão	31
Capítulo IV	32

IV.1 Considerações finais	33
Capítulo V	35
I. Referências Bibliográficas	36
Anexos	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Absorvância de diferentes concentrações de solução de quinina, determinada por espectrofotometria UV-Vis	12
Figura 2 - Absorvância de soluções de quinina (0,005 mol/L e 0,1 mol/L) e de três águas tônicas comercialmente disponíveis, determinada por espectrofotometria UV-Vis	13
Figura 3 - Inspeção visual de derrames propositadamente provocados por 1mL de água destilada (A - Branco) e 1mL de diferentes concentrações de quinina (B - 0,001 mol/L; C - 0,01 mol/L; D - 0,05 mol/L; E - 0,1 mol/L; F - 0,155 mol/L).	13
Figura 4 - Inspeção visual de derrames propositadamente provocados por 1mL de água destilada (A - Branco) e 1mL de diferentes águas tônicas comercialmente disponíveis [Marca 1 (Produtos 1, 2 e 3 – Figuras B, C, F)]; Marca 2 (Produto 1 – Figura D); Marca 3 (Produto 1 – Figura E)	14
Figura 5 - Detecção de derrames com água tônica sob luz UV, durante a simulação de manipulação	17
Figura 6 - Controlo positivo obtido por incidência de luz UV sobre saco para administração de fluídos intravenosos contendo água tônica	17
Figura 7 - Ilustração representativa da sala de receção da medicação, onde foram efetuadas colheitas de amostras (locais de colheita assinalados com círculos vermelhos).....	24
Figura 8 - Ilustração representativa da sala de apoio à manipulação (sala de validação e transferência; locais de colheita assinalados com círculos violeta) e sala de preparação de citotóxicos (locais de colheita assinalados com círculos verdes identificativos de colheita prévia à preparação de quimioterapia e círculos vermelhos identificativos de colheita posterior à preparação de quimioterapia)	24
Figura 9 - Cromatograma representativo dos padrões de calibração da ciclofosfamida HPLC-DAD (205nm)	27
Figura 10 - Curva de calibração da ciclofosfamida (n=6) e correspondente equação da reta e coeficiente de correlação linear (R^2)	28

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidades e percentagens de derrames resultantes de manipulação de água tónica realizada por Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica de Farmácia com formação e experiência em manipulação de citotóxicos	16
Tabela 2 – Locais e períodos de colheita de amostras no Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia, Espinho E.P.E.	25

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 - Questionário aplicado aos participantes no Trabalho Experimental 1	41
Anexo 2 - Informações e consentimento informado cedidos aos participantes do Trabalho Experimental 1	43
Anexo 3 - Parecer da Comissão de Ética do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, E.P.E. sobre a realização dos Trabalhos Experimentais 1 e 2	45
Anexo 4 - Estatísticas descritivas relativas às respostas dadas pelos participantes ao questionário relativo ao Trabalho Experimental 1	48
Anexo 5 - Poster apresentado na 4ª Reunião Internacional da Rede Académica das Ciências da Saúde da Lusofonia, Benguela (Angola), 2021	49
Anexo 6 - Resumo publicado no “Book of Abstracts IJUP’2022” [(p.60) ISBN: 978-989-746-329-7], na sequência da comunicação oral apresentada na Investigação Jovem da Universidade do Porto (IJUP), Porto, 2022	50

LISTA DE ABREVIATURAS

5-FU - 5 - Fluorouracilo

ASHP - *American Society of Health-System Pharmacists*

CISA - Centro de Investigação em Saúde e Ambiente

CV - Coeficiente de Variação

EPI - Equipamento de Proteção Individual

ESS - Escola Superior de Saúde

FDA - *Food and Drug Administration*

GC – Cromatografia gasosa

GC-MS - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

HPLC-DAD - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Detecção de Arranjo de Díodos

HPLC-UV - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Detecção Ultravioleta

ICP-MS - Espectrometria de Massa Acoplada a Plasma Indutivo

IPP - Instituto Politécnico do Porto

ISOPP - *International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*

LC - Cromatografia Líquida

LC-MS - Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa

LC-MS/MS - Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa Sequencial

LD - Limite de Detecção

LQ - Limite de Quantificação

MeOH - Metanol

MS - Espectrometria de Massa

MS/MS - Espectrometria de Massa Sequencial

NIOSH - *National Institute for Occupational Safety and Health*

OSHA - *Occupational Safety and Health Administration*

R^2 - Coeficiente de Correlação Linear

UE - União Europeia

UPLC - Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência

UPLC-MS/MS - Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria de Massa Sequencial

UV - Ultravioleta

UV/Vis - Ultravioleta/visível

Capítulo I

Introdução Geral

I.1 Enquadramento

No ano de 2020, em todo o mundo, foram diagnosticados cerca de 19,3 milhões de novos casos de cancro e registaram-se quase 10 milhões de mortes por cancro (1). Não obstante ser já a principal causa de morte nos países desenvolvidos e nos países sub-desenvolvidos, a tendência é para os números piorarem atendendo ao aumento e envelhecimento da população, bem como aos reconhecidos fatores de risco como o tabagismo, obesidade, inatividade física e alteração de padrões de reprodução devido à urbanização e desenvolvimento económico (2, 3). Para além disso, o diagnóstico das neoplasias é efetuado de forma cada vez mais precoce. Face ao exposto, e atendendo a que a quimioterapia é o tratamento de primeira linha para vários tipos de cancro, tem ocorrido um aumento da administração deste tipo de fármacos, existindo mais de 100 fármacos diferentes com indicações terapêuticas relacionadas com cancro. Desta forma, a exposição dos profissionais de saúde envolvidos na manipulação dos fármacos citotóxicos, imunoterápicos e anticorpos monoclonais tem também sido cada vez maior (4, 5).

Os fármacos citotóxicos comercializados sob a forma de soluções prontas para administração ou de pós (para posterior reconstituição em solução) requerem sempre manipulação individualizada para cada paciente antes da sua administração como infusões diretas ou bólus. Os fármacos utilizados em tratamentos de quimioterapia foram já amplamente caracterizados quanto ao seu potencial carcinogénico, teratogénico e mutagénico (4, 5). Com efeito, a ação farmacológica dos agentes citotóxicos que geralmente envolve algum dano genético nas células tumorais (nomeadamente afetando a capacidade de replicação celular e promovendo a apoptose), não é específica, podendo induzir o mesmo espectro de efeitos sobre as células não tumorais. Consequentemente, podem ser observados efeitos adversos graves nos indivíduos responsáveis pela preparação, transporte e administração da quimioterapia, bem como nos elementos responsáveis pela limpeza, lavagem e eliminação de resíduos hospitalares (4, 5). Apesar da extensa caracterização no âmbito da sua aplicação clínica, as relações dose-efeito quanto ao potencial carcinogénico, mutagénico e teratogénico dos fármacos citotóxicos para concentrações muito inferiores às terapêuticas não estão igualmente bem documentadas. Uma vez que os fármacos citotóxicos são geralmente caracterizados por elevada eficácia, perspetiva-se que a exposição, mesmo em pequenas doses, possa originar efeitos nefastos para a saúde dos indivíduos, especialmente se esta exposição for reiterada (4, 6). Foram já descritos em vários estudos múltiplos efeitos adversos associados à exposição ocupacional aos fármacos citotóxicos, destacando-se entre os efeitos secundários agudos, as tonturas,

náuseas, dores de cabeça, dermatite e desregulação hormonal; e entre os efeitos secundários crónicos os danos a nível renal, hepático, pulmonar e cardíaco, os efeitos negativos na reprodução, nomeadamente a infertilidade e limitações e alterações no desenvolvimento fetal (abortos, malformações, entre outros), deficiência auditiva e cancro (5, 7-14).

Vários autores assumem que são os enfermeiros, os farmacêuticos e os técnicos de farmácia, aqueles que se deparam com um maior risco de exposição (5, 15). Este risco é resultante da possível formação de aerossóis e inalação de ar contaminado, por contacto transdérmico com superfícies, materiais ou equipamentos contaminados e ainda por lesões originadas por picagens acidentais com agulhas (4). Considerando a adoção de procedimentos preventivos e a utilização de equipamentos que aumentam a segurança dos profissionais, a via de exposição mais frequente e mais problemática é a via transdérmica (6, 16).

Tendo em conta as consequências potenciais da exposição ocupacional aos fármacos citotóxicos, várias organizações como a *International Society of Oncology Pharmacy Practitioners* (ISOPP), a *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) e a *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) recomendam a adoção de vários procedimentos preventivos no âmbito da manipulação, armazenamento e transporte de fármacos citotóxicos. De entre as várias recomendações, podem destacar-se: (i) a publicação de uma lista identificativa dos fármacos citotóxicos; (ii) a existência de instalações próprias para reconstituição estéril de citotóxicos em câmaras de fluxo laminar verticais do tipo IIB ou de isoladores; (iii) o uso de dispositivos especiais para a reconstituição e administração de fármacos citotóxicos e o uso de equipamento proteção individual (EPI) por parte dos profissionais; (iv) a monitorização periódica de contaminação química e microbiológica e procedimentos escritos e aprovados para efeitos de preparação e administração de fármacos citotóxicos; (v) a limpeza das salas, manuseamento de resíduos e modo de atuação em caso de derrame, extravasamento e/ou outros incidentes; (vi) e a realização regular de atividades de formação, treino e avaliação dos profissionais que manipulam fármacos citotóxicos (17-19). Particularmente a propósito deste último ponto, é fundamental que se realize formação e treino em manipulação de fármacos citotóxicos, antes do início de atividade nesta área, e que a competência e preparação dos profissionais seja avaliada. Adicionalmente, e numa base periódica, é recomendável que os profissionais sejam avaliados quanto aos procedimentos adotados no âmbito da manipulação de fármacos citotóxicos (17-20). Os cursos formativos que os profissionais realizam no âmbito da preparação de fármacos citotóxicos devem incluir treino de assepsia rigorosa, técnicas de pressão negativa (relativas à manipulação de frascos-

ampola em que é necessária a gestão da pressão no seu interior quando manipulados com agulha), bem como controlos de engenharia primários (nomeadamente as câmaras de fluxo laminar), secundários (relativos às salas onde decorre a manipulação, e onde se encontram os controlos de engenharia primários) e suplementares (tais como os sistemas de transferência fechados e seringas *luer-lock*). Após a realização da formação e treino, os profissionais devem ser alvo de avaliação. Podem ser ainda realizados treinos adicionais, sempre que se considere necessário, como por exemplo em casos de receção de novos equipamentos, novos fármacos, ou caso surjam novos procedimentos. Todos os testes de treino e avaliação devem ser claramente documentados como parte do registo de segurança do trabalhador (17). A formação facultada aos profissionais que trabalham com fármacos citotóxicos deve ser adaptada para as necessidades do indivíduo após a consideração da descrição do trabalho, o nível de educação anterior e as suas responsabilidades e funções específicas. Recomenda-se que a formação seja contínua, com a frequência de cursos, seminários, simpósios, ou outros eventos de cariz técnico-científico, repetida, no mínimo, anualmente, permitindo a cobertura da introdução de novos fármacos e a introdução ou alteração de qualquer técnica (20).

O treino em manipulação de fármacos citotóxicos pode dar importantes indicações dos equipamentos e superfícies que, dentro da câmara de fluxo laminar onde ocorre a preparação, possam estar mais contaminados. Não obstante, para uma real identificação das superfícies e equipamentos em que a deposição de resíduos de citotóxicos é mais provável, foram já descritos vários métodos que visam a colheita de amostras e a sua posterior análise (6, 21-23). A técnica de amostragem por limpeza (*"wipe sampling"*) tem sido a mais frequentemente utilizada, sendo caracterizada pela sua simplicidade, eficácia e ampla abrangência de citotóxicos que permite recolher (24). Já no que diz respeito a métodos analíticos a que se recorre para a deteção de vestígios de fármacos citotóxicos, existe uma grande diversidade de métodos descritos, incluindo a espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS), cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS) (23), cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS) (25) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a deteção de arranjo de díodos (HPLC-DAD) (6). A importância da realização deste tipo de análises reside não só na possibilidade de identificação de superfícies mais propensas a serem contaminadas, mas também na possibilidade de comparar procedimentos de limpeza no interior das salas de manipulação que se venham a provar mais eficazes e que consequentemente limitem a acumulação de resíduos e a consequente exposição ocupacional dos profissionais aos agentes citotóxicos (26). Face ao elevado número de fármacos citotóxicos alvo de manipulação, os estudos

realizados têm desenvolvido e validado métodos específicos para alguns dos fármacos mais habitualmente manipulados nas farmácias hospitalares. Alguns dos estudos mais recentes, recorrendo a métodos de espectrometria de massa (MS), permitiram a deteção simultânea de 7 (27), 10 (28), 13 (29) e 23 (30) compostos citotóxicos. Nos quatro estudos referidos, os fármacos ciclofosfamida, o etopósido e a ifosfamida foram sempre contemplados nos métodos analíticos desenvolvidos. Estudos que analisaram um número mais restrito de compostos, pesquisaram a presença de resíduos de ciclofosfamida (25, 31), ciclofosfamida e ifosfamida (22), 5-fluorouracilo (5-FU), ciclofosfamida e doxorrubicina (32) e 5-FU, ciclofosfamida e paclitaxel (6, 21). Verifica-se, uma vez mais, que a ciclofosfamida é um fármaco habitualmente contemplado na avaliação da deposição de citotóxicos em salas de manipulação.

De acordo com as recomendações do Parlamento Europeu, apesar de existirem diferentes normativas e documentos técnicos sobre recomendações quanto a manipulação de citotóxicos, no mínimo, os países membros da União Europeia (UE), devem seguir as regras da (ISOPP (33). Em Portugal, para além do acesso às diferentes diretrizes internacionais [incluindo as da ISOPP, (17)], é possível consultar um documento redigido em português, o “Manual de Preparação de Citotóxicos do Conselho do Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar” (34). Tal como nas normas ISOPP, também aqui é referido que o recurso a soluções fluorescentes é adequado para efetuar treino e avaliação das práticas de manipulação de citotóxicos, sendo reconhecida a importância do desenvolvimento de procedimentos de amostragem e de métodos analíticos sensíveis para detetar alguns dos fármacos citotóxicos mais comumente usados. Tal como anteriormente referido, os fármacos mais comumente recomendados para serem amostrados como marcadores da contaminação geral das superfícies incluem, segundo as normas ISOPP, a ciclofosfamida, ifosfamida, 5-FU, metotrexato, paclitaxel, doxorrubicina e medicamentos contendo platina, como cisplatina e carboplatina (17), e de acordo com o Manual de Preparação de Citotóxicos do Conselho do Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar, o 5-FU, a ifosfamida e a ciclofosfamida, (34).

I.2 Objetivos e estrutura da dissertação

Considerando a importância do desenvolvimento de metodologias analíticas para monitorizar e melhorar as práticas de manipulação segura de fármacos citotóxicos, com o trabalho experimental desenvolvido na presente dissertação pretendeu-se:

(i) desenvolver e avaliar um método seguro, eficaz e de baixo custo, para efeitos de treino e aferição da manipulação segura de fármacos citotóxicos por parte de profissionais de farmácia hospitalar;

(ii) avaliar as práticas de manipulação de fármacos citotóxicos adotadas por parte dos profissionais de farmácia hospitalar, identificando os materiais e as práticas mais propensas a derrames;

(iii) validar um método para a monitorização analítica de derrames de ciclofosfamida por HPLC-DAD;

(iv) analisar a disseminação de ciclofosfamida em espaços em que o fármaco é alvo de receção e de manipulação, num hospital público do Norte de Portugal.

Para concretizar estes objetivos realizaram-se dois trabalhos experimentais distintos e, por este motivo, esta dissertação encontra-se dividida em cinco secções:

Capítulo I – correspondente à introdução geral, plasmada no presente capítulo, e que permite compreender as motivações para o tema escolhido, a definição dos objetivos e a estrutura da dissertação.

Capítulo II (Trabalho experimental 1) – correspondente ao desenvolvimento e avaliação de um método para treino e aferição da manipulação de fármacos citotóxicos por parte de profissionais de farmácia (Estudos A a C) e à avaliação das práticas de manipulação de fármacos citotóxicos adotadas por parte dos profissionais de farmácia (Estudo D).

Capítulo III (Trabalho experimental 2) – correspondente à validação de um método de amostragem por limpeza com posterior análise por HPLC-DAD para deteção de resíduos de ciclofosfamida (Estudo III) e realização de prova de conceito com aplicação num hospital do Norte de Portugal (Estudo IV).

Capítulo IV – correspondente à conclusão integrada da dissertação, respondendo aos objetivos previamente elencados e apresentando perspetivas de trabalhos futuros.

Capítulo V – correspondente às referências bibliográficas.

Capítulo II

Trabalho Experimental 1

II.1 Introdução

A realização de treino e avaliação dos profissionais, na manipulação de citotóxicos, é considerada como fundamental, de acordo com grande parte das linhas orientadoras. Uma revisão sistemática que analisou os artigos e documentos publicados entre setembro de 2004 e janeiro de 2017, por vários investigadores e organizações, sobre a manipulação segura de fármacos perigosos, verificou que 38 dos 61 documentos incluídos abordavam questões relacionadas com o treino do pessoal, sendo o segundo tópico mais frequentemente abordado (após a preparação de fármacos, abordada em 41 dos documentos incluídos) (35). Algumas das principais organizações que publicaram documentos sobre a manipulação de fármacos citotóxicos como por exemplo, a ISOPP (17), a OSHA (18) e a *American Society of Health-System Pharmacists* (ASHP) (20), consideram que as entidades empregadoras devem obrigatoriamente garantir o treino dos profissionais que manipulam os citotóxicos previamente à sua introdução na manipulação e com uma periodicidade mínima de um ano, quando em funções. A exposição dos profissionais pode decorrer devido à inalação de aerossóis, contactos com derrames ou respingos de líquidos e ferimentos por picada de agulha (17). Apesar de não se encontrarem descritas exatamente as práticas que devem ser alvo de treino durante a preparação para a manipulação, parece razoável que se incluam análises de derrames de líquidos e se efetuem treinos de manipulação com agulhas. Estudos prévios em que se avaliaram as práticas de manipulação concluíram que os maiores derrames decorreram da remoção da agulha dos frascos-ampola após aspiração dos fármacos citotóxicos (36). Não obstante, será também importante avaliar os profissionais na manipulação com sistemas de libertação de pressão (vulgarmente designados de “*spikes*”). Destinados a impedir a disseminação de aerossóis, estes dispositivos são classificados como “sistemas fechados de transferência de fármacos”. A utilização destes dispositivos em alternativa às agulhas garante menor risco de punção do operador, maior facilidade na gestão da pressão negativa no interior do frasco-ampola, maior eficiência na aspiração dos fármacos e menor probabilidade de aerossolização dos agentes citotóxicos (37, 38). Uma das práticas também frequentemente associada a maior probabilidade de derrames consiste na transferência dos fármacos citotóxicos para os sacos de perfusão vazios, ou contendo diluentes como soro fisiológico ou glicose a 5% (39). Por essa razão, é recomendável a utilização de compressas entre as zonas de conexão das seringas e os sistemas de transferência introduzidos nos sacos de perfusão (18).

No âmbito da simulação da contaminação das salas de preparação de fármacos citotóxicos, têm sido utilizados marcadores fluorescentes (17). Para o efeito, pode

recorrer-se a soluções coradas contendo substâncias como a fluoresceína ou a soluções que exibem fluorescência sob luz ultravioleta (UV), como as soluções de quinina (40). Estes testes visam analisar a possível localização da contaminação no decurso da manipulação dos operadores e se necessário, estabelecer e garantir a eficiência de medidas corretivas simples destinadas a preservar o meio ambiente e a segurança dos profissionais (39, 40). Neste contexto, o teste de quinina tem sido recomendado para efeitos de identificação da origem de contaminações por fármacos citotóxicos durante a sua manipulação. Este teste consiste na avaliação da fluorescência de cloridrato de quinina, sob luz UV. Uma vez que o padrão analítico de cloridrato de quinina, de elevada pureza, nem sempre está imediatamente acessível e tem um custo considerável, o objetivo do presente estudo foi adaptar o teste de quinina recorrendo à avaliação de fluorescência de uma solução de água tônica, mais amplamente disponível e económica, e aplicar este teste qualitativo no despiste da possível disseminação e deposição em superfícies, decorrentes de práticas incorretas durante a manipulação dos fármacos citotóxicos.

II.2 Metodologia

II.2.1 Materiais

Para a realização deste trabalho foi utilizada uma solução de cloridrato de quinina (250 mg/mL) (Labesfal, Portugal); utilizou-se um espectrofotómetro ultravioleta/visível (UV/Vis) da marca VWR (UV-3100PC) e cuvetes de quartzo (VWR) e cuba de ultrassons da marca Sonorex. Foi ainda utilizada água tônica de três marcas distintas disponíveis comercialmente, num total de cinco amostras - três de uma mesma marca comercial e outras duas de duas marcas comerciais distintas. Para a avaliação dos derrames com cloridrato de quinina, que a seguir se descreve, recorreu-se a luz UV de 300nm-400nm (BeamZ), campo de trabalho apropriado para efeitos de manipulação de citotóxicos (Chemoprotect), agulhas 19G (BD), mini-spike (B Braun), seringas luer-lock de 30 mL (B Braun), sistemas de transferência de líquidos Cyto-Set (B Braun), sacos para perfusão de 250 mL (Hospira) e compressas esterilizadas (Bastos e Viegas).

II.2.2 Métodos

Para avaliar a adequação da solução de água tônica para realização de testes qualitativos de derrames e consequentemente das práticas de manipulação de fármacos citotóxicos, foram realizados quatro estudos, que a seguir se descrevem.

Estudo A – Efetuou-se a análise espectrofotométrica UV/Vis de três diferentes marcas de água tônica, comercialmente disponíveis (após degaseificação em cuba de ultrassons, por 15 minutos, à temperatura ambiente), bem como de sete soluções de quinina (concentrações de 0,0005 mol/L; 0,001 mol/L; 0,005 mol/L; 0,01 mol/L; 0,05 mol/L; 0,1 mol/L; 0,155 mol/L). As soluções de quinina foram preparadas por diluições sucessivas da solução stock de cloridrato de quinina (250 mg/mL) e recorreu-se a espectrofotômetro UV/Vis, para a determinação da absorvância. Foram efetuadas determinações em triplicado, para onze diferentes comprimentos de onda, com intervalos de 20 nm, entre 300 nm e 500 nm.

Estudo B - No âmbito da realização da comparação qualitativa da fluorescência exibida pela água tônica de diferentes marcas e diferentes produtos, foram comparadas as fluorescências exibidas por derrames provocados por 1mL de solução aquosa de cloridrato de quinina de cinco diferentes concentrações (0,001mol/L; 0,01mol/L; 0,05 mol/L; 0,1 mol/L; 0,155 mol/L), com as fluorescências exibidas por derrames de 1 mL de água tônica (foram testados três produtos da marca 1; um produto da marca 2; um produto da marca 3), sob luz UV de 300 nm-400 nm, em campo de trabalho. As soluções de quinina foram obtidas por diluições sucessivas da solução stock de cloridrato de quinina (250 mg/mL). Destaque-se que o produto 3 da marca 1, corresponde a uma água tônica com corantes, apresentando-se com uma coloração rosa. Assim, apesar de ser proveniente do mesmo produtor (marca 1), não corresponde ao mesmo produto de uma unidade de produção diferente, tal como habitualmente se distinguem os lotes.

Estudo C – Os profissionais que foram avaliados quanto ao aparecimento de derrames em função da manipulação (no Estudo D, descrito abaixo), responderam a um questionário constituído por oito questões relativas à adequação percebida do teste de manipulação em que participaram (Anexo I). Os participantes foram informados oralmente e por escrito quanto aos objetivos do questionário, e consentiram livremente (Anexo II). Não foram colocadas quaisquer perguntas pessoais ou que permitissem a posterior identificação dos participantes, sendo assegurado o seu anonimato. O consentimento assinado também previa a participação no Estudo D, sendo os

participantes informados oralmente e por escrito quanto aos objetivos da atividade e quanto ao protocolo procedimental. A realização do estudo foi aprovada pela Comissão de Ética do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, E.P.E. (Documento aprovado nº 79/2021) (Anexo III). As perguntas tiveram em conta as recomendações de várias diretrizes sobre a educação e avaliação no âmbito da manipulação de citotóxicos que referem que a avaliação deve ocorrer antes do início de funções e com uma periodicidade mínima de um ano (questões 6 e 7) (20, 41) e que o treino e avaliação deve decorrer da forma mais realista quanto possível, sem recorrer a fármacos citotóxicos (questões 4 e 5) (34).

Estudo D - No sentido de avaliar os procedimentos de manipulação de profissionais com formação e treino na área de manipulação de citotóxicos, foi analisada a presença de vestígios de fluorescência exibida por água tônica durante e após a manipulação. Foram incluídos no presente estudo doze técnicos superiores de Farmácia, que efetuaram a preparação de um total de 24 sacos de infusão contendo água tônica (2 sacos de infusão por operador), resultantes de um total de 48 manipulações (divididas em procedimentos de aspiração do frasco contendo a água tônica e procedimentos de aditivação no saco de infusão). Foram avaliadas 288 superfícies de materiais e equipamentos quanto à presença de água tônica durante e após a manipulação. Para efeitos de comparação, na realização da aspiração das soluções, metade das preparações foram executadas com spike, e metade das preparações foram executadas com agulha. Ao longo da avaliação, os profissionais podiam, caso detectassem, denunciar a ocorrência de derrames, permitindo assim a comparação da avaliação feita pelo profissional com a avaliação feita pelo investigador.

II.3 Resultados e Discussão

De acordo com estudos anteriores sobre a realização de treino e avaliação com a solução de quinina (39, 40), para efeitos de verificação de derrames (quer da solução original, quer da solução diluída), deve ser testada a simulação de uma aspiração de 2 mL de uma solução de quinina 0,1 mol/L e transferência para um saco de soro fisiológico, resultando numa concentração final de 0,04 mol/L. A fluorescência da solução de quinina sob luz UV com comprimento de onda compreendido entre os 300 nm e os 420 nm foi confirmada, em concentrações compreendidas entre 0,0005 mol/L e 0,155 mol/L (Figura 1).

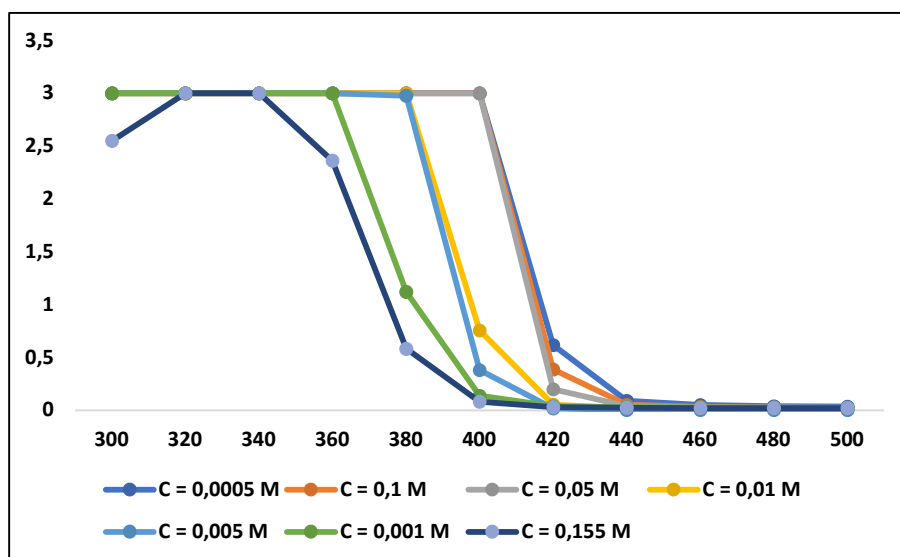


Figura 1 - Absorvância de diferentes concentrações de solução de quinina, determinada por espectrofotometria UV-Vis

No presente estudo, não se realizou a diluição da solução original porque se executou a transferência da água tônica para um saco para administração intravenosa vazio (procedimento idêntico ao realizado na manipulação de fármacos citotóxicos não sujeitos a diluição prévia à administração intravenosa, tal como doxorrubicina e nab-paclitaxel). Com a realização do trabalho descrito no presente estudo garantiram-se menos custos associados ao procedimento porque: (i) a água tônica é mais económica do que a solução concentrada de quinina comercialmente disponível e (ii) a utilização de saco vazio para administração intravenosa é mais económica do que a utilização de sacos de soro fisiológico. Não obstante, todos os procedimentos realizados são idênticos em ambos os casos (a diluição em saco de soro fisiológico é idêntica à transferência para saco vazio, não aportando riscos acrescidos de derrame). No âmbito da realização do Estudo A, foi possível confirmar a deteção da fluorescência exibida por três marcas distintas de água tônica, entre 300 nm e 400 nm. No entanto, e apesar da relativa homogeneidade entre as diferentes águas tônicas testadas, os correspondentes valores de absorvância foram inferiores aos registados com as soluções de quinina nas concentrações de 0,1 mol/L e 0,05 mol/L (Figura 2).

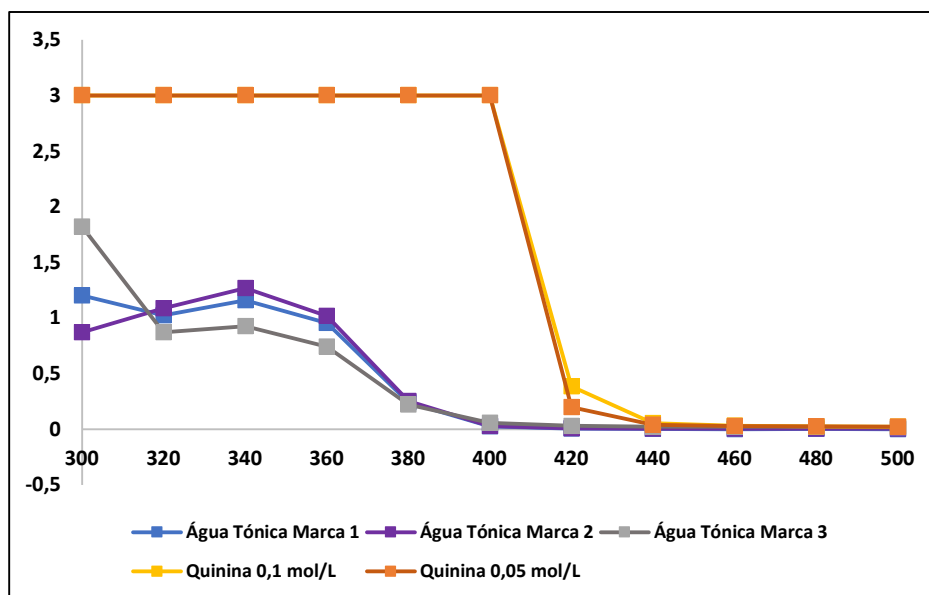


Figura 2 - Absorvância de soluções de quinina (0,005 mol/L e 0,1 mol/L) e de três águas tônica comercialmente disponíveis, determinada por espectrofotometria UV-Vis

Tal como esperado, os derrames provocados por soluções de quinina exibiram fluorescência, sob luz UV. Uma observação interessante foi que, aparentemente, a solução de quinina com uma concentração intermédia de 0,01 mol/L, apresentava maior fluorescência comparativamente às restantes concentrações testadas (Figura 3).

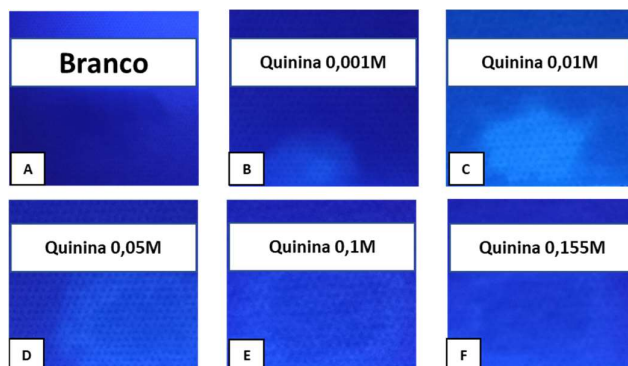


Figura 3 - Inspeção visual de derrames proposadamente provocados por 1mL de água destilada (A - Branco) e 1mL de diferentes concentrações de quinina (B - 0,001 mol/L; C - 0,01 mol/L; D - 0,05 mol/L; E - 0,1 mol/L; F - 0,155 mol/L).

Os resultados obtidos no Estudo A sugeriram que derrames obtidos com água tônica seriam visíveis sob a luz UV, no comprimento de onda 300-400 nm, o que se veio a verificar no Estudo B (Figura 4). Salienta-se que os resultados da marca 1, produto 3, foram negativos, não sendo assim obtida fluorescência no derrame provocado por 1mL de água tônica contendo antocianinas de cenoura e de cártamo (Figura 4, “Marca 1, Lote 3”). Servindo como controlo negativo, foi possível ainda confirmar que o derrame de 1mL de água destilada (Figura 4A “Branco”), não apresentou fluorescência sob luz UV.

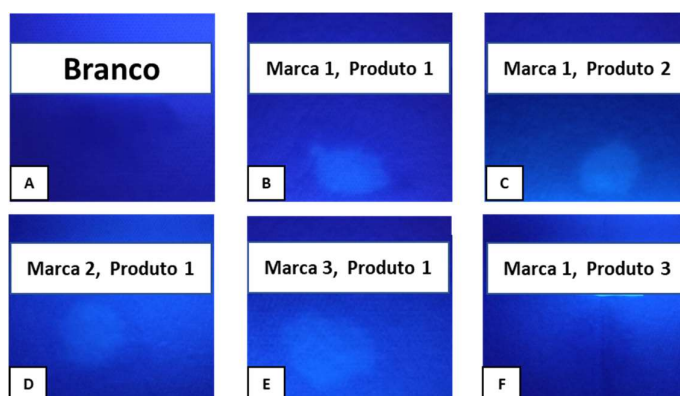


Figura 4 - Inspeção visual de derrames propositadamente provocados por 1mL de água destilada (A - Branco) e 1mL de diferentes águas tónicas comercialmente disponíveis [Marca 1 (Produtos 1, 2 e 3 – Figuras B, C, F)]; Marca 2 (Produto 1 – Figura D); Marca 3 (Produto 1 – Figura E)

Tal como anteriormente referido, em cumprimento das recomendações das várias organizações, tais como a ISOPP (17), a ASHP (20) e a OSHA (18), é importante garantir-se a realização de treino e avaliação na manipulação de citotóxicos. Naturalmente que, no início do treino prático, as preparações devem ser feitas da forma mais realista possível, com medicamentos simulados, incluindo produtos específicos para formação (como produtos fluorescentes, corados, por exemplo), em detrimento de fármacos citotóxicos. Os produtos possíveis para simulação de manipulação, corados ou fluorescentes, incluem a quinina e a fluoresceína. A fluoresceína, apesar de apresentar maior sensibilidade em comparação com outros marcadores fluorescentes, é inconvenientemente visível (solução amarelo-alaranjada). Assim, o operador pode ser influenciado e condicionado durante o processo de validação (40). Já a quinina não é tóxica e é solúvel em água, sendo invisível a olho nu, mas fácil de detetar sob radiação UV, com uma elevada sensibilidade (42, 43). No entanto, em Portugal, não existem soluções com quinina comercializadas especificamente para a simulação de manipulação de citotóxicos. Assim, a alternativa reside na utilização de soluções comercializadas para propósitos clínicos. Em Portugal, a única preparação líquida de

quinina utilizada em ambiente clínico são as ampolas contendo 2 mL de solução de quinina com uma concentração de 250 mg/mL. Acrescente-se que a aquisição destas ampolas implica a apresentação de receita médica restrita. Face ao seu elevado custo e à dificuldade em termos de acessibilidade, é improvável que sejam rotineiramente utilizadas em ambiente hospitalar para efeitos de simulação, treino e avaliação de manipulação de fármacos citotóxicos. Desta forma, a utilização de um produto comercialmente disponível e de fácil acesso confere uma vantagem adicional.

No âmbito da avaliação percebida pelos participantes no estudo, foram analisadas as respostas pelos participantes ao questionário (Estudo C) (Anexo IV).

Apesar do número reduzido de participantes que responderam ao questionário (n=12), a amostra é superior a estudos previamente publicados (n=10) (39). Foi possível verificar que, maioritariamente, os participantes consideraram a atividade de fácil e simples realização para o operador e para o avaliador; eficiente; exequível quanto à disponibilidade dos materiais; similar aos trabalhos executados no âmbito da real preparação de citotóxicos; adequada para efeitos de iniciação à preparação de citotóxicos e para efeitos de avaliação periódica dos operadores, bem como para reconhecer os locais mais suscetíveis de contaminação. Face aos procedimentos habitualmente realizados no âmbito da preparação de citotóxicos, e em consonância com os estudos semelhantes previamente publicados, o presente estudo contemplou a aspiração de soluções dos frascos-ampola, a conexão da seringa de aspiração a sistema de transferência de líquidos e a aditivação do saco de perfusão com a solução de teste de cloridrato de quinina (36, 39, 40). Acrescente-se que se justifica testar a aspiração do fármaco com agulha por ser considerada uma das práticas associadas a maior probabilidade de derrame (36).

A aplicação dos testes de fluorescência com água tônica a 12 participantes voluntários permitiu, uma vez mais, confirmar a adequação do teste sugerido no presente estudo. Verificou-se que sete dos participantes (58%) tiveram derrames resultantes dos seus procedimentos de manipulação, em onze das 288 superfícies totais avaliadas (4%) (Tabela 1). Estes resultados são semelhantes aos previamente publicados por Baussant *et al.* (39), em que oito dos dez profissionais avaliados apresentara derrames decorrentes dos atos de manipulação.

Tabela 1 - Quantidades e percentagens de derrames resultantes de manipulação de água tônica realizada por Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica de Farmácia com formação e experiência em manipulação de citotóxicos

Incidência		Casos	Total	%
Nº de profissionais com derrames identificados		7	12	58,3
Nº de superfícies contaminadas (total)		11	288	3,8
Agulha vs. Spike	Nº de profissionais com derrames identificados em manipulação com agulha	5	12	41,7
	Nº de profissionais com derrames identificados em manipulação com spike	2	12	16,7
	Nº de superfícies contaminadas na manipulação com agulha	9	144	6,3
	Nº de superfícies contaminadas na manipulação com spike	2	144	1,4
Materiais alvo de contaminação	Campo	4	11	36,4
	Compressas	4	11	36,4
	Frasco	3	11	27,3
Tipo de procedimento	Derrames em atos de aspiração	6	24	25,0
	Derrames em atos de transferência para o saco de infusão	1	24	4,2

A manipulação com recurso a agulha, considerada mais perigosa pela maior probabilidade de libertação de aerossóis (não avaliados no presente estudo), maior dificuldade na gestão da pressão no interior do frasco-ampola e pelo risco de punção para o operador (43), também resultou em maior número de derrames (observada em 5 dos profissionais, 42%), do que a manipulação com recurso a sistema de libertação de pressão (“spike”) (observada apenas em 2 dos profissionais, 17%). Estes resultados sugerem a necessidade de se evitar, sempre que possível, a utilização de agulhas na manipulação de fármacos citotóxicos. Os derrames de água tônica detetados dividiram-se em derrames no frasco de água tônica (n=3, 27%), derrames no campo de trabalho (n=4, 36%) e derrames nas compressas (n=4, 36%) (Figura 5). De acordo com a OSHA, “uma gaze esterilizada deve ser enrolada à volta das agulhas e da tampa do frasco ao retirar a solução” (18). A colocação de compressas entre a luva do operador e zonas de conexão (agulha/“spike” e frasco; seringa e sistema de administração de líquidos) foi

invariavelmente cumprida pelos participantes e revelou-se muito importante para evitar a passagem de resíduos de água tônica para as luvas dos operadores. No âmbito do revestimento da base das câmaras de fluxo laminar onde decorrem os procedimentos de manipulação revela-se importante a utilização de campos de trabalho designadamente criados para absorção de derrames de citotóxicos que limitam a sua passagem, deposição e acumulação no local de manipulação.

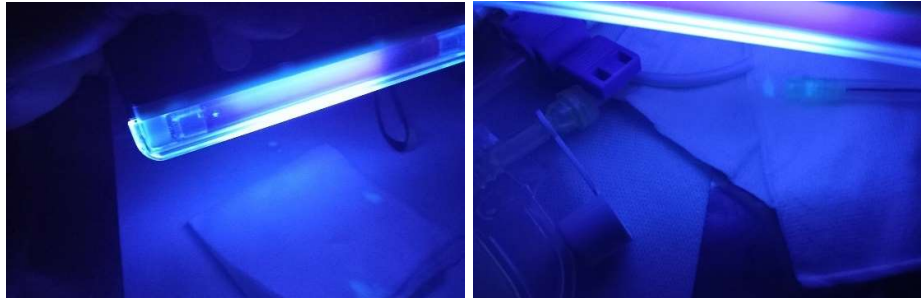


Figura 5 - Detecção de derrames com água tônica sob luz UV, durante a simulação de manipulação

A transferência da água tônica para o saco vazio para administração de soluções intravenosas, garante a existência de um controlo positivo para confirmação da fluorescência (Figura 6). Torna-se assim possível dissipar quaisquer dúvidas quanto a possíveis resultados falsos negativos por ausência de fluorescência da água tônica adquirida.

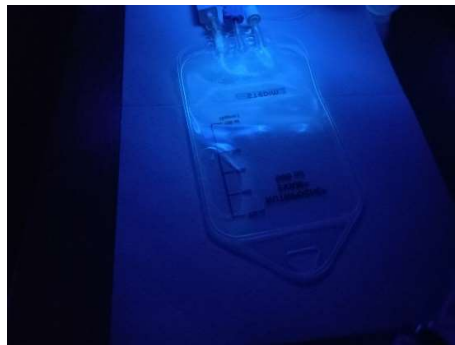


Figura 6 - Controlo positivo obtido por incidência de luz UV sobre saco para administração de fluídos intravenosos contendo água tônica

II.4 Conclusão

O presente trabalho experimental permitiu demonstrar a adequação da utilização da água tônica para efeitos de treino e de avaliação de profissionais e de práticas de

manipulação de citotóxicos, uma vez que após incidência de luz UV, a fluorescência exibida pela água tônica e por diferentes soluções de quinina são visualmente idênticas e claramente distintas do derrame com soro fisiológico. A fluorescência exibida pela água tônica sob luz UV foi confirmada por espectrofotometria e a similaridade de absorvância de diferentes marcas confirma a utilidade da água tônica comercialmente disponível para o propósito de avaliação de manipulação, desde que não contenham corantes que possam interferir na determinação. A utilização de água tônica em detrimento de soluções de quinina resulta numa alternativa viável e menos dispendiosa. Confirmou-se a ocorrência frequente de derrames e a importância do uso de EPI, de “spike” em detrimento de agulha (sempre que possível), e do recurso a compressas pelo operador como forma de proteção individual em todas as ações de aspiração e transferência de soluções contendo citotóxicos.

Capítulo III

Trabalho Experimental 2

III.1 Introdução

Os fármacos citotóxicos são geralmente considerados perigosos. Conforme o seu mecanismo de ação, podem ser cancerígenos, teratogénicos e mutagénicos (26). Estes fármacos são diariamente manipulados por profissionais de saúde, que deste modo se expõem a estes fármacos, tal como comprovado através da análise de amostras de urina destes indivíduos, bem como através da ocorrência de genotoxicidade. De facto, a associação entre a manipulação e administração de fármacos citotóxicos e o cancro ou o desenvolvimento de efeitos teratogénicos a nível reprodutivo, é robusta (5).

A contaminação provocada por estes resíduos de fármacos citotóxicos pode ocorrer por diferentes vias: através da inalação, ingestão oral ou por via dérmica. A ingestão é descrita como a via de menor risco. A inalação, pela formação do aerossol, é minoritária e muito reduzida pela utilização de câmara de fluxo laminar (16, 17). A exposição profissional parece ocorrer preferencialmente por via dérmica, resultante da manipulação direta de frascos e sacos, dos fármacos, ou contacto com superfícies e equipamentos contaminados (44). O processo de contaminação superficial pode acontecer através da transferência do fármaco citotóxico que se encontra nas mãos contaminadas de onde, por sua vez, pode transferir-se para outras superfícies, contaminando outros trabalhadores. Por este motivo, a monitorização ambiental periódica da contaminação por estes fármacos é essencial para garantir a segurança do ambiente de trabalho e consequentemente dos profissionais de saúde envolvidos na sua manipulação.

Sendo assim, para garantir a segurança dos operadores, para além de monitorizar os níveis dos fármacos nos fluidos biológicos (urina/sangue), pode-se monitorizar regularmente as superfícies de trabalho através da quantificação dos fármacos nas superfícies mais propícias à exposição.

Estudos prévios identificaram resíduos de fármacos citotóxicos em diferentes locais da sala de preparação (câmara de fluxo laminar, maçaneta da porta de acesso à sala de preparação, máquina de reembalamento e intercomunicadores), bem como em diferentes superfícies e equipamentos da sala de apoio à manipulação (telefone, ratos e teclados de computadores, maçanetas de transferes, tabuleiros de colocação de fármacos e materiais e mesas de registos) (6, 21, 26, 45). Adicionalmente, a presença de fármacos citotóxicos nas cartonagens e faces externas dos frascos dos fármacos rececionados nos serviços farmacêuticos também já foi demonstrada, sugerindo a potencial contaminação das áreas de receção e armazenamento (46, 47)

A monitorização através da técnica de amostragem por compressa, pode ser útil para pesquisar mecanismos de libertação e dispersão dos fármacos citotóxicos, identificando possíveis fontes e vias de exposição. A monitorização da contaminação de superfícies também pode servir como um parâmetro de controlo e melhoria das medidas de proteção e de equipamento, bem como para apurar os melhores métodos de limpeza das zonas de manipulação de fármacos citotóxicos – agentes a selecionar e respetiva concentração e tempo de contacto mínimo com as superfícies (6, 26, 44).

Para garantir a limpeza das superfícies, são necessárias estratégias analíticas que permitam quantificar níveis muito baixos de fármacos citotóxicos, exigindo assim metodologias de elevada sensibilidade. Para esse fim, tem-se recorrido com sucesso a alguns métodos analíticos cromatográficos [como a cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida (LC), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC) em combinação com MS ou espectrometria de massa sequencial (MS/MS)]. Entre os métodos referidos, a LC-MS/MS (cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa sequencial) tem sido o método de eleição para análise da maioria dos fármacos antineoplásicos, não exigindo a derivatização dos compostos, como acontece com os métodos de GC. A ICP-MS é uma alternativa que se tem revelado útil para analisar a presença de fármacos à base de platina (48, 49).

A propósito da ciclofosfamida, deve acrescentar-se que é um dos fármacos citotóxicos mais habitualmente monitorizados no âmbito da contaminação de superfícies. Alguns exemplos de estudos prévios que recorreram à técnica de amostragem com compressas monitorizaram ciclofosfamida, citarabina, gemcitabina, metotrexato, etoposido, ifosfamida, irinotecano, doxorrubicina, epirubicina e vincristina, seguindo-se análise por LC-MS/MS (28, 50), ciclofosfamida, 5-FU, doxorrubicina, epirubicina, ifosfamida e gemcitabina com análise por UPLC-MS/MS (51), ciclofosfamida e ifosfamida por GC-MS e 5-FU por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a deteção ultravioleta (HPLC-UV) (52), ciclofosfamida, ifosfamida, citarabina, dacarbazina, docetaxel, paclitaxel, doxorrubicina, epirubicina, etoposido, 5-FU, gemcitabina, irinotecano, metotrexato e pemetrexedo por LC-MS/MS (49), ciclofosfamida e ifosfamida por GC-MS e 5-FU e metotrexato por HPLC-UV (53), ciclofosfamida, 5-FU e doxorrubicina por LC-MS/MS (32), e ciclofosfamida, paclitaxel e 5-FU por HPLC-UV (6, 21). A ciclofosfamida foi também já utilizada como marcador substituto de todos os medicamentos citotóxicos em estudos de avaliação de contaminação de superfícies durante a manipulação destes fármacos (54).

O presente estudo visou validar um método analítico para a avaliação da presença de ciclofosfamida na superfície de três salas diferentes de um hospital do norte de Portugal, nas quais são recebidos ou manipulados fármacos citotóxicos.

III.2 Metodologia

III.2.1 Reagentes e materiais

Os reagentes utilizados no presente estudo possuíam grau analítico e apresentavam o maior grau de pureza comercialmente disponível. A ciclofosfamida - [(N,N-bis(2-chloroethyl) tetrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-2-amine-2-oxide monohydrate)], foi adquirida na Sigma – Aldrich (Portugal). O metanol (MeOH) (grau de pureza 99,9%, adequado para análise em HPLC) e o acetonitrilo – (grau de pureza, ≥99.9%, adequado para análise em HPLC), foram igualmente obtidos da Sigma – Aldrich. Foram utilizadas compressas de gaze esterilizadas (ADA) de 100 cm² e placas de Petri (100 mm × 20 mm) compostas por poliestireno (Sigma – Aldrich).

III.2.2 Métodos

Colheita das Amostras – Estratégia de “amostragem por limpeza” (wipe sampling)

A colheita das amostras foi realizada no Serviço Farmacêutico do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, E.P.E., Vila Nova de Gaia, Portugal.

A avaliação da contaminação da superfície com a ciclofosfamida foi realizada usando 50 compressas que recolheram potenciais resíduos, em três salas diferentes – sala de preparação, sala de apoio à preparação e sala de receção de fármacos. A amostragem foi realizada num dia considerado "normal" pelo pessoal quanto ao número de manipulações efetuadas.

No caso das amostras colhidas na sala de preparação, as amostras foram recolhidas antes do normal dia de trabalho e depois do manuseamento dos fármacos citotóxicos (incluindo a ciclofosfamida). No total, das 50 amostras analisadas, 30 amostras foram colhidas no período da manhã e 20 no período da tarde. A recolha das amostras no período da tarde foi feita quatro horas depois da manipulação da ciclofosfamida. Das 20 amostras recolhidas no período da tarde, 15 foram efetuadas na sala de preparação de manipulação, e as restantes 5 foram recolhidas na sala de receção das encomendas. Todas as amostras foram recolhidas pelo mesmo investigador para garantir a fiabilidade e reprodutibilidade do procedimento da

amostragem. As figuras 7 e 8 mostram os locais onde foi feita a amostragem e na tabela 2 encontram-se listadas todas as amostras que foram colhidas para análise. As amostras obtidas da superfície de trabalho e de outras superfícies foram efetuadas com compressas de 100 cm² humedecidas com acetato de etilo.

Após limpeza das superfícies e materiais, as compressas foram colocadas em placas de Petri, seladas com Parafilm e armazenadas a 2-8 °C para transporte para o Laboratório do Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde (ESS), Instituto Politécnico do Porto (IPP), Porto e alvo de extração e análise imediata.

Preparação das soluções stock e dos padrões

As soluções stock de ciclofosfamida foram preparadas na concentração 10 mg/mL e seguidamente diluídas em MeOH para, posteriormente, obter as concentrações testadas na curva de calibração de 150, 750, 1500, 3000, 4500 e 750 µg/cm² obtida com os seguintes volumes (µL) de solução stock, respetivamente: 15, 75, 150, 300, 450 e 750µL.

Preparação das amostras e análise por HPLC-DAD

Para o doseamento da ciclofosfamida foi adaptado o método analítico anteriormente publicado por Viegas *et al.* (21). As compressas, fortificadas de acordo com o procedimento acima descrito, foram colocadas em tubo Falcon de 15 mL contendo uma mistura de 15 mL de MeOH:acetonitrilo:água (25:10:65), e submetidas a um período de agitação de 20 min no vortex. A solução obtida foi recolhida com seringa e filtrada por filtro PTFE 0,2 µm. Do volume de solução extraída foram analisadas amostras de 100 µL por HPLC-DAD (205 nm), sendo a separação obtida com coluna C18 Hypersil-GOLD® (Thermo Scientific®). O tempo de corrida da ciclofosfamida foi de 15 minutos, a composição da fase móvel foi de acetonitrilo/MeOH/água (19:13:68) e o seu fluxo foi de 0,8 mL/min. O equipamento de HPLC usado foi da Marca Jasco, equipado com detetor de díodos de Modelo MD 4010 Photo Diode Array Detector. O software do equipamento foi o ChromNAV 2.0.

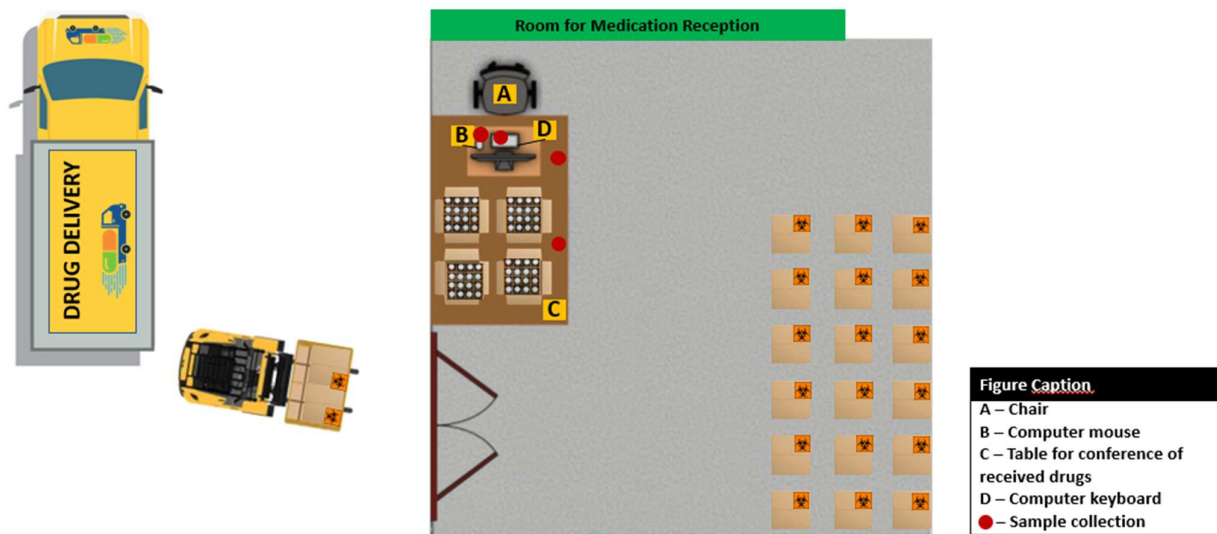


Figura 7 - Ilustração representativa da sala de receção da medicação, onde foram efetuadas colheitas de amostras (locais de colheita assinalados com círculos vermelhos)

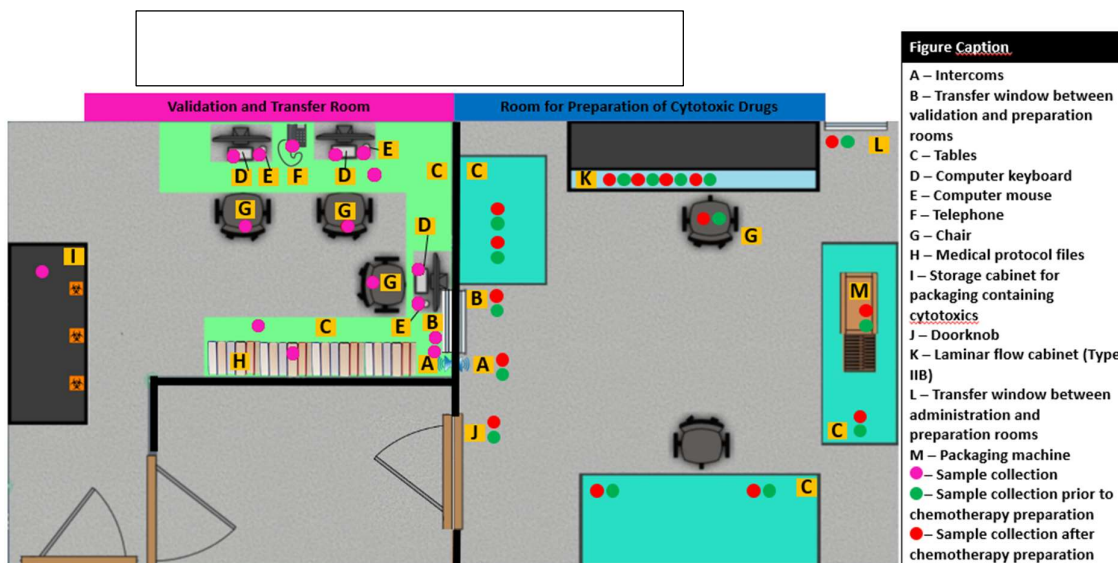


Figura 8 - Ilustração representativa da sala de apoio à manipulação (sala de validação e transferência; locais de colheita assinalados com círculos violeta) e sala de preparação de citotóxicos (locais de colheita assinalados com círculos verdes identificativos de colheita prévia à preparação de quimioterapia e círculos vermelhos identificativos de colheita posterior à preparação de quimioterapia)

Tabela 2 – Locais e períodos de colheita de amostras no Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia, Espinho
E.P.E.

Locais de amostragem	Unidade de trabalho
Período de recolha das amostras de Manhã	
1 e 2 - Arquivo	Sala de Preparação
3 – Tabuleiro metálico	Sala de Preparação
4 – Frasco de fármaco citotóxico	Sala de Preparação
5, 6, 7, 8 – Bancada de apoio	Sala de Preparação
9 – Rato do computador	Sala de Preparação
10 – Teclado do computador	Sala de Preparação
11 – Intercomunicador	Sala de Preparação/ Manipulação
12 – Telefone	Sala de Preparação
13 – Bancos	Sala de Preparação
14 – Armário de armazenamento de citotóxicos	Sala de Preparação
Locais de amostragem	Unidade de trabalho
Período de recolha das amostras de manhã	
15, 16 - Caixa de Ciclofosfamida (embalagem secundária)	Sala de Preparação
17 – Maçaneta da Porta	Sala de Preparação
18 – Transfere para Sala de Apoio	Sala de Preparação
19 – Bancada de apoio	Sala de Preparação
20 – Máquina de Embalagem	Sala de Preparação
21 – Bancada de apoio	Sala de Preparação
22 – Bancada de apoio	Sala de Manipulação
23 - Transfere para Sala de Enfermagem	Sala de Manipulação
24 – Cadeira de manipulação	Sala de Manipulação
25 - Bancada de apoio	Sala de Manipulação
26 – Intercomunicador	Sala de Manipulação
27, 28, 29 30 – Painéis internos da câmara de fluxo laminar	Sala de Manipulação
Período de recolha das amostras de Tarde	
Todos locais de amostragem, incluindo sala de receção das encomendas	
Sala de Receção das Encomendas	
46, 47, 48 – Bancada	Sala de Receção
49 – Teclados e Ratos	Sala de Receção
50 – Cadeiras	Sala de Receção

Validação do Método

A validação do método analítico descrito foi efetuada de acordo com as normas internacionais recomendadas pela Food And Drug Administration (FDA) (55). Os parâmetros estudados foram a linearidade, a sensibilidade [limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)], precisão, exatidão e taxa de recuperação. O cumprimento desses parâmetros assegura que o método produz resultados reprodutíveis e confiáveis.

Neste trabalho, a linearidade foi calculada a partir de cinco curvas de calibração independentes, obtidas com 6 padrões de diferentes concentrações de ciclofosfamida. As curvas de calibração foram traçadas com as áreas do pico cromatográfico do padrão de ciclofosfamida em função da respectiva concentração. O cálculo da equação da reta e do coeficiente de correlação linear (R^2) considerou a média das cinco curvas de calibração.

A sensibilidade foi calculada através dos LD e LQ, tendo em conta a média global das áreas dos picos cromatográficos dos brancos e o respetivo desvio padrão, assim como o declive da reta de calibração.

Os LD e LQ foram determinados pela análise de brancos e o declive da reta de calibração, considerando uma razão sinal/ruído de 3 para LD e uma razão sinal/ruído de 10 para o LQ.

A precisão Intra-dia do equipamento HPLC-DAD foi calculada dentro do mesmo dia de análise, analisando três vezes o mesmo padrão para três concentrações diferentes de ciclofosfamida (4,5; 22,5; 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), tendo sido calculado o coeficiente de variação (CV) (%) intra-dia para os dados obtidos, de acordo com a seguinte fórmula:

$$CV\% = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{média das áreas}} \times 100$$

A precisão Inter-dia foi calculada em 5 dias diferentes, extraíndo 3 padrões distintos para três concentrações diferentes de CPA (7,5; 30; 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), e calculando o respetivo CV (%) inter-dia, de acordo com a mesma fórmula.

A taxa de recuperação foi determinada fortificando a matriz com três concentrações diferentes do analito (4,5; 22,5; 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), pelo menos 3 vezes, para cada nível de concentração testado. Para o efeito, foi calculada percentualmente a razão entre as áreas dos picos cromatográficos obtidos com a injeção de amostras fortificadas antes da extração, feita em triplicado, e as áreas dos picos cromatográficos obtidos com a injeção de amostras fortificadas após a extração.

Os resultados para a exatidão do método foram determinados num único dia, analisando igualmente três níveis de concentrações diferentes (correspondendo a um

nível baixo, intermédio e alto da curva de calibração, respetivamente 4,5; 22,5 e 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), dentro da gama de concentrações com resposta linear da curva de calibração. Para o efeito foram comparados os valores de concentração calculados pela curva de calibração com os valores nominais da concentração de cada um dos padrões injetados.

III.3 Resultados e Discussão

Para a monitorização da contaminação das superfícies hospitalares, foi inicialmente necessário garantir que o desempenho do método analítico era adequado. Para tal, procedeu-se à validação das condições analíticas de um método previamente publicado na literatura (21), nas condições experimentais do nosso laboratório. Tal como de seguida demonstrado, a aplicação desta metodologia foi bem sucedida, tendo o método cumprido com todos os requisitos necessários à sua validação, tal como recomendado pelas normas internacionais (55, 56).

III.3.1 Linearidade

A linearidade foi calculada a partir de cinco curvas de calibração independentes, obtidas com 10 padrões de diferentes concentrações de ciclofosfamida. Na figura 9 pode-se observar um cromatograma representativo obtido após a corrida cromatográfica dos padrões de ciclofosfamida nas condições experimentais descritas.

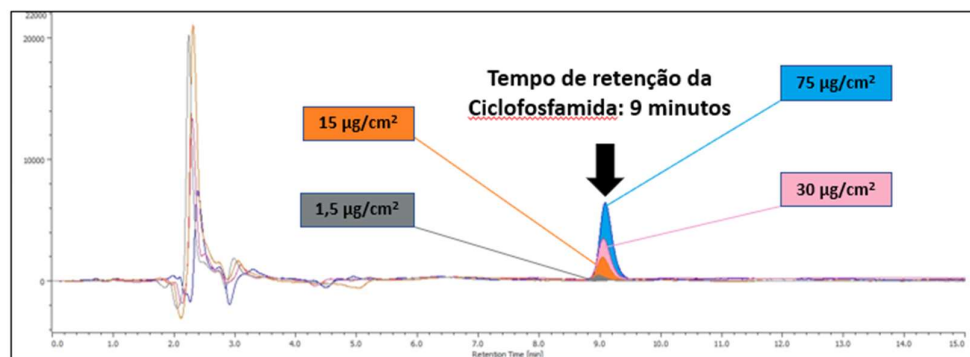


Figura 9 - Cromatograma representativo dos padrões de calibração da ciclofosfamida HPLC-DAD (205nm)

As curvas de calibração foram traçadas com as áreas do pico cromatográfico do padrão de ciclofosfamida em função da respetiva concentração (Figura 10). O cálculo da equação da reta e do R^2 considerou a média das cinco curvas de calibração. De acordo com os resultados, obteve-se um R^2 superior a 0,99 ($R^2 = 0,9974$). O estudo da linearidade permitiu assim concluir que o método utilizado é linear na gama de

concentrações estudadas (1,5–75 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), estando estes valores de acordo com os requisitos recomendados para a validação de métodos analíticos (55, 56). Comparando valores obtidos no presente estudo com os descritos na literatura, verifica-se que o R^2 obtido para ciclofosfamida foi superior aos descritos no estudo prévio de Viegas *et al.* (21) ($R^2 = 0.9937$) que serviu de modelo ao método presentemente implementado.

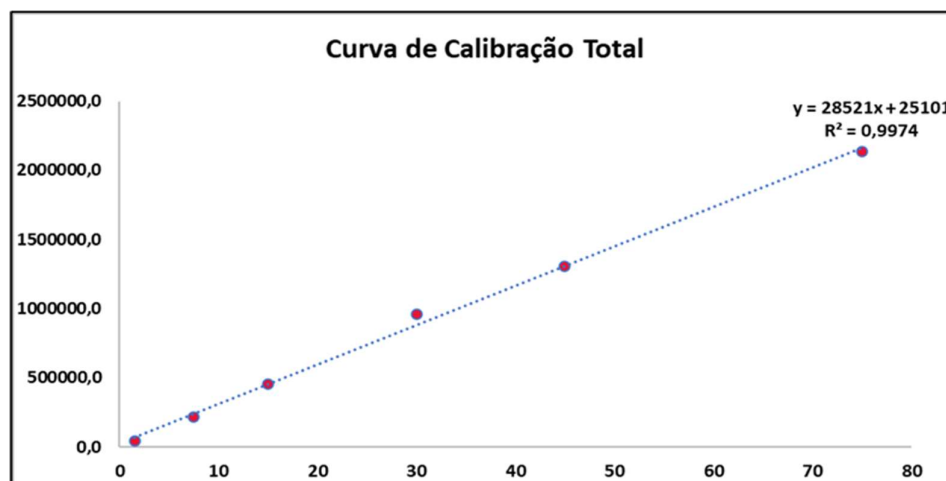


Figura 10 - Curva de calibração da ciclofosfamida (n=6) e correspondente equação da reta e coeficiente de correlação linear (R^2)

III.3.2 Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada através dos LD e LQ, tendo em conta a média global das áreas dos picos cromatográficos dos brancos (887,9) e o respetivo desvio padrão (767,9), assim como o declive da reta de calibração ($y = 28521x + 25101$). Obtiveram-se os valores de 0,089 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ para o LD e de 0,269 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ para o LQ. Estes valores são comparáveis a dois trabalhos anteriormente publicados de Acampora *et al.* (25) (LD 0,06 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e LQ 0,6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), e Viegas *et al.* (21) (LD de 0,10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e LQ de 0,30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

III.3.3 Precisão inter-dia

Os resultados para a precisão inter-dia do método foram obtidos após a extração e injeção de padrões de ciclofosfamida, em 3 dias distintos, e para três níveis (baixo, intermédio e alto, respetivamente 7,5; 30; 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de concentração, dentro da gama de concentrações com resposta linear da curva de calibração. Os valores de CV (%) obtidos foram sempre inferiores a 25%, tendo sido de 9,42% para a concentração de 7,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; 2,43% para a concentração de 30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e 2,62% para a concentração

de 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Estes valores estão também de acordo com os requisitos recomendados para a validação de métodos analíticos (55, 56).

III.3.4 Precisão intra-dia

Os resultados para a precisão intra-dia do método foram obtidos num único dia, injetando três vezes o mesmo padrão de ciclofosfamida após extração, em três concentrações diferentes (correspondendo a um nível baixo, intermédio e alto da curva de calibração, respetivamente 4,5; 22,5; e 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), dentro da gama de concentrações com resposta linear da curva de calibração. Os valores CV% obtidos foram sempre inferiores a 25%, tendo sido de 2,46% para a concentração de 4,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; 7,93% para a concentração de 22,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e 6,96% para a concentração de 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Estes valores estão novamente de acordo com os requisitos recomendados para a validação de métodos analíticos (55, 56).

III.3.5 Taxa de Recuperação

Para o cálculo da taxa de recuperação foram igualmente analisados três níveis de concentrações diferentes (correspondendo a um nível baixo, intermédio e alto da curva de calibração, respetivamente 4,5; 22,5; e 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), dentro da gama de concentrações com resposta linear da curva de calibração. Para o efeito, foi calculada percentualmente a razão entre as áreas dos picos cromatográficos obtidos com a injeção de amostras fortificadas antes da extração, feita em triplicado, e as áreas dos picos cromatográficos obtidos com a injeção de amostras fortificadas após a extração. A taxa de recuperação obtida foi de 104,85% ($\pm 2,58\%$) para a concentração de 4,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; 114,32% ($\pm 9,06\%$) para a concentração de 22,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e 96,79% ($\pm 6,74\%$) para a concentração de 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Estes valores de recuperação situam-se dentro dos intervalos recomendados (80-120%) para a validação de métodos analíticos (55, 56).

III.3.6 Exatidão

Os resultados para a exatidão do método foram determinados num único dia, analisando igualmente três níveis de concentrações diferentes (correspondendo a um nível baixo, intermédio e alto da curva de calibração, respetivamente 4,5; 22,5 e 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), dentro da gama de concentrações com resposta linear da curva de calibração. Para o efeito foram comparados os valores de concentração calculados pela curva de

calibração com os valores nominais da concentração de cada um dos padrões injetados. Obtiveram-se os valores de 79,56% ($\pm 1,55\%$) para a concentração de 4,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; 105,47% ($\pm 8,67\%$) para a concentração de 22,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e 90,40% ($\pm 6,38\%$) para a concentração de 67,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. De acordo com os requisitos para validação de métodos analíticos estes valores encontram-se, tendencialmente, próximos dos valores recomendados (80-120%) (55, 56).

III.3.7 Análise de amostras colhidas em ambiente hospitalar

Os estudos de monitorização da contaminação de superfícies hospitalares com fármacos citotóxicos anteriormente realizados revelaram algumas contaminações severas em diferentes áreas como por exemplo nas salas de preparação, de administração e nas casas de banho dos pacientes de hospitais portugueses (6). Concretamente no caso da ciclofosfamida, estes estudos identificaram contaminações que variaram entre 11,98 e 139,55 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ em diferentes superfícies e antes e depois da manipulação dos fármacos (6). Para além disso, como foram analisados simultaneamente outros fármacos nesses estudos, verificou-se que a contaminação acontecia frequentemente com mais do que um único fármaco (6). Estes resultados evidenciam falhas na segurança das operações de manuseamento e limpeza destes espaços e superfícies. Um outro estudo anterior publicado pelos mesmos autores tinha também encontrado resultados semelhantes, reportando contaminação em 37% de 327 amostras de diferentes superfícies de dois hospitais, onde foi possível detetar a presença de pelo menos um fármaco citotóxico (21). Neste mesmo trabalho, 8,6% das amostras apresentavam contaminação com mais do que um fármaco citotóxico (21). No que respeita à ciclofosfamida foram detetados valores de concentração até 2,6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ num dos hospitais e 21,3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ no outro (21).

Outros estudos realizados em hospitais de outros países, revelaram idênticas preocupações com a contaminação do exterior das embalagens (57), superfícies (25, 58), e nas mãos dos profissionais expostos (59).

No entanto, para todas as amostras analisadas no presente estudo (50 amostras analisadas em todas as salas dos serviços farmacêuticos do Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia), a concentração de ciclofosfamida encontrava-se abaixo do valor do LD do método. Estes resultados permitem concluir que neste hospital a exposição é eficientemente limitada pelo escrupuloso cumprimento dos protocolos de preparação de fármacos citotóxicos implementados (17), que permitem reduzir substancialmente a contaminação no local de trabalho. Esta conclusão é suportada por diversos estudos

que têm demonstrado de forma muito consistente, em diferentes hospitais e em muitos países (25, 44, 60), que o correto desempenho dos procedimentos de limpeza e o cumprimento dos protocolos para a manipulação segura dos fármacos citotóxicos contribui de modo efetivo para a redução drástica dos níveis de contaminação das superfícies e, conseqüentemente do risco de exposição dos profissionais de saúde envolvidos na manipulação destes fármacos.

III.4 Conclusão

Este segundo trabalho experimental da tese permitiu a implementação e validação de um método analítico para a quantificação de ciclofosfamida, com o intuito de desenvolver uma ferramenta analítica para o controlo da exposição dos profissionais de saúde envolvidos na manipulação de fármacos citotóxicos. O método aplicado, nas presentes condições experimentais, teve um desempenho igual ou mesmo superior aos anteriormente reportados na literatura.

Não foi detetada qualquer contaminação nas superfícies analisadas pelo que se conclui que o cumprimento das normas de segurança na preparação e manuseamento de fármacos citotóxicos, bem como o uso de adequados procedimentos de limpeza, conseguem, de uma forma eficaz, limitar a exposição ocupacional a estes agentes potencialmente muito tóxicos. Por outro lado, o estabelecimento desta ferramenta analítica revelou-se como uma mais-valia para a futura monitorização da exposição dos profissionais de saúde desta unidade hospitalar, e que poderá ser adaptada para a monitorização de outros fármacos citotóxicos, assim contribuindo para a garantia da saúde ocupacional.

Capítulo IV

Considerações finais

IV.1 Considerações finais

Durante a realização das atividades descritas na presente dissertação, foi possível o desenvolvimento e aplicação de métodos de monitorização da potencial exposição ocupacional dos profissionais de farmácia aos fármacos citotóxicos que preparam, no âmbito dos tratamentos de quimioterapia. Esta monitorização é importante, não apenas para efeitos de avaliação de risco, mas também para identificar práticas menos recomendáveis e para promover melhoria contínua, ao nível dos processos.

Reconhece-se que a realização de treino e avaliação em manipulação de citotóxicos deve ser uma prática comum, antes de se iniciar atividade profissional nesta área, e, posteriormente, numa base regular. No entanto, as soluções adequadas para a simulação segura de manipulação de citotóxicos são difíceis de obter, o que limita a realização de simulações com realismo, imersividade e passíveis de avaliação. Com a realização do presente estudo foi possível identificar uma solução de fácil acesso, de custo reduzido e inócua que pode aumentar a adesão dos profissionais e serviços ao treino e avaliação em manipulação simulada de citotóxicos, tal como preconizado nas diretrizes. A adequação da água tônica para este propósito foi confirmada pelas análises realizadas em espectrofotometria e pelos questionários respondidos por profissionais treinados em manipulação, que testaram a manipulação com água tônica. Foi possível verificar que, ainda que os profissionais tivessem experiência em manipulação, a ocorrência de derrames foi frequente, particularmente na utilização de agulhas. Esta evidência reforça a necessidade de utilização de sistemas de punção alternativos às agulhas (sistemas fechados, dispositivos de aspiração, por exemplo.), e sempre que não contraindicados nos resumos das características dos medicamentos. A utilização de compressas em zonas de conexão de dispositivos também se revelou fundamental, uma vez que foram dos produtos com mais resíduos de água tônica. Uma das fragilidades do primeiro trabalho experimental foi o reduzido número de profissionais que testaram o protocolo de simulação com água tônica e que responderam ao questionário. Trabalhos futuros deverão procurar incluir mais participantes e, no sentido de aportar maior realismo, efetuar a simulação dentro de câmara de fluxo laminar, sob as condições de pressão negativa habitualmente existentes. Adicionalmente, deverá avaliar-se se, luvas de diferente composição (policloreto de vinilo, látex, neopreno, polietileno) e superfícies metálicas habituais das câmaras de fluxo laminar exibem fluorescência quando propositadamente lhes são colocados resíduos de água tônica e são sujeitas a luz UV – este teste não foi efetuado no presente estudo.

Replicando métodos de colheita (pela técnica de *wipe sampling*), métodos de tratamento amostral e métodos analíticos (por HPLC-DAD) descritos noutros estudos, foi possível validar um método para deteção de resíduos de ciclofosfamida em superfícies, com resultados satisfatórios face aos parâmetros contemplados. Admitindo-se que os derrames durante a manipulação ocorrem com frequência (tal como verificado no trabalho experimental 1), a não deteção de resíduos de ciclofosfamida em nenhuma das superfícies amostradas no CHVNG/E sugere que os procedimentos de limpeza implementados na unidade de preparação de citotóxicos são eficazes. De acordo com o descrito pelos profissionais, particularmente no que diz respeito à sala de preparação, é efetuada a limpeza da câmara com álcool isopropílico a 70%, pelo menos, três vezes por dia – antes do início de manipulação, após a última preparação efetuada e, 30 minutos após a última preparação efetuada - e é efetuada a limpeza regular com hipoclorito de sódio das paredes (semanalmente), chão (diariamente) e teto (semanalmente) da própria sala. Os profissionais têm ainda o cuidado de ligar a câmara 30 minutos antes do início de atividade e, durante 30 minutos, após a última preparação efetuada, aproveitando assim o fluxo da própria câmara e exaustão total do ar para o exterior, após filtração. Presume-se que as práticas adotadas, em linha com as diretrizes, tenham contribuído para os resultados observados. Não obstante, deverá ter-se em conta que os resultados obtidos foram provenientes da análise de um único dia de trabalho e da pesquisa por um único fármaco citotóxico. Por forma a aumentar a robustez dos resultados, futuros trabalhos deverão incluir mais fármacos e realizar colheitas durante um número de dias superior.

Em suma, foram descritos procedimentos que permitem o treino e avaliação da manipulação de fármacos citotóxicos, e que podem facultar aos profissionais o reconhecimento de práticas mais propensas à disseminação de resíduos. Adicionalmente, verifica-se que a aplicação das medidas de higienização e limpeza adequadas dos espaços designados para receção e manipulação de fármacos citotóxicos pode resultar numa limitação da sua deposição a concentrações inexistentes ou, no mínimo, indetetáveis.

Capítulo V

Referências Bibliográficas

I. Referências Bibliográficas

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):209-49.
2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2015;65(2):87-108.
3. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2016;25(1):16-27.
4. Simons A, Toland S. Perceived adverse effects from handling systemic anti-cancer therapy agents. *British journal of nursing (Mark Allen Publishing)*. 2017;26(16):S38-s44.
5. Connor TH, McDiarmid MA. Preventing occupational exposures to antineoplastic drugs in health care settings. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2006;56(6):354-65.
6. Viegas S, Oliveira AC, Carolino E, Pádua M. Occupational exposure to cytotoxic drugs: the importance of surface cleaning to prevent or minimise exposure. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2018;69(3):238-49.
7. Rekhadevi PV, Sailaja N, Chandrasekhar M, Mahboob M, Rahman MF, Grover P. Genotoxicity assessment in oncology nurses handling anti-neoplastic drugs. *Mutagenesis*. 2007;22(6):395-401.
8. Jakab MG, Major J, Tompa A. Follow-up genotoxicological monitoring of nurses handling antineoplastic drugs. *Journal of toxicology and environmental health Part A*. 2001;62(5):307-18.
9. Valanis BG, Vollmer WM, Labuhn KT, Glass AG. Association of antineoplastic drug handling with acute adverse effects in pharmacy personnel. *American journal of hospital pharmacy*. 1993;50(3):455-62.
10. Valanis BG, Vollmer WM, Labuhn KT, Glass AG. Acute symptoms associated with antineoplastic drug handling among nurses. *Cancer nursing*. 1993;16(4):288-95.
11. McDiarmid M, Egan T. Acute occupational exposure to antineoplastic agents. *Journal of occupational medicine : official publication of the Industrial Medical Association*. 1988;30(12):984-7.
12. Krstev S, Perunicic B, Vidakovic A. Work practice and some adverse health effects in nurses handling antineoplastic drugs. *La Medicina del lavoro*. 2003;94(5):432-9.
13. Jochimsen PR. Handling of cytotoxic drugs by healthcare workers. A review of the risks of exposure. *Drug safety*. 1992;7(5):374-80.
14. Stucker I, Caillard JF, Collin R, Gout M, Poyen D, Hemon D. Risk of spontaneous abortion among nurses handling antineoplastic drugs. *Scandinavian journal of work, environment & health*. 1990;16(2):102-7.
15. Hon CY, Teschke K, Chua P, Venners S, Nakashima L. Occupational Exposure to Antineoplastic Drugs: Identification of Job Categories Potentially Exposed throughout the Hospital Medication System. *Safety and health at work*. 2011;2(3):273-81.
16. Suspiro A, Prista J. Biomarkers of occupational exposure do anticancer agents: a minireview. *Toxicology letters*. 2011;207(1):42-52.
17. ISOPP. ISOPP Standards for the Safe Handling of Cytotoxics. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*. 2022;28(3_suppl):S1-S126.
18. OSHA OSHA. Controlling Occupational Exposure to Hazardous Drugs. United States Department of Labor - Occupational Safety and Health Administration; 2016.

19. NIOSH TNiFOSaH. Preventing Occupational Exposure to Antineoplastic and Other Hazardous Drugs in Health Care Settings. CDC - Centers for Disease Control and Prevention; 2004.
20. Power LA, Coyne JW. ASHP Guidelines on Handling Hazardous Drugs. American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists. 2018;75(24):1996-2031.
21. Viegas S, Pádua M, Veiga AC, Carolino E, Gomes M. Antineoplastic drugs contamination of workplace surfaces in two Portuguese hospitals. Environ Monit Assess. 2014;186(11):7807-18.
22. Hedmer M, Wohlfart G. Hygienic guidance values for wipe sampling of antineoplastic drugs in Swedish hospitals. J Environ Monit. 2012;14(7):1968-75.
23. Dugheri S, Bonari A, Pompilio I, Boccalon P, Tognoni D, Cecchi M, et al. Analytical strategies for assessing occupational exposure to antineoplastic drugs in healthcare workplaces. Med Pr. 2018;69(6):589-604.
24. Marie P, Christophe C, Manon R, Marc M, Charleric B, Patrice V. Environmental monitoring by surface sampling for cytotoxics: a review. Environ Monit Assess. 2017;189(2):52.
25. Acampora A, Castiglia L, Miraglia N, Pieri M, Soave C, Liotti F, et al. A case study: surface contamination of cyclophosphamide due to working practices and cleaning procedures in two Italian hospitals. The Annals of occupational hygiene. 2005;49(7):611-8.
26. Korczowska E, Crul M, Tuerk J, Meier K. Environmental contamination with cytotoxic drugs in 15 hospitals from 11 European countries—results of the MASHA project. European Journal of Oncology Pharmacy. 2020;3(2):e24.
27. 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. 2022;19(1):50-66.
28. 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. 2012;402(8):2499-509.
29. Portilha-Cunha MF, Ramos S, Silva AMT, Norton P, Alves A, Santos MSF. An Improved LC-MS/MS Method for the Analysis of Thirteen Cytostatics on Workplace Surfaces. Pharmaceuticals (Basel). 2021;14(8).
30. Guichard N, Boccard J, Rudaz S, Bonnabry P, Fleury Souverain S. Wipe-sampling procedure optimisation for the determination of 23 antineoplastic drugs used in the hospital pharmacy. Eur J Hosp Pharm. 2021;28(2):94-9.
31. Touzin K, Bussi eres JF, Langlois E, Lefebvre M, M  tra A. Pilot study comparing the efficacy of two cleaning techniques in reducing environmental contamination with cyclophosphamide. The Annals of occupational hygiene. 2010;54(3):351-9.
32. Bobin-Dubigeon C, Amiand M, Percheron C, Audeval C, Rochard S, Leynia P, et al. A new, validated wipe-sampling procedure coupled to LC-MS analysis for the simultaneous determination of 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide in surface contamination. J Anal Toxicol. 2013;37(7):433-9.
33. European Parliament. Preventing occupational exposure to cytotoxic and other hazardous drugs - European Policy Recommendations. 2016.
34. OF OdF. Manual de Prepar  o de Citotóxicos. 2013.
35. Bernabeu-Martínez MA, Ramos Merino M, Santos Gago JM, Álvarez Sabucedo LM, Wanden-Berghe C, Sanz-Valero J. Guidelines for safe handling of hazardous drugs: A systematic review. PLoS One. 2018;13(5):e0197172.
36. Spivey S, Connor TH. Determining Sources of Workplace Contamination with Antineoplastic Drugs and Comparing Conventional IV Drug Preparation with a Closed System. Hospital Pharmacy. 2003;38(2):135-9.

37. García SV, Clérigues NV, Ferrer VF, Briz EL, Andrés JLP. Use and handling safety of Mini-Spike 2®) chemo and puresite for safe chemotherapy compounding in a hospital pharmacy. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2018;100:1-6.
38. Piccardo MT, Forlani A, Izzotti A. Effectiveness of Closed System Drug Transfer Devices in Reducing Leakage during Antineoplastic Drugs Compounding. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(15).
39. Baussant G, Georgel C, Loeuillet F, Paix V, Frimat B, Fournier C. Development of a quinine test for improved handling of cytotoxic preparations. *European Journal of Oncology Pharmacy*. 2014;8:24-7.
40. Sadeghipour F, Lorenzini KI, Ziewitz C, Dobrinas M, Fleury M, Bonnabry P. Chemical contamination during the preparation of cytotoxics: validation protocol for operators in hospital pharmacies. *Journal of oncology pharmacy practice : official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*. 2013;19(1):57-64.
41. USP USPC. USP General Chapter <800> Hazardous Drugs– Handling in Healthcare Settings. www.usp.org2020.
42. Geisler A, Andersen E, Vedso S. [The cooperation of patients with depression during drug treatment. A study using guinine as a tracer]. *Ugeskr Laeger*. 1968;130(43):1803-6.
43. Murphy KR, Ruiz GM, Dunsmuir WT, Waite TD. Optimized parameters for fluorescence-based verification of ballast water exchange by ships. *Environ Sci Technol*. 2006;40(7):2357-62.
44. Crul M, Simons-Sanders K. Carry-over of antineoplastic drug contamination in Dutch hospital pharmacies. *Journal of oncology pharmacy practice : official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*. 2018;24(7):483-9.
45. Verscheure E, Creta M, Vanoirbeek J, Zakia M, Abdesselam T, Lebegge R, et al. Environmental Contamination and Occupational Exposure of Algerian Hospital Workers. *Front Public Health*. 2020;8:374.
46. Mason HJ, Morton J, Garfitt SJ, Iqbal S, Jones K. Cytotoxic drug contamination on the outside of vials delivered to a hospital pharmacy. *The Annals of occupational hygiene*. 2003;47(8):681-5.
47. 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. *Journal of oncology pharmacy practice : official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*. 2014;20(2):100-11.
48. 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*. 2016;13(9):658-67.
49. Acramel A, Chouquet T, Plé A, Sauvageon H, Mourah S, Jouenne F, et al. Development and validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry quantification method for 14 cytotoxic drugs in environmental samples. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2020;34(4):e8594.
50. Nussbaumer S, Fleury-Souverain S, Antinori P, Sadeghipour F, Hochstrasser DF, Bonnabry P, et al. Simultaneous quantification of ten cytotoxic drugs by a validated LC-ESI-MS/MS method. *Anal Bioanal Chem*. 2010;398(7-8):3033-42.
51. Rossignol E, Amiand 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*. 2020;101:106652.
52. Soteriades ES, Economidou SC, Tsivitanidou A, Polyviou P, Lorimer A, Katodritis N, et al. Environmental assessment of cytotoxic drugs in the Oncology Center of Cyprus. *PLoS One*. 2020;15(3):e0216098.
53. Crauste-Manciet S, Sessink PJ, Ferrari S, Jomier JY, Brossard D. Environmental contamination with cytotoxic drugs in healthcare using positive air pressure isolators. *The Annals of occupational hygiene*. 2005;49(7):619-28.

54. Siderov J, Kirsas S, McLauchlan R. Reducing workplace cytotoxic surface contamination using a closed-system drug transfer device. *Journal of oncology pharmacy practice : official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*. 2010;16(1):19-25.
55. FDA FaDAOoRA. *ORA Laboratory Manual Volume II - Methods, Method Verification and Validation*. 2020.
56. Little T. Establishing Acceptance Criteria for Analytical Methods. *BioPharm International*. 2016;29(10).
57. Redic KA, Fang K, Christen C, Chaffee BW. Surface contamination of hazardous drug pharmacy storage bins and pharmacy distributor shipping containers. *Journal of oncology pharmacy practice : official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*. 2018;24(2):91-7.
58. Kiffmeyer TK, Tuerk J, Hahn M, Stuetzner H, Hadtstein C, Heinemann A, et al. Application and assessment of a regular environmental monitoring of the antineoplastic drug contamination level in pharmacies - the MEWIP project. *The Annals of occupational hygiene*. 2013;57(4):444-55.
59. Crul M, Hilhorst S, Breukels O, Bouman-d'Onofrio JRC, Stubbs P, van Rooij JG. Occupational exposure of pharmacy technicians and cleaning staff to cytotoxic drugs in Dutch hospitals. *J Occup Environ Hyg*. 2020;17(7-8):343-52.
60. Korczowska E, Crul M, Tuerk J, Meier K. Environmental contamination with cytotoxic drugs in 15 hospitals from 11 European countries—results of the MASHA project. *European Journal of Oncology Pharmacy*. 2020;3(2).

Anexos

Anexo I – Questionário aplicado aos participantes no Trabalho Experimental 1

Questionário relativo à avaliação da atividade de simulação de manipulação de fármacos citotóxicos incluída no estudo “Avaliação da exposição dos profissionais de Farmácia a fármacos citotóxicos”

Pergunta 1:

Qual considera ser o nível de complexidade na execução da atividade para o operador?

1	2	3	4	5
Muito complexo	Complexo	Algo complexo	Simples	Muito Simples

Pergunta 2:

Qual considera ser o nível de complexidade percebida para o avaliador?

1	2	3	4	5
Muito complexo	Complexo	Algo complexo	Simples	Muito Simples

Pergunta 3:

Em termos de eficiência, como classifica a simulação realizada?»

1	2	3	4	5
Muito demorado	Demorado	Algo demorado	Rápido	Muito rápido

Pergunta 4:

Qual a disponibilidade de materiais/equipamentos no serviço para a realização da atividade que realizou de forma rotineira?

1	2	3	4	5
Nenhum dos materiais/equipamentos se encontra disponível	Quase nenhum dos materiais/equipamentos se encontra disponível	Alguns materiais/equipamentos estão disponíveis	Quase todos os materiais/equipamentos estão disponíveis	Todos os materiais/equipamentos estão disponíveis

Pergunta 5:

Qual o nível de adequação da atividade ao tipo de trabalhos executados no âmbito da preparação de citotóxicos?

1	2	3	4	5
Nada semelhante	Pouco semelhante	Semelhante	Muito semelhante	Totalmente semelhante

Pergunta 6:

Qual o nível de adequação da avaliação para efeitos de iniciação à preparação de citotóxicos

1	2	3	4	5
Nada adequado	Pouco adequado	Adequado	Muito adequado	Totalmente adequado

Pergunta 7:

Qual o nível de adequação da avaliação para efeitos de avaliação periódica dos operadores no âmbito da preparação de citotóxicos

1	2	3	4	5
Nada adequado	Pouco adequado	Adequado	Muito adequado	Totalmente adequado

Pergunta 8:

Qual o nível de adequação da avaliação para efeitos de reconhecimento dos locais mais suscetíveis de contaminação?

1	2	3	4	5
Nada adequado	Pouco adequado	Adequado	Muito adequado	Totalmente adequado

Anexo II – Informações e consentimento informado cedidos aos participantes do Trabalho Experimental 1

PARTICIPAÇÃO EM ESTUDO DE INVESTIGAÇÃO INFORMAÇÕES

O presente trabalho decorre no âmbito do desenvolvimento de uma dissertação do Mestrado em Toxicologia Analítica Clínica e Forense da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, do estudante Nuro Ali e sob orientação do Professor Doutor Fernando Moreira e da Professora Doutora Helena Carmo, designando-se o estudo "Avaliação da exposição dos profissionais de Farmácia a fármacos citotóxicos".

O principal objetivo do presente trabalho é desenvolver um método que permita identificar as práticas que podem contribuir de forma mais determinante para a disseminação de citotóxicos durante a preparação de quimioterapia.

A participação no presente estudo inclui a realização de uma simulação de manipulação (protocolo a ser cedido pelos investigadores) e a resposta a um questionário. Estima-se que a participação demore entre 10 e 15 minutos.

Os investigadores garantem aos participantes o seu anonimato e confidencialidade no desempenho na simulação e das respostas fornecidas ao questionário.

A participação pode ser interrompida a qualquer momento sem nenhum tipo de penalização por este facto.

Em caso de dúvida os participantes podem contactar os investigadores através do seguinte email institucional (07968@chvng.min-saude.pt ou up202000082@edu.ff.up.pt).

Consentimento Informado

Eu, abaixo-assinado

fui informado de que o Estudo de Investigação designado "Avaliação da exposição dos profissionais de Farmácia a fármacos citotóxicos" se destina a desenvolver um método que permita identificar as práticas que podem contribuir de forma mais determinante para a disseminação de citotóxicos durante a preparação de quimioterapia. Sei que neste estudo está prevista a realização de uma simulação de manipulação de fármacos antineoplásicos com recurso a uma solução inócua e a aplicação de questionário. Foi-me garantido que todos os dados relativos à identificação dos participantes neste estudo são confidenciais e que será mantido o anonimato. Sei que posso recusar-me a participar ou interromper a qualquer momento a participação no estudo, sem nenhum tipo de penalização por este facto. Compreendi a informação que me foi dada, tive oportunidade de fazer perguntas e as minhas dúvidas foram esclarecidas. Aceito participar de livre vontade no estudo acima mencionado. Também autorizo a divulgação dos resultados obtidos no meio científico, garantindo o anonimato.

Anexo III – Parecer da Comissão de Ética do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, E.P.E. sobre a realização dos Trabalhos Experimentais 1 e 2



PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE

TÍTULO DO ESTUDO

Avaliação da exposição dos profissionais de Farmácia a fármacos citotóxicos

Documento do CES: 79/2021

Serviço onde irá decorrer o Estudo: Serviço Farmacêutico

Investigador principal: Fernando Xavier Ferrelira Moreira

A Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, EPE, em reunião ordinária do dia 29/04/2021, apreciou a documentação constante do dossier submetido para o estudo acima referenciado:

- Formulário submissão a UIEC;
- Impresso da CES;
- Pedido de realização de estudo de investigação dirigido ao Presidente do Conselho de Administração do CHVNGE;
- Aprovação de Projeto de investigação pelo Diretor do Serviço;
- Declaração de Conflito de Interesses;
- Compromisso de comunicação dos resultados obtidos com projeto de Investigação;
- Curriculum Vitae, Investigadora Principal e elementos da equipa;
- Protocolo de projeto

Apreciação:

Estudo observacional que pretende identificar as práticas que podem contribuir de forma mais determinante para a disseminação de citotóxicos durante a preparação de quimioterapia;

Analisar a potencial presença dos citotóxicos mais habitualmente manipulados em diversas superfícies, equipamentos e materiais na câmara de manipulação e na sala adjacente;

Contribuir para um aumento da segurança dos profissionais do Serviço Farmacêutico envolvidos na manipulação de quimioterapia.

Existem outros locais para realização do estudo (Faculdade de Farmácia da UP)

Afiliação dos elementos da Equipa:

Serviço Farmacêutico, Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia Espinho E.P.E, Vila Nova de Gaia, Portugal

Área Técnico-Científica de Farmácia, Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal

Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Porto, Portugal

Tempo previsto 12 meses, desde o início de atividade até obtenção de resultados e redação de manuscrito.

Tipo de amostragem: Superfícies a considerar para posterior análise, dos fármacos a pesquisar por HPLC-DAD e dos dias a considerar para a realização da análise.

Variáveis a considerar: Não sendo um estudo experimental, a lista de variáveis é de difícil identificação. Ainda assim, pretendem comparar-se os seguintes fatores entre si:

Fase I:

- Manipulação com spike / Manipulação com agulha
- Procedimento de Reconstituição / Procedimento de Homogeneização / Procedimento de Aditivização

Fase II:

- Contaminação no interior da câmara de preparação / Contaminação no exterior da câmara de preparação

Método de colheita: Os dados serão recolhidos por registo fotográfico e análise química por HPLC-DAD de acordo com metodologia descrita na literatura (Bausssant et al., (2014) "Development of a quinine test for improved handling of cytotoxic preparations", European Journal of Oncology Pharmacy; Viegas et al., (2014) "Antineoplastic drugs contamination of workplace surfaces in two Portuguese hospitals", Environ Monit Assess, respetivamente).

De acordo com a metodologia constante do protocolo, na parte II do trabalho, duas das atividades serão realizadas na FFUP.

Não financiado

Custos para a instituição: os custos previstos consistem somente nos relacionados com o consumo de luvas, campos de trabalho, seringas, agulhas, spikes, sistema de preparação e transporte de drogas citostáticas opacos, 5 ampolas de quinina (250mg/ml; 2ml); sacos de soro de 100ml e 1 frasco de água de água destilada para preparação de injetáveis de 500ml, no total de 195 euros. Se autorizado o estudo, o consumo destes materiais será imputado ao Serviço Farmacêutico.

Previstas publicações, comprometendo-se o investigador a apresentar resultados.

Ouvido o relator, o processo foi votado pelos membros da Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/EPE presentes:

Presidente: Enfª Ana Saraiva

Restantes Membros:

Dr.ª Ana Isabel Paixão

Dr.ª Amélia Pereira

Enfª Teresa Trigo

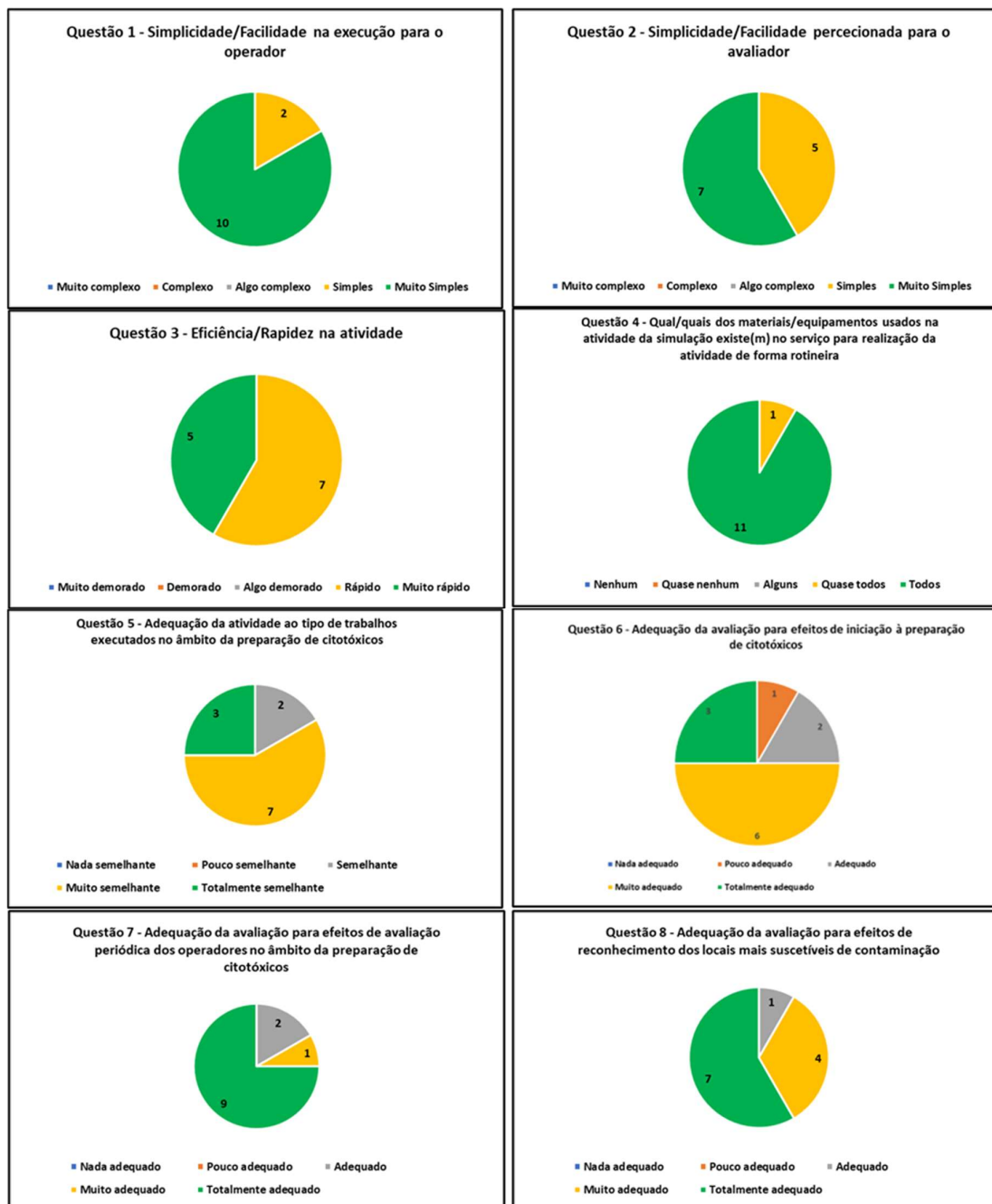
Delibera-se parecer favorável ao estudo "Avaliação da exposição dos profissionais de Farmácia a fármacos citotóxico", o qual foi aprovado por unanimidade dos presentes. Alerta-se, no entanto, para os custos para a instituição no valor de €195

Data: 29 /04/ 2021

A Presidente da Comissão de Ética para a Saúde


Enf. Ana Saraiva

Anexo IV – Estatísticas descritivas relativas às respostas dadas pelos participantes ao questionário relativo ao Trabalho Experimental 1



Anexo V – Poster apresentado na 4ª Reunião Internacional da Rede Académica das Ciências da Saúde da Lusofonia, Benguela (Angola), 2021

4ª Reunião Internacional
Rede Académica
das Ciências da Saúde
da Lusofonia

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE UM MÉTODO DE BAIXO CUSTO PARA AVALIAÇÃO DE PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO DE CITOTÓXICOS

Nuno Ali¹, Helena Carmo¹, Raquel Robalo², Cristina Fernandes³, Luisa Rocha², Fernando Moreira^{1,3}

1-UCIBIO/RSQ/INTE, Laboratório de Toxicologia, Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, Portugal; 2-Serviço Farmacêutico do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Esposim, E.P.E., Vila Nova de Gaia, Portugal; 3-Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto, Área Técnica-Científica de Farmácia, Porto, Portugal.

*Autor correspondente – nuno.ali@gmail.com

I. Introdução

De acordo com organizações tais como a International Society of Oncology Pharmacy Practitioners (ISOPP), os hospitais devem levar a cabo programas de formação e avaliação periódica dos profissionais que manipulam citotóxicos, sendo considerado o teste de fluorescência de cloridrato de quinina como adequado para este propósito (ISOPP Standards of Practice Safe Handling of Cytotoxics, Journal of Oncology Pharmacy Practice, 2007). O objetivo do presente estudo foi (i) adaptar o teste de quinina recorrendo a uma solução mais amplamente disponível e económica de água tônica e (ii) aplicar o teste qualitativo para identificar práticas e superfícies em que ocorra disseminação e deposição de citotóxicos.

II. Metodologia

A fluorescência exibida pela água tônica de diferentes marcas e diferentes lotes foi comparada com a fluorescência exibida pela solução aquosa de cloridrato de quinina [0,1 M e 0,001M] sob luz UV (386nm). Adicionalmente, o espectro de água tônica foi caracterizado por espectrofotometria UV/Vis, e uma vez mais comparado com o de uma solução de quinina. Por fim, 9 Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica de Farmácia efetuaram a preparação de 18 sacos de infusão contendo água tônica, realizando, para o efeito, um total de 36 manipulações e sendo avaliadas 216 superfícies de materiais e equipamentos quanto à presença de água tônica durante e após a manipulação. Para efeitos de comparação, e particularmente para a realização da aspiração das soluções, metade das preparações foram executadas com um dispositivo de libertação de pressão (Spile), e metade das preparações foram executadas com agulha.

III. Resultados

Figura 1 – Comparação de análise visual qualitativa de derrames com soro fisiológico (branco), diferentes águas tônicas e duas soluções de quinina

Figura 3 – Derrames decorrentes de manipulação e observáveis sob luz UV (386nm) [A e B] e fluorescência exibida pela água tônica após transferência para o saco entral, até para efeitos de controlo positivo

Figura 2 – Comparação da absorvância após análise em espectrofotómetro, de três marcas de água tônica distintas com soluções de quinina [0,1M – concentração revelada em estudos prévios como de partida para manipulação; e 0,001M – concentração obtida durante a simulação de manipulação em estudos prévios]

Tabela 1 – Quantidades e percentagens de derrames resultantes da manipulação de água tônica realizada por Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica de Farmácia com formação e experiência em manipulação de citotóxicos

Incidência		Casos	Total	%
NR de profissionais com derrames identificados		6	9	66,7
NR de superfícies contaminadas (total)		8	216	3,7
Agulha vs. Spile	NR de profissionais com derrames identificados em manipulação com agulha	4	9	44,4
	NR de profissionais com derrames identificados em manipulação com spile	2	9	22,2
	NR de superfícies contaminadas na manipulação com agulha	6	108	5,6
	NR de superfícies contaminadas na manipulação com spile	2	108	1,9
Materiais alvo de contaminação	Campo	3	8	37,5
	Compressas	3	8	37,5
	Frascos	2	8	25,0
Tipo de procedimento	Derrames em atos de aspiração	5	18	27,8
	Derrames em atos de transferência para o saco de infusão	3	18	5,6

IV. Discussão e Conclusão

O presente estudo permitiu demonstrar a adequação da utilização da água tônica para efeitos de treino e de avaliação de profissionais e de práticas de manipulação de citotóxicos, uma vez que após incidência de luz UV, a luminosidade exibida pela água tônica e por diferentes soluções de quinina são visualmente idênticas e claramente distintas do derrame com soro fisiológico. A luminosidade exibida pela água tônica sob luz UV foi confirmada por espectrofotometria e a similaridade de absorvância de diferentes marcas confirma a utilidade da água tônica comercialmente disponível para o propósito de avaliação de manipulação. A utilização de água tônica em detrimento de soluções de quinina resulta numa alternativa viável e menos dispendiosa. Confirmou-se a ocorrência frequente de derrames e a importância do uso de equipamento de proteção individual, de mini-spile em detrimento de agulha (sempre que possível), e do recurso a compressas pelo operador como forma de proteção individual em todas as ações de aspiração e transferência de soluções contendo citotóxicos.

Agradecimento: Os autores agradecem a colaboração e envolvimento dos profissionais do Serviço Farmacêutico do CHVNG/E, E.P.E., na realização do presente estudo

Referências

[1] ISOPP Standards of Practice Safe Handling of Cytotoxics, Journal of Oncology Pharmacy Practice, 2007
[2] Fernandes, F., Lencastre, A., Lencastre, C., Oliveira, M., Perry, M., & Bernardino, P. (2015). Chemical contamination during the preparation of cytotoxics: validation protocol for operators in hospital pharmacies. Journal of oncology pharmacy practice: official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners, 28(1), 47-64. https://doi.org/10.1177/1075550714626764
[3] Teets, A. C., Gaudin, H., Cheng, R., Cheloni, M., Savage, T., Tolan, R., & White, R. B. (2018). Safe handling of cytotoxics: guideline recommendations. Current oncology (Toronto, Ont.), 25(1), 407-407. https://doi.org/10.37001/2018.25.1.407

Preventing exposure to cytotoxic drugs by analysing cyclophosphamide residues in the manipulation areas of a northern Portuguese hospital

Ali, Nura, Faculdade de Farmácia, Portugal

Carmo, Helena, Faculdade de Farmácia, Portugal

Correia, Patrícia, Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde (ESS), Instituto Politécnico do Porto (IPP), Porto, Portugal. Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde (ESS), Instituto Politécnico do Porto (IPP), Porto, Portugal. Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde (ESS), Instituto Politécnico do Porto (IPP), Porto, Portugal. Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde (ESS), Instituto Politécnico do Porto (IPP), Porto, Portugal.

Leitão, Mariana, Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde (ESS), Instituto Politécnico do Porto (IPP), Porto, Portugal

Rocha, Luísa, 6Serviço Farmacêutico do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, E.P.E., Vila Nova de Gaia, Portugal

Fernandes, Cristina, 6Serviço Farmacêutico do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, E.P.E., Vila Nova de Gaia, Portugal

Moreira, Fernando, 4Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde (ESS), Instituto Politécnico do Porto (IPP), Porto, Portugal

Abstract

The manipulation of cytotoxic agents has been increasing as chemotherapy remains the first line treatment for several malignant diseases of growing incidence. However, cytotoxic agents such as cyclophosphamide do not specifically target cancer cells, being therefore able to harm the professionals that prepare them. To prevent occupational exposure, an adequate monitoring of the working environment is warranted. The present study aimed at validating an analytical method for the evaluation of the presence of cyclophosphamide in the surface of three different rooms of a northern Portuguese hospital, in which cytotoxic drugs are received or manipulated. The extraction procedure consisted of wiping with a 100cm² gauze moistened with ethyl-acetate followed by mixing with 15mL methanol: acetonitrile: water (25:10:65) and filtration with a PTFE 0.2µm filter. The samples were then analysed by HPLC-DAD (205nm), with the separation being obtained with a C18 column. The analytical method was validated regarding linearity, intra-day (92-98%) and inter-day (91-98%) precision, accuracy (80-106%), recovery (97-114%) and sensibility (LOD = 0.089 µg/cm²; LOQ = 0.269 µg/cm²). A total of 50 real samples were analysed and all of them presented values below the LOD. Despite using analytical methods with lower sensibility than the one herein presented, previous published studies about the presence of cytotoxic drugs on surfaces of other Portuguese hospitals revealed severe contamination in the manipulation areas. These negative results likely indicate that in this hospital the preparation protocols efficiently limit exposure, further evidencing the importance of complying with the guidelines. By adopting these procedures, it is possible to eliminate or at least greatly limit the occupational exposure to cytotoxic drugs, by nurses, pharmacy technicians and pharmaceuticals. Analytical tools that efficiently monitor contamination are a helpful tool to monitor and prevent hazardous exposure.