**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

# Avaliação da exposição dos profissionais da área da saúde à ciclofosfamida

**ISARITA MARTINS**

**Tese para a obtenção do grau de**

**DOUTOR**

**Orientador:**

Prof. Dr. Henrique Vicente Della Rosa

**São Paulo**

**2003**

**ISARITA MARTINS**

# Avaliação da exposição dos profissionais da área da *saúde à ciclofosfamida*

**Comissão Julgadora**
**da**
**Tese para a obtenção do grau de DOUTOR**

**Prof. Dr. Henrique Vicente Della Rosa**
**Orientador/ Presidente**

---

**Profa. Dra. Maria Elisa Pereira Bastos de Siqueira**

---

**Prof. Dr. Ruy Geraldo Bevilacqua**

---

**Profa. Dra. Lys Esther Rocha**

---

**Profa. Dra. Ana Paula de Melo Loureiro**

**São Paulo, 19 de dezembro de 2003**

## *DEDICO ESTE TRABALHO*

a **DEUS** pois é inútil lutar contra Seus desígnios e ainda que eu conheça todos os mistérios e toda ciência sem a minha fé Nele eu nada seria e nada serei,

ao meu pai **Wilberth,** à minha tia **Vilza,** ao **Eduardo** e à **Nadime**, que me ajudaram a ter força para concluir mais esta etapa da minha vida e à minha mãe **Marina**, que não conseguiu ver esta tese finalizada,

ao Prof. Dr. **Henrique** pela orientação e pelo incentivo;

ao Prof. **Apostoli** pela co-orientação, pelos ensinamentos, pelo apoio e por ter me recebido no laboratório da Universidade de Brescia, Itália

## *AGRADECIMENTOS*

Aos coordenadores do curso de pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pela oportunidade;

À CAPES pela concessão das bolsas de doutorado e da modalidade "doutorado sanduíche";

Aos funcionários do laboratório de Higiene e Toxicologia Ocupacional, da Universidade de Brescia, Itália, pela valiosa contribuição;

Aos professores e funcionários do departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, pelos valiosos ensinamentos;

Aos funcionários da secretaria de pós-graduação pela ajuda;

Às professoras Sílvia Berlanga e Lys Esther pelas valiosas sugestões no exame de qualificação;

Às funcionárias da biblioteca pela elaboração da ficha catalográfica e normalização das referências bibliográficas;

Aos meus amigos Glória e Michele, Enrica, Michela, Manuela e Cristiana por estarem tão presentes em minha vida, apesar da distância transoceânica que nos separa;

Aos meus amigos e colegas da pós-graduação pelos momentos que dividimos nesta fase de nossas vidas e aos colegas da ANVISA pelo apoio;

Aos familiares e amigos por estarem presentes nesta minha fase de ausência de suas vidas;

À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho de pesquisa;

**Os Meus Sinceros Agradecimentos.**

# SUMÁRIO

**LISTA DE TABELAS** ..... vii
**LISTA DE FIGURAS** ..... ix
**RESUMO** ..... xi
**ABSTRACT** ..... xii
**1.INTRODUÇÃO** ..... 2
**2.REVISÃO DA LITERATURA** ..... 8
2.1 AS MUTAÇÕES E OS PRINCÍPIOS GERAIS DA CARCINOGÊNESE... 8
2.2 FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS E CARCINOGÊNESE ..... 12
2.3 EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL AOS FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS 18
2.3.1 Associação entre a exposição aos fármacos antineoplásicos e a ocorrência de câncer ..... 23
2.4 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DA CICLOFOSFAMIDA ..... 25
2.4.1 Propriedades físico-químicas da ciclofosfamida ..... 25
2.4.2 Usos ..... 26
2.4.3 Toxicidade da ciclofosfamida ..... 26
**3.AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL AOS FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS** ..... 35
**4.DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS PELA TÉCNICA DO *WIPE TEST*** ..... 52
**5.VALIDAÇÃO DAS TÉCNICAS DE AMOSTRAGEM E ANALÍTICAS** ..... 58
**6.CRITÉRIOS DE SEGURANÇA NA MANIPULAÇÃO DOS FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS** ..... 64
**7.OBJETIVOS E PLANO DE TRABALHO** ..... 72
**8.MATERIAL E MÉTODO** ..... 74
8.1 DESENHO DO ESTUDO ..... 74
8.2 DETERMINAÇÃO DA CICLOFOSFAMIDA ..... 76
8.2.1 Tratamento da amostra ..... 76
8.2.1.1 Material ..... 76
8.2.1.2 Técnica de extração do analito ..... 77
8.2.2 Validação analítica ..... 78

8.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... 79
**9.RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 82**
9.1 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DA CICLOFOSFAMIDA EM SUPERFÍCIES E MATERIAIS..... 83
9.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO..... 87
9.3 AMOSTRAS..... 92
**10.CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 109**
**11.ANEXOS..... 112**
ANEXO I- *Procedimentos preventivos para reduzir a exposição aos fármacos antinoplásicos*..... 112
ANEXO II- *Questionário para avaliar a exposição aos fármacos antineoplásicos*..... 114
**12.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 119**

# LISTA DE TABELAS

**Tabela 1**- Classificação dos antineoplásicos (KOROLKOVAS, 2002)..... 15

**Tabela 2**- Classificação dos fármacos antineoplásicos segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC), com última revisão em abril/ 2001..... 17

**Tabela 3**- Resumo dos riscos profissionais e suas localizações no ambiente hospitalar..... 18

**Tabela 4**- Tipos de amostragem ambiental para avaliar a exposição dos trabalhadores da área da saúde aos quimioterápicos antineoplásicos e as possíveis informações adquiríveis..... 39

**Tabela 5**- Monitorização ambiental da exposição ocupacional à ciclofosfamida..... 40

**Tabela 6**- Níveis de ciclofosfamida em *pads* (µg/dm$^2$) utilizados por trabalhadores envolvidos na preparação e administração do fármaco, em ambiente hospitalar..... 43

**Tabela 7**- Níveis de ciclofosfamida detectados na parte interna de luvas, confeccionadas com diversos materiais, utilizadas durante a preparação e a administração de quimioterápicos antineoplásicos..... 44

**Tabela 8**- Níveis de ciclofosfamida (µg/par) encontrados na parte interna de luvas utilizadas por trabalhadores envolvidos na preparação e na administração de ciclofosfamida no âmbito hospitalar, em estudo conduzido por MINOIA *et al.* (1999)..... 45

**Tabela 9**- Valores de ciclofosfamida urinária encontrados em trabalhadores de hospitais..... 47

**Tabela 10**- Sítios de amostragem de *wipe test* nos locais de preparação dos fármacos antineoplásicos..... 54

**Tabela 11**- Sítios de amostragem dos *wipe test* nos locais de administração dos fármacos antineoplásicos..... 54

**Tabela 12**- Utilização da técnica de *wipe test* para a avaliação da contaminação de superfícies pelos quimioterápicos antineoplásicos..... 55

**Tabela 13**- Níveis de ciclofosfamida em *wipe test*, expressos em µg/dm$^2$, encontrados em unidades hospitalares de preparação do fármaco..... 56

**Tabela 14**- Técnicas instrumentais empregadas para a análise de ciclofosfamida em matrizes ambientais e seus respectivos limites de detecção..... 60

**Tabela 15**- Resultados da validação do método de determinação de ciclofosfamida em amostras *wipe test* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, de acordo com os dados de SCHMAUS *et al.* (2002)..... 61

**Tabela 16-** Comparação entre os métodos utilizados para a determinação de ciclofosfamida urinária em trabalhadores expostos, em função de seus limites de detecção..... 62

**Tabela 17-** Métodos químicos de degradação da ciclofosfamida e seus respectivos resultados..... 69

**Tabela 18-** Caracterização do ambiente e das práticas de trabalho nos quatro centros hospitalares, a partir da análise do questionário..... 75

**Tabela 19-** Resultados da validação do método de determinação da ciclofosfamida em *wipe test* e luvas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa com prévia extração em fase sólida..... 89

**Tabela 20-** Concentração de ciclofosfamida encontrada nos *wipe test* coletados em diversas superfícies nos 4 centros hospitalares..... 95

**Tabela 21-** Resumo das medidas estatísticas das concentrações de ciclofosfamida, em ng/cm$^2$, encontradas no plano de trabalho da cabine nos quatro centros hospitalares avaliados..... 96

**Tabela 22-** Resumo das medidas estatísticas das concentrações de ciclofosfamida, em ng/cm$^2$, encontradas no pavimento adjacente à cabine nos quatro centros hospitalares avaliados..... 96

**Tabela 23-** Resumo das medidas estatísticas das concentrações de ciclofosfamida, em ng/cm$^2$, encontradas no plano de trabalho externo à cabine nos quatro centros hospitalares avaliados..... 96

**Tabela 24-** Valores de *p* encontrados após a aplicação do teste *Kruskal-Wallis* para a comparação entre as concentrações de ciclofosfamida, em ng/cm$^2$, nas superfícies amostradas nos quatro centros hospitalares..... 97

**Tabela 25-** Concentração de ciclofosfamida encontrada nas luvas utilizadas pelos trabalhadores e nas bolsas de infusão amostradas nos 4 centros hospitalares..... 101

**Tabela 26-** Concentração de ciclofosfamida em amostras coletadas de diferentes superfícies no Centro II, antes (Fase 1) e após (Fase 2) a utilização do sistema fechado Phaseal® ..... 105

**Tabela 27-** Concentração de ciclofosfamida em luvas e bolsas de infusão coletadas no Centro II, antes (Fase 1) e após (Fase 2) a utilização do sistema fechado Phaseal® ..... 105

# LISTA DE FIGURAS

**Figura 1**- A formação da célula cancerosa e sua migração no organismo..... 10

**Figura 2**- Estágios da carcinogênese: (1) iniciação; (2) promoção e (3) progressão..... 12

**Figura 3**- Fórmula estrutural da ciclofosfamida..... 25

**Figura 4**- Biotransformação da ciclofosfamida..... 29

**Figura 5**- Aspectos da exposição ocupacional aos fármacos antineoplásicos. 36

**Figura 6**- Sistema fechado Phaseal® composto por três partes: injetor, protetor e frasco para conter o fármaco..... 66

**Figura 7**- Espectro das substâncias N-trifluoroacetiladas: ciclofosfamida (A) e padrão interno (B), a partir de análise de solução-padrão por meio de CG-EM, em modo SCAN, com prévia extração em fase sólida..... 84

**Figura 8**- Cromatogramas obtidos após análise de: (A) adicionado de solução-padrão de ciclofosfamida a 50 ng/mL (13,3 min), em relação à ifosfamida (12,5 min); (B) bolsa de infusão com concentração não quantificada (<1,0 ng/mL); (C) bolsa de infusão com concentração igual a 640 ng de ciclofosfamida, em modo SIM= íon 307. As amostras foram analisadas por CG-EM com prévia extração em fase sólida..... 86

**Figura 9**- Linearidade do método utilizado para a determinação de ciclofosfamida em superfícies e luvas, no intervalo de 1 a 100 ng/mL, através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa com prévia extração do analito em fase sólida..... 88

**Figura 10**- Estabilidade da ciclofosfamida, a 30 ng/mL (A) e a 100 ng/mL (B), em *wipe test* estocado em congelador a -20°C e analisado por um período total de um mês através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa com prévia extração do analito em fase sólida..... 91

**Figura 11**- Comparação entre as concentrações de ciclofosfamida, em ng, encontradas nas amostras coletadas nos quatro centros hospitalares (teste Kruskal-Wallis: diferença não significativa, $p$= 0,2010)..... 97

**Figura 12**- Comparação entre as concentrações de ciclofosfamida (ng) encontradas nas superfícies amostradas em quatro centros hospitalares antes e depois da limpeza (teste Mann-Whitney: diferença não significativa, $p$>0,05)..... 99

**Figura 13**- Comparação entre as concentrações de ciclofosfamida (ng) encontradas em amostras coletadas na cabine, luvas e bolsas de infusão de quatro centros hospitalares (teste Kruskal-Wallis: diferença significativa entre as amostras do Centro IV, $p$=0,0248; teste Dunn´s: diferença significativa entre o plano de trabalho da cabine e as bolsas de infusão, $p$<0,05)..... 103

**Figura 14-** Comparação entre as concentrações de ciclofosfamida (ng) nas amostras coletadas no Centro II, antes e depois da utilização do sistema Phaseal® (teste Mann-Whitney: diferença significativa, $p<0,0001$)..... 106

# RESUMO

Trabalhadores da área da saúde, em laboratórios, hospitais e/ou outros locais, estão potencialmente expostos a numerosos riscos ocupacionais. A ampla e crescente utilização de fármacos antineoplásicos, na quimioterapia, é considerada um importante risco químico para o pessoal envolvido no preparo e na administração destas substâncias. O manuseio destes fármacos sem cuidados pode levar a inúmeros efeitos tóxicos. Alguns destes fármacos foram classificados pela IARC como carcinógenos e provavelmente carcinógenos para humanos. Para tais fármacos é difícil atingir uma dose de não efeito observado, pois a patologia provocada por eles é considerada multifatorial. Este estudo objetivou validar método para a determinação de ciclofosfamida, um dos fármacos mais utilizados e, classificado como carcinógeno para humanos, para posterior aplicação em amostras coletadas em situação de real exposição. O analito foi identificado e quantificado por CG-EM após extração do analito em fase sólida e derivação com anidrido trifluoroacético. A ifosfamida foi utilizada como padrão interno e o fármaco foi determinado em amostras provenientes de *wipe test* e luvas, coletadas em quatro hospitais italianos, dentro de um intervalo de calibração de 1 a 100 ng/mL. Os intervalos de coeficiente de variação obtidos, no ensaio da precisão do método, foram entre 0,5 e 10% (intra-ensaio) e 0 e 19% (interensaio). Amostras contendo ciclofosfamida foram analisadas durante um mês, sem perda significativa do analito. A porcentagem de recuperação foi 98,9%. Os valores de ciclofosfamida nas 176 amostras coletadas variaram de inferior ao limite de quantificação (1,0 ng/mL) a 141.186 ng. Os resultados, bem correlacionados com aqueles relatados na literatura, sugerem que o método pode ser utilizado na identificação da ciclofosfamida em diversas superfícies e materiais e pode ser considerado ferramenta útil na monitorização da exposição ocupacional à esta substância.

## *ABSTRACT*

Workers in laboratories and hospitals have potential exposure to numerous occupational hazards. The widespread use of antineoplastic drugs in chemotherapy is considered an important risk to staff involved in the preparation and administration to these drugs. Careless handling may lead toxic effects among the occupational exposure subjects. Some antineoplastic drugs were classified by IARC as carcinogenic and probably carcinogenic for humans. For carcinogenic agents the absence of a no-adverse-effect-level is supposed. In this study cyclophosphamide was quantified adapting a previous analytical method by gas chromatography coupled mass spectrometry (GC-MS) after solid phase extraction and derivatization with trifluoroacetic anhydride. This drug in fact is one of the most frequently used alkylating antineoplastic agent for different types of tumors and classified as human carcinogen. The ifosfamide was used as internal standard and the drug was measured by analysis in wipe samples and gloves, collected from four different hospitals, within a range from 1 to 100 ng/mL. The values of variation coefficient varied from 0.5 to 10% (intra-assay) and from 0 to 19% (interassay). Frozen reference wipe samples containing cyclophosphamide were analysed over one month and no significant loss was observed. The range obtained for bias assay was 83-116% and the recovery was 98.9%. The cyclophosphamide was measured in 176 samples with values ranging from below limit of quantification (1.0 ng/mL) to 141186 ng. The results, well related with those reported in literature, suggest that this method can be used to identify the cyclophosphamide from surfaces and materials samples and can be considered useful in exposure assessment to this drug.

# *Introdução*

# 1. INTRODUÇÃO

Os primeiros relatos de carcinogênese química datam de 1775 e foram feitos pelo médico Percival Pott, que correlacionou o câncer escrotal ao trabalho realizado pelos limpadores de chaminés. Posteriormente, através de experimentos realizados em animais, foi descoberta a ação carcinógena epitelial dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, agentes químicos importantes no âmbito ocupacional. De modo similar, a associação de câncer de bexiga à exposição ocupacional a 2-naftilamina identificou este composto como promotor de tal efeito. Tais descobertas auxiliaram posteriores pesquisas que fizeram a lista de carcinógenos químicos ser expandida (BERTRAM, 2001).

Nas décadas recentes constatou-se um declínio modesto na mortalidade por câncer na América do Norte e no oeste da Europa. Nos Estados Unidos, esta mortalidade diminuiu em 3,1%, entre 1990 e 1995, o que pode ser atribuído à prevenção, diagnóstico precoce e tratamento adequado. Na União Européia, a mortalidade por todas as causas declinou em 43% entre 1960 e 1994. Segundo GARATTINI & VECCHIA (2001), apesar dos avanços tecnológicos na prevenção, no diagnóstico e no tratamento do câncer, somente de 2 a 3% dos casos de câncer em estágio avançados podem ser curados.

No Brasil, o câncer é a segunda causa de morte, ficando atrás somente das doenças do aparelho circulatório. Segundo estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCa) para 2003, a doença seria responsável por 126.960 óbitos, sendo 68.350 do sexo masculino e 58.610 do sexo feminino, e o número de casos novos diagnosticados seria de 402.190. Os cânceres responsáveis pelas maiores taxas de incidência e mortalidade no país são os de pulmão, estômago e próstata para os homens; e os de mama, estômago e colo do útero para as mulheres (INCa, 2003).

No ambiente hospitalar, a manipulação de fármacos antineoplásicos (FAN) e imunossupressores, os procedimentos de esterilização com óxido de etileno e formaldeído e, ainda, a exposição aos anestésicos voláteis em salas de cirurgia, tais

como o halotano e o isoflurano, constituem riscos químicos genotóxicos (FORNI, 1994; WHITE *et al.*, 1996; JALOSZYNSKI *et al.*, 1999).

As questões que podem ser levantadas com relação aos FAN são: se existe um risco químico para profissionais da área da saúde que manipulam essas substâncias e em caso positivo, se é possível mensurar esse risco e prevení-lo de um modo adequado.

São questões de difícil solução uma vez que demandam um processo de avaliação do risco ocupacional a tais substâncias, ou seja, a delimitação das etapas: "hipótese do risco", "demonstração do risco", "medida do risco", "medida dos efeitos" e "controle do risco" (APOSTOLI *et al.*, 1994).

Os fármacos antineoplásicos são quimioterápicos utilizados no tratamento do câncer. O objetivo de seu emprego é a destruição seletiva de células tumorais, podendo agir direta ou indiretamente sobre estas. Contrariamente ao que ocorre no tratamento de outras patologias, o tratamento moderno do câncer compreende cada vez mais a quimioterapia combinada, e às vezes, em associação com outros métodos de tratamento (KOROLKOVAS, 2002). Entre os trabalhadores em contato com estas substâncias é comum o uso do termo "composto citotóxico", que pode ser relacionado à substância capaz de agir sobre as células. Todavia, nem todos os agentes antineoplásicos são citotóxicos e nem todas as substâncias citotóxicas são utilizadas para o tratamento do câncer (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Os possíveis riscos derivados da exposição ocupacional aos quimioterápicos antineoplásicos começaram a serem evidenciados ao final da década de 70. Os primeiros efeitos estudados foram exclusivamente do tipo agudo, decorrentes da exposição dérmica e inalatória, em casos de acidentes, formação de aerossóis ou erros na manipulação (PRIANTE *et al.*, 1994). Todavia, convém salientar que nem todos os quimioterápicos antineoplásicos são substâncias dotadas de ação carcinógena (ALESSIO *et al.*, 1996).

A *International Agency for Research on Cancer* (IARC) reconhece como carcinógenos para o ser humano a ciclofosfamida, a N,N-bis(2-cloroetil)-2-naftilamina, a clorambucila e o melfalano, dentre outros. Além destes, a terapia

composta por mostarda nitrogenada, vincristina, procarbazina e prednisona é dotada de ação carcinógena humana (TURCI *et al.*, 2002).

No ser humano existem múltiplas variáveis que podem influenciar o risco de aparecimento do câncer, incluindo idade, sexo, dieta, hereditariedade, estado hormonal, estado imunológico, presença de doenças pré-existentes e exposição anterior a carcinógenos ambientais.

Muitos pacientes são tratados com uma combinação de radiação e fármacos antineoplásicos, dificultando ou impossibilitando a determinação de quais agentes são carcinógenos humanos, ou produzem tumor secundário em conseqüência da terapia (IARC, 1986). Os benefícios causados por tais fármacos para pacientes portadores de câncer são inquestionáveis, porém não se pode negar o risco decorrente da exposição a estes agentes para os trabalhadores sanitários (MALUF & ERDTMANN, 2000). A necessidade de afrontar o risco para essa categoria de trabalhadores, envolvidos na preparação e administração de antineoplásicos, foi originada quando efeitos mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos foram correlacionados à exposição ocupacional a tais substâncias (APOSTOLI *et al.*, 2001).

Tratando-se de substâncias dotadas de ação genotóxica, não é possível estabelecer uma relação dose-efeito, todavia a exposição, mesmo em baixas doses, é considerada indevida (ALESSIO *et al.*, 1996). O termo genotóxico foi introduzido em 1973 como uma expressão geral para denotar efeitos tóxicos e/ou letais às células germinativas e somáticas, acreditando-se ser esta a base da carcinogenicidade das substâncias químicas (WILLIAMS, 2001).

No âmbito ocupacional, os quimioterápicos antineoplásicos podem ser absorvidos pela inalação dos aerossóis formados e dispersos no ambiente de trabalho e através da via dérmica, que é considerada uma das principais vias de introdução, pelo contato prolongado com superfícies e/ou indumentárias contaminadas (ALESSIO *et al.*, 1996).

As modalidades de exposição são bem identificáveis. Durante a fase de preparação dos fármacos algumas operações são particularmente de risco: a

abertura da ampola, a extração da agulha do frasco (pode formar aerossol), a expulsão de ar da seringa, a transferência do fármaco de um frasco a outro ou a uma bolsa de infusão por meio da seringa ou agulha e o descarte incorreto do frasco parcialmente utilizado. Na fase de administração do fármaco, a exposição pode ser verificada durante a sua inserção no defluxor e/ou durante a expulsão do ar da seringa, por formação de aerossol ou por contato cutâneo direto (APOSTOLI *et al.*, 2001).

Nas práticas hospitalares rotineiras, o contato com material biológico ou roupa íntima utilizada pelos pacientes tratados com estes tipos de fármacos representam uma possível fonte de exposição (FORNI, 1994; PRIANTE *et al.*, 1994; PALAZZO *et al.*, 1996; APOSTOLI *et al.*, 2001; USA, 2003). Além disso, o uso crescente dos antineoplásicos pode acarretar um futuro problema ambiental pois, até o momento, não existem normativas para o tratamento do descarte e das excreções dos pacientes sob terapia com estes fármacos. Considerando um hospital de dimensão média, a quantidade anual média de FAN administrada pode chegar a 50 kg (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Alguns organismos nacionais e internacionais, destinados à segurança dos trabalhadores, têm publicado documentos com a finalidade de fornecer indicações precisas para a redução dos riscos durante a manipulação de FAN. Em geral, as recomendações prevêem avaliação periódica da exposição, utilização de dispositivos de proteção coletiva e individual, vigilância sanitária e programas de formação e informação a fim de garantir níveis de exposição cada vez mais baixos (DEMENT & CROMER, 1992; PALAZZO *et al.*, 1996; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Os trabalhadores são expostos a mais de um antineoplásico, por isto é necessário determinar substâncias consideradas indicadores da exposição, tais como a 5-fluorouracila, o metotrexato, os compostos de coordenação da platina e a ciclofosfamida. Estes fármacos podem ser determinados em matrizes ambientais e biológicas segundo estratégia que prevê a seguinte hierarquia: a) determinação em superfícies; b) determinação em material biológico e c) determinação no ar (ALESSIO *et al.*, 1996; APOSTOLI *et al.*, 2001).

A ciclofosfamida é um dos agentes antineoplásicos mais freqüentemente utilizados para o combate a diferentes tipos de câncer, apresenta alta reatividade com o DNA e é mutagênica (IARC, 1981; SESSINK *et al.*, 1995).

À luz de todas estas considerações, reveste-se de importância enfocar a categoria de trabalhadores que cuidam da saúde das pessoas, mas que, paradoxalmente, não têm recebido a devida atenção quanto aos riscos à sua própria saúde.

# *Revisão da Literatura*

# 2. REVISÃO DA LITERATURA

## 2.1 AS MUTAÇÕES E OS PRINCÍPIOS GERAIS DA CARCINOGÊNESE

O organismo humano adulto é composto por aproximadamente $10^{15}$ células, muitas das quais se dividem e se diferenciam para a formação e posterior substituição contínua em órgãos e tecidos. Alguns exemplos são as células que compõem a camada do epitélio intestinal, as quais são substituídas aproximadamente a cada dez dias, e as células da medula óssea que se dividem e se diferenciam para produzir os eritrócitos e os leucócitos, com um tempo variando de 24 horas, em casos de alguns leucócitos, a 112 dias para os eritrócitos maduros. As células com capacidade para a divisão e preenchimento são denominadas células-tronco e calcula-se aproximadamente $10^{12}$ divisões por dia nos compartimentos destas células (BERTRAM, 2001).

A distribuição exata do material genético às células-filhas durante a divisão mitótica envolve muitos eventos integrados, que vão desde a replicação do DNA até a segregação cromossômica. A manutenção da normalidade da célula somática e do seu equilíbrio gênico depende da exatidão do processo em todos os níveis. Todos os organismos sofrem um certo número de mutações, como resultado do funcionamento normal de suas células e de sua interação com o ambiente (MACHADO-SANTELLI, 2003).

Mutação é, portanto, uma alteração súbita do material genético que é transmitida à descendência. São eventos raros, que ocorrem espontâneamente e ao acaso, podendo ser recorrentes. Nos eucariontes e, especialmente no ser humano, não é precisamente definida a mutabilidade do genoma. Todavia, de acordo com as estimativas, as taxas de neomutações no ser humano variam de $10^{-4}$ a $10^{-6}$ por gameta por geração, dependendo do *loco*. Além da abordagem genética, as mutações passaram a ser analisadas também citogenética e molecularmente. Os estudos indicam que embora a replicação do DNA seja um processo extremamente rígido em relação aos mecanismos de controle de sua fidelidade (normalmente uma

molécula de DNA é copiada com menos de um erro em $10^9$ nucleotídeos), o nível de erros pode ser aumentado por características específicas de certas sequências de DNA (MACHADO-SANTELLI, 2003).

Segundo BERTRAM (2001) as mutações aleatórias nos genes que controlam a proliferação celular são responsáveis pelo câncer, pois permitem a formação de células capazes de quebrar o mecanismo homeostático. Assim, a carcinogênese é a conversão de células normais, originadas como resposta de um mecanismo homeostático, em células capazes de crescimento autônomo descontrolado e invasão. Qualquer fator que altere o equilíbrio entre a formação e a morte celular, denominada apoptose quando resultante de um evento programado tem um potencial, se não corrigido, de alterar o número total de células em determinado órgão ou tecido.

Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de câncer (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas. Por outro lado, um tumor benigno significa simplesmente uma massa localizada de células que se multiplicam vagarosamente e se assemelham ao seu tecido original, raramente constituindo um risco de morte (INCa, 2003).

Os diferentes tipos de câncer correspondem aos vários tipos de células do corpo. Por exemplo, existem diversos tipos de câncer de pele porque esta é formada por mais de um tipo de célula. Se o câncer tem início em tecidos epiteliais como pele ou mucosas ele é denominado carcinoma, se em tecidos conjuntivos como osso, músculo ou cartilagem é chamado de sarcoma. Outras características que diferenciam os diversos tipos de câncer entre si são a velocidade de multiplicação das células e a capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes, as metástases (INCa, 2003). A Figura 1 mostra a célula cancerosa e sua migração.

No processo carcinogênico encontram-se envolvidos muitos genes, particularmente os que regulam a estabilidade e o reparo do DNA, o crescimento celular, a imunidade e a quimio-resistência às drogas. Os genes envolvidos nesse processo são denominados genes supressores tumorais, os quais parecem agir

normalmente, como reguladores da proliferação celular (CAVALCANTI JÚNIOR *et al.*, 2002).

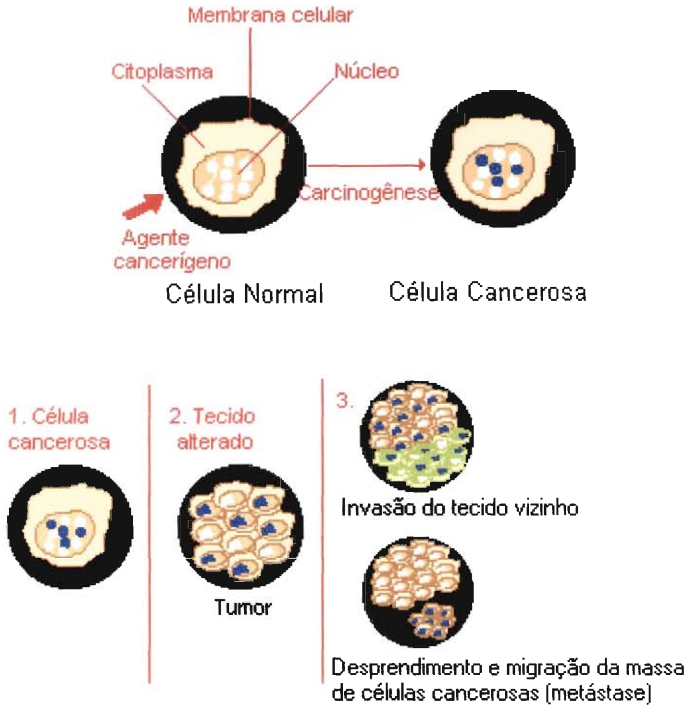



**Figura 1-** A formação da célula cancerosa e sua migração no organismo.
**Fonte:** INCa, 2003

O processo de carcinogênese envolve interações complexas entre vários fatores tanto exógenos quanto endógenos. As causas externas do câncer relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural. As causas internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas e estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. Esses fatores causais podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais (BERTRAM, 2001; INCa, 2003; MACHADO-SANTELLI, 2003).

É estimado que de 80% a 90% dos casos de câncer estão associados a fatores ambientais. Alguns deles são bem conhecidos: o cigarro pode causar câncer de pulmão, a exposição excessiva ao sol pode ocasionar câncer de pele, e alguns vírus podem causar leucemia, outros estão em estudo, tais como alguns componentes

dos alimentos e, provavelmente, muitos são completamente desconhecidos. O envelhecimento traz mudanças nas células que aumentam a sua suscetibilidade à transformação maligna. Isso, somado ao fato de as células das pessoas idosas terem sido expostas por mais tempo aos diferentes fatores de risco para câncer, explica em parte o porquê de o câncer ser mais freqüente nesses indivíduos (INCa, 2003).

Os carcinógenos DNA reativos, conhecidos como genotóxicos, são aqueles que agem nas células-alvo de sua carcinogenicidade formando adutos de DNA, que é o princípio básico para à transformação neoplásica. Os carcinógenos epigenéticos, ao contrário, não formam adutos de DNA, mas produzem, em células-alvo, efeitos que indiretamente levam a transformação neoplásica ou que aumentam o desenvolvimento de câncer em células transformadas geneticamente. Como exemplos de carcinógenos DNA reativos citam-se, entre outros, as mostardas nitrogenadas e o benzo(a)pireno. As bifenilas policloradas e o hormônio dietilestilbestrol são exemplos de carcinógenos epigenéticos (WILLIAMS, 2001).

O processo de carcinogênese, representado na Figura 2, em geral se dá lentamente, podendo levar vários anos para que uma célula cancerosa prolifere e dê origem a um tumor visível. Esse processo passa por vários estágios antes de chegar ao tumor: iniciação, promoção e progressão (INCa, 2003).

No estágio de iniciação, o primeiro estágio da carcinogênese, as células sofrem o efeito dos agentes carcinógenos que provocam modificações em alguns de seus genes. Nesta fase as células se encontram, geneticamente alteradas, porém ainda não é possível se detectar clinicamente um tumor. Encontram-se "preparadas", ou seja, "iniciadas" para a ação de um segundo grupo de agentes que atuará no próximo estágio. No estágio de promoção, as células geneticamente alteradas, ou seja, "iniciadas", sofrem o efeito dos agentes cancerígenos classificados como oncopromotores. A célula iniciada é transformada em célula maligna, de forma lenta e gradual. Para que ocorra essa transformação, é necessário um longo e continuado contato com o agente carcinógeno promotor. A suspensão do contato com agentes promotores muitas vezes interrompe o processo nesse estágio. Alguns componentes

da alimentação e a exposição excessiva e prolongada a hormônios são exemplos de fatores que promovem a transformação de células iniciadas em malignas.

Finalmente, o estágio de progressão se caracteriza pela multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas. Nesse estágio o câncer já está instalado, evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações clínicas da doença (INCa, 2003).

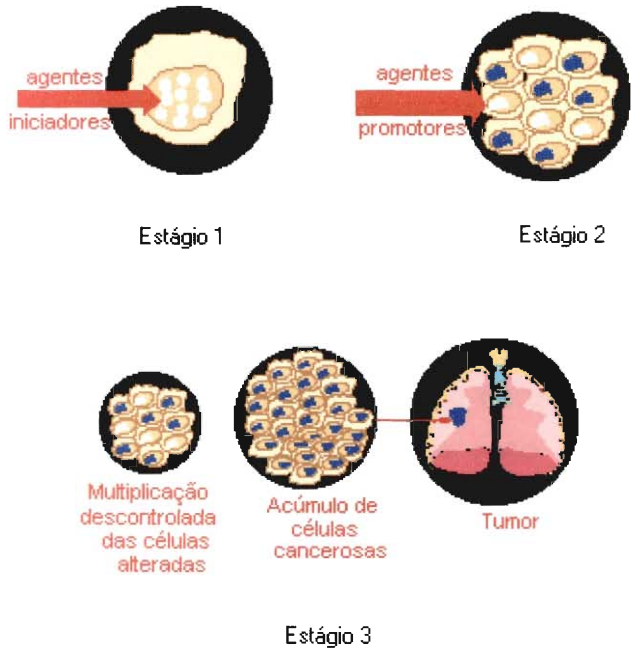



**Figura 2-** Estágios da carcinogênese: (1) iniciação; (2) promoção e (3) progressão.
**Fonte:** INCa, 2003

## 2.2 FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS E CARCINOGÊNESE

Quimioterapia antineoplásica é o método que utiliza compostos químicos, isolados ou em combinação, com o objetivo de tratar o câncer. Pode ser empregada curativa ou paliativamente, dependendo do tipo de tumor, da extensão da doença e da condição do paciente (MONTEIRO, 2001).

Muitos agentes químicos têm sido utilizados no tratamento do câncer há várias décadas. Durante este tempo muitos fármacos com diferentes mecanismos de ação têm sido sintetizados e adaptados para o uso clínico.

Os primeiros documentos sobre a quimioterapia aplicada a pacientes com câncer são datados de 1865. Na década de 40, o desenvolvimento de fármacos antineoplásicos foi iniciado com a utilização clínica do primeiro agente, a mostarda nitrogenada. Os agentes mostarda foram sintetizados primariamente como gases de guerra; todavia, devido aos seus efeitos sistêmicos, tais como leucopenia, aplasia da medula óssea e dissolução de tecidos linfóides, foram pesquisados para uso na terapia contra o câncer. No entanto, vários agentes utilizados na quimioterapia estão também associados à indução ao câncer (JACKSON *et al.*, 1996; KESHAVA & ONG, 1999).

Há profunda diferença na sensibilidade da ação dos fármacos antineoplásicos (FAN) em um mesmo tumor. Esta diferença pode ser quantitativa e/ou qualitativa, o que justifica a administração ao mesmo tempo de um número maior de fármacos caracterizados por diferentes mecanismos de ação, visando obter o máximo de efeito citotóxico. A preferência pelo uso da combinação de fármacos (poliquimioterapia) em relação à administração de um único princípio ativo se justifica pela maior probabilidade de limitar o aparecimento de clones de células resistentes (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Os FAN, além de serem utilizados no tratamento do câncer, são também utilizados no tratamento de doenças auto-imune e em indivíduos que recebem transplantes de órgãos (IARC, 1986; DEL GAUDIO & MENONNA-QUINN, 1998).

São indiscutíveis os efeitos benéficos da terapia antineoplásica. Após extensa revisão da literatura, KOUKOUKIS *et al.* (2002) sugerem que o tratamento de pacientes idosos com linfomas em estágios avançados com terapia combinada (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona), apresenta resultados satisfatórios. Todavia, as substâncias químicas antineoplásicas mais efetivas também promovem experiências traumáticas para os pacientes tratados, com vários sintomas de toxicidade direta. Tais agentes podem ainda promover o aparecimento de câncer secundário, após cessado o tratamento quimioterápico, pois muitos são

mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos em vários sistemas experimentais e em humanos (FORNI, 1994; FERGUSON & PEARSON, 1996; BERTRAM, 2001).

Os antineoplásicos podem ser administrados por várias vias, tais como oral, intramuscular, subcutânea, intra-arterial, intrapleural, intratumoral, intracística e em infusão intravenosa. Estes agentes podem ser administrados isoladamente ou em terapia combinada (DEL GAUDIO & MENONNA-QUINN, 1998). Em estudo realizado por OHTA *et al.* (2001) foi avaliada a citotoxicidade de sete agentes quimioterápicos utilizados na prática clínica. Os autores relatam que efeitos aditivos ou sinérgicos foram observados quando os agentes são usados em terapia combinada. Como exemplo, cita-se a combinação entre ciclofosfamida e 5-fluorouracila, mais citotóxica em relação à utilização isolada de cada agente.

Os FAN constituem um grupo heterogêneo de substâncias químicas capazes de inibir o crescimento e/ou os processos vitais das células tumorais com uma toxicidade tolerável sobre as células normais (LUCCOLI *et al.*, 1994; MALUF & ERDTMANN, 2000; MINOIA & PERBELLINI, 2000). Podem ser classificados em agentes alquilantes, antimetabólitos, compostos de platina, antibióticos, produtos vegetais, hormônios e análogos, e agentes diversos (Tabela 1).

Os agentes alquilantes são assim chamados porque atuam alquilando ácidos nucleícos e proteínas, sendo o DNA a molécula mais sensível. Os antimetabólitos são análogos estruturais dos metabólitos compreendidos na biossíntese de ácidos nucleícos e de cofatores contendo purina e pirimidina. Os compostos de platina consistem em complexos de coordenação do metal e seu mecanismo é semelhante aos alquilantes bifuncionais, ou seja, estabelecem ligação cruzada com a fita de DNA, interferindo assim, na sua ação. Os antibióticos são obtidos por fermentação microbiana e seu efeito antineoplásico é pela ligação ao DNA celular e por reação com ele. Os produtos vegetais, dentre os quais os alcalóides da vinca, comportam-se como inibidores mitóticos, atuando por complexação com a tubulina, o componente proteico dos microtúbulos e do fuso mitótico, interferindo com a montagem de microtúbulos e interrompendo a divisão celular na metáfase. Podem também interferir com o metabolismo de aminoácidos. Os hormônios podem agir

complexando-se com receptores citoplásmaticos específicos nas células cancerosas e alguns podem apresentar efeitos antiestrogênicos (KOROLKOVAS, 2002).

**Tabela 1**- Classificação dos antineoplásicos (KOROLKOVAS, 2002)

| ***Classe de antineoplásicos*** | ***Exemplos de fármacos*** |
|---|---|
| ***agentes alquilantes*** | ciclofosfamida, clorambucila, ifosfamida, melfalano, carmustina, fotemustina, lomustina, bussulfano, dacarbazina |
| ***antimetabólitos*** | metotrexato, raltitrexato, capecitabina, citarabina, 5-fluorouracila, gencitabina, cladribina, fludarabina, mercaptopurina, tioguanina |
| ***compostos de platina*** | carboplatina, cisplatina, oxaliplatina |
| ***antibióticos*** | bleomicina, doxorrubicina, daunorrubicina, dactinomicina, epirrubicina, idarrubicina, mitomicina |
| ***produtos vegetais*** | vincristina, vimblastina, etoposido, teniposido |
| ***hormônios e análogos*** | dexametasona, prednisona, tamoxifeno |
| ***agentes diversos*** | aminoglutetimida, asparaginase, tretinoína, procarbazina, interferona α e β, interleucina-2 |

Em paralelo à crescente utilização destes fármacos na clínica médica, estão sendo efetuados numerosos estudos para evidenciar os seguintes efeitos indesejáveis nos pacientes: imunossupressão, danos ao sistema hematopoiético, teratogenicidade, embriotoxicidade e surgimento de neoplasias secundárias. (PRIANTE *et al.*, 1994; WITT & BISHOP, 1996; DEL GAUDIO & MENONNA-QUINN, 1998).

Os agentes alquilantes, como a ciclofosfamida, após biotransformação, tornam-se potentes agentes eletrofílicos ligando-se covalentemente a grupos fosfato, amino, sulfidrila, hidroxila, carboxila e imidazol. A captação celular se faz através de transporte ativo, com transportadores fisiológicos, ou passivamente. O fármaco se decompõe espontaneamente em pH fisiológico e os íons alquilam o DNA e/ou as proteínas. Este mecanismo responde tanto pelos efeitos farmacológicos quanto pelos efeitos tóxicos. Os mais ativos são os compostos bifuncionais, as "mostardas de dois braços" que podem dar origem a ligações entre duas cadeias de ácidos nucleícos ou entre um ácido nucleíco e uma proteína e, assim, produzem um dano

maior ao DNA, em relação aos agentes alquilantes monofuncionais (IARC, 1981; SESSINK *et al.*, 1995a; SESSINK *et al.*, 1995b; CUNNINGHAM *et al.*, 1998; MINOIA & PERBELLINI, 2000; KOROLKOVAS, 2002).

No DNA, o principal local de ataque dos agentes alquilantes é o átomo **N-7** da guanina, embora possam agir também sobre outros locais, tais como o **N-3** da guanina, **N-3**, **N-1** e **N-7** da adenina, **O-6** da timina e **N-3** da citosina (KOROLKOVAS, 2002).

A IARC tem reconhecido haver evidências suficientes de carcinogenicidade para alguns fármacos, como demonstrado na Tabela 2 (IARC, 1981; IARC, 1986). Quase todos os fármacos estudados por esta agência resultam capazes de, em animais de experimentação, causar danos ao embrião e induzir malformações fetais (LUCCOLI *et al.*, 1994).

O risco de tumor, após o tratamento com estes fármacos, é confirmado pela constatação da maior incidência de neoplasias em indivíduos que recebem tais substâncias como parte do tratamento após transplante de orgãos. Também, nos pacientes com neoplasia e tratados com esses fármacos, foi documentado o desenvolvimento de câncer secundário que não faziam parte da história natural da patologia tumoral primitiva, tal como elevada incidência de leucemia mielóide aguda em indivíduos com tumores sólidos. Efeitos sobre o sistema reprodutivo, que consistem em aumento da indução ao aborto e malformações, foram também documentados (ALESSIO *et al.*, 1996). O risco é proporcional à dose acumulada, com maior susceptibilidade dos indivíduos mais jovens (TUCKER *et al.*, 1988).

A IARC relatou que, de 1853 pacientes com artrite reumatóide que receberam tratamento com clorambucil e ciclofosfamida, 15 destes, o que equivale a 0,85%, desenvolveram leucemia aguda. Todavia, o neoplasma não se desenvolveu em pacientes tratados por um período menor que 6 meses ou naqueles que receberam uma dose menor que 1 g de clorambucil ou 50 g de ciclofosfamida (IARC, 1986).

**Tabela 2-** Classificação dos fármacos antineoplásicos segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC), com última revisão em abril/ 2001

| *Grupo* | *Fármaco* |
|---|---|
| **1**<br>**carcinógenos para o ser humano** | - ciclofosfamida<br>- N,N-bis(2-cloroetil)-2-naftilamina<br>- 1,4-butanodiol dimetansulfonato<br>- clorambucila<br>- 1-(2-cloroetil)-3-(4-metlcicloexil)-1-nitrosouréia<br>- melfalano<br>- terapia composta por mostarda nitrogenada, vincristina, procarbazina e prednisona |
| **2A**<br>**prováveis carcinógenos para o ser humano** | - adriamicina<br>- biscloroetilnitrosouréia<br>- 1-(2-cloroetil)-cicloexil-1-nitrosouréia<br>- cisplatina<br>- N-metil-N-nitrosouréia<br>- mostarda nitrogenada<br>- cloridrato de procarbazina<br>- azacitidina<br>- clorozotocina |
| **2B**<br>**possíveis carcinógenos para o ser humano** | - mostarda nitrogenada N-óxido<br>- dacarbazina<br>- daunorrubicina<br>- mitomicina c |
| **3**<br>**não classificados com relação à carcinogenicidade humana** | - ifosfamida<br>- 5- fluorouracila<br>- prednisona<br>- metotrexato<br>- vincristina<br>- vimblastina |

**Fonte:** TURCI *et al.* (2002)

Há inúmeros fatores que podem dificultar a avaliação da incidência de câncer secundário em pacientes tratados com FAN sendo, o principal, o uso combinado de terapias e o modo de administração da terapia, doses múltiplas ou únicas, ou pela ordem do tratamento. Foi relatado por JACKSON *et al.* (1996) que pacientes que receberam tratamento por radiação seguido de quimioterapia apresentaram maior risco de desenvolver câncer secundário em relação aos pacientes que receberam primeiro a quimioterapia seguida de radiação.

## 2.3 EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL AOS FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS

Um hospital, assim como qualquer ambiente de trabalho, apresenta inúmeros riscos à saúde dos trabalhadores, demonstrados na Tabela 3. Corroboram para tais riscos a presença de agentes químicos, físicos e biológicos no ambiente hospitalar (DEMENT & CROMER, 1992).

**Tabela 3**- Resumo dos riscos profissionais e suas localizações no ambiente hospitalar

| Local | Riscos |
|---|---|
| anátomo-patologia | infecção, contato com formaldeído, glutaraldeído, substâncias inflamáveis, solventes, fenóis |
| assistência ao paciente | esforço físico, postura, queda, infecções, ferimentos em geral, contato com substâncias tóxicas, agentes quimioterápicos, radiações, eletricidade |
| central de esterilização | contato com óxido de etileno, infecções, cortes, detergentes, vapores, gases inflamáveis, esforço físico |
| cozinha | piso escorregadio, instrumentos de corte ou pontiagudos, detergentes, desinfetantes, amoníaco, cloro, solventes, soluções caústicas, praguicidas, fornos de microondas, vapores, calor, eletricidade, esforço físico |
| diálise | infecção, contato com formadeído, glutaraldeído |
| farmácia | contato com fármacos, esforço físico |
| armário | esforço físico, calor |
| laboratório | infecção, substâncias tóxicas, formaldeído, solventes, agentes inflamáveis e explosivos, carcinógenos, agentes criogênicos, radiações, lixos tóxicos, contaminação com material infectado |
| lavanderia | piso escorregadio, esforço físico, rumores, calor, infecções, cortes, ferimentos, sabões, detergentes, água sanitária, solventes, lixos tóxicos e infectantes |
| depósito | iluminação, esforço físico, ruptura de recipientes |
| manutenção | eletricidade, acidentes, ruídos, fumos de solda, asbestos, solventes, monóxido de carbono, óxido de etileno, freon, verniz, cola, água de escoamento, calor, frio, queda, esforço físico |
| medicina nuclear | radionuclídeos, radiações, infecção |
| radiologia e radioterapia | radiações, esforço físico |
| sala operatória | anestésicos, antissépticos, gases comprimidos, radiações, infecções, cortes, ferimentos, eletricidade, esforço físico |
| serviços hospitalares | sabões, detergentes, solventes, desinfetantes, glutaraldeído, infecções, cortes, ferimentos, lixos tóxicos, material infectado, radioativos, eletricidade, esforço físico, quedas |
| escritório | uso do computador, qualidade do ar, postura |

**Fonte:** CESANA *et al.* (1998)

Entre os agentes químicos pode ser destacada a exposição aos quimioterápicos antineoplásicos, que constituem uma categoria de fármacos cujo emprego tem aumentado progressivamente nos últimos decênios, como resultado do número crescente de casos de neoplasias diagnosticadas e da necessidade de se dispor de formulações sempre novas que ofereçam aos pacientes melhor qualidade de vida (KESHAVA & ONG, 1999; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

No ano de 1979, FALCK *et al.*, demonstraram a eliminação de substância mutagênica, na urina de enfermeiros não-fumantes, do setor oncológico de um hospital. A partir disto, na década de 80, iniciaram-se várias pesquisas cujo objetivo era verificar os efeitos genotóxicos de algumas substâncias utilizadas no ambiente de trabalho, contudo, esta década foi também marcada pelo aumento da mortalidade, por câncer, de indivíduos que trabalhavam em laboratórios analíticos (OLIN & AHLBOM, 1980; HOAR & PELL, 1981; PLEVEN *et al.*, 1983; HARRINGTON & DOAKES, 1984; WALRATH *et al.*, 1985; MAHER & DEFONSO, 1986; HALL *et al.*, 1991).

Como exemplos de grupos expostos aos FAN, podem ser citados os pacientes, indivíduos que trabalham nas indústrias farmacêuticas, trabalhadores que preparam e administram fármacos, médicos e enfermeiras que cuidam dos pacientes, pessoal relacionado à limpeza, familiares dos pacientes e pesquisadores (SORSA *et al.*, 1996; DEL GAUDIO & MENONNA-QUINN, 1998).

A absorção dos quimioterápicos antineoplásicos pela via inalatória pode estar associada ao surgimento de efeitos diretos na mucosa das vias aéreas superiores e nos brônquios. A absorção por ingestão pode se originar da deglutição do muco, proveniente do mecanismo de depuração brônquica, do contato das mãos contaminadas com a mucosa oral ou a ingestão de alimentos contaminados. Em casos de acidentes, podem ser absorvidos através da mucosa ocular (HIRST *et al.*, 1993; MINOIA & PERBELLINI, 2000, USA, 2003).

Os antineoplásicos podem se dispersar no ambiente de trabalho no estado sólido, na forma de pó, ou, com maior freqüência, no estado líquido, na forma de aerossóis. De menor relevância é a dispersão na forma de vapor (MINOIA & PERBELLINI, 2000; USA, 2003a).

A via percutânea é a principal via de absorção. Estudos demonstram que após a aplicação de 50 µL sobre a pele (superfície de aproximadamente 10 $cm^2$), de uma solução de ciclofosfamida a 20 mg/mL, a eliminação urinária pode chegar a 16 µg/ciclofosfamida nas 24 horas sucessivas. Se a exposição é acompanhada de uma ação lesiva na pele, a absorção é facilitada (MINOIA & PERBELLINI, 2000; USA, 2003a).

Foi estimado por KROMHOUT *et al.*, (2000) que durante uma jornada de trabalho com manipulação de FAN, quantidades de 0,5 a 250 µg ou de 10,0 a 12,5 µL (solução 20 g/L) podem contaminar a pele e representar risco para o trabalhador exposto. Estes pesquisadores recomendam o uso de luvas visando diminuir a contaminação dérmica.

Após a absorção, os FAN são distribuídos e se alojam nos tecidos-alvo, o que explica tanto o efeito terapêutico quanto o efeito tóxico. Da biotransformação, sobretudo hepática, podem se originar compostos mais reativos que o precursor. A eliminação, seja da forma inalterada ou biotransformada, se dá, em maior proporção, pela via urinária, com exceção de alguns fármacos que são excretados por via biliar (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Os efeitos patológicos descritos nos indivíduos ocupacionalmente expostos são difíceis de demonstrar. Os estudos disponíveis sobre os danos reprodutivos sugerem a presença de associação causal, no aumento do número de abortos, demonstrado em mulheres que manipulavam estes fármacos sem adoção de medidas preventivas adequadas, sobretudo no primeiro trimestre de gravidez. Os dados sobre a mortalidade, causada pela presença de câncer, dos trabalhadores expostos aos agentes antineoplásicos são ainda insuficientes para caracterizar este grupo como sendo o de maior risco para desenvolver neoplasias pela atividade ocupacional (ALESSIO *et al.*, 1996).

Diversos FAN, em particular os alquilantes, são dotados de ação irritante e alergênica, que pode se manifestar pelo contato cutâneo ou com mucosas, principalmente a nasal e orofaríngea. Como exemplos de efeitos encontrados em trabalhadores expostos a estes fármacos, resultantes da ação irritante, são relatados vermelhidão cutânea, edema de mucosa, úlcera e estomatite. Entre as respostas

imediatas da presença destas substâncias são citados prurido, eritema ou presença de erupções cutâneas. Os efeitos resultantes da ação alérgica são edema de pálpebra, náuseas e dispnéia asmatiforme e, em casos de exposição aguda relevante, edema de glote (MERLER *et al.*, 1996).

Cefaléia, vertigens, tonturas, queda de cabelo, hiperpigmentação cutânea e vômitos são efeitos observados em trabalhadores que preparam e administram quimioterápicos sem proteção coletiva ou individual, o que resulta em absorção considerável, sendo tais efeitos comparados àqueles apresentados por pacientes em tratamento com estas substâncias (MERLER *et al.*, 1996).

Os efeitos sistêmicos dos fármacos antineoplásicos ocorrem no sistema hematopoiético, provocando leucopenia, anemia e aplasia medular, e em outros órgãos e tecidos, tais como o aparelho auditivo, fígado, pâncreas e rins. Também podem ser observados efeitos cardíacos, pulmonares e reprodutivos. É importante salientar que estes são efeitos apresentados por pacientes em tratamento com tais substâncias, todavia podem ser verificados também nos profissionais da saúde expostos (MERLER *et al.*, 1996).

O confronto dos resultados das avaliações, realizadas em grupos sanitários expostos e não expostos, demonstra maior freqüência de sintomalogia em trabalhadores expostos (MERLER *et al.*, 1996).

Em pacientes tratados com alguns FAN, podem ser observados efeitos nefrotóxicos. Apesar disto, SESSINK *et al.* (1997a) em estudo realizado para detectar possíveis efeitos nefrotóxicos precoces, não encontraram diferença estatisticamente significativa entre a excreção urinária de albumina e proteína ligada ao retinol em grupos de trabalhadores de hospitais expostos e não expostos a tais agentes. Todavia, os autores sugerem que os níveis de exposição são determinantes para o aparecimento destes efeitos.

Em enfermeiras de setores oncológicos, evidenciou-se danos hepáticos com comprometimento mais enzimático do que histológico. Entre os efeitos genotóxicos dos fármacos antineoplásicos podem ser observados aumento de aberrações cromossômicas e aumento de troca de cromátides-irmãs. Também aumento do risco

de malformações e de abortos espontâneos foram associados à exposição aos FAN durante a gravidez (SELEVAN *et al.*, 1985; PRIANTE *et al.*, 1994; VALANIS *et al.*, 1999).

VALANIS *et al.* (1997) aplicaram um questionário para 4659 indivíduos expostos a quimioterápicos antineoplásicos, para avaliar infertilidade entre farmacêuticos e enfermeiros. Os resultados foram elevados para as mulheres e estatisticamente não significativos para os homens.

Devem ser consideradas também as eventuais nebulizações que podem ser produzidas no enxague do vaso sanitário, o contato com os recipientes que contém as excreções dos pacientes em tratamento e a manutenção da cabine (HIRST *et al.*, 1983; FORNI, 1994; LUCCOLI *et al.*, 1994; PALAZZO *et al.*, 1996; USA, 2003).

Em 1998, GUEDES traçou um perfil dos trabalhadores expostos aos FAN em hospitais do Distrito Federal. A maioria dos trabalhadores era do sexo feminino, faixa etária de 31 a 45 anos, portanto em idade fértil. Grande parte trabalhava a menos de dois anos com antineoplásicos, contudo um quarto desses trabalhadores manuseiava esses agentes a mais de seis anos. Muitos deles já haviam manipulado os antineoplásicos sem utilizar qualquer técnica de segurança ou equipamento de proteção. Aproximadamente metade dos trabalhadores já havia sofrido algum tipo de acidente com antineoplásico e destes quase 95% não fizeram comunicação de acidente de trabalho. Embora as condições de manuseio e segurança dos trabalhadores com antineoplásicos tenham melhorado consideravelmente, nos últimos 10 anos, GUEDES sugere que ainda há muitas deficiências quanto ao treinamento e vigilância à saúde desse grupo de trabalhadores.

Objetivando descrever os procedimentos de biossegurança utilizados no preparo, na administração e no descarte de material contaminado por substâncias antineoplásicas, MONTEIRO (2001) realizou um estudo cuja coleta de dados foi feita por meio de entrevista com trabalhadores de um hospital universitário do estado de Minas Gerais. Grande parte dos enfermeiros, dos técnicos e dos auxiliares de enfermagem, descreveram que não utilizam paramentação adequada, material de

proteção e não seguiam as técnicas de biossegurança recomendadas, evidenciando a necessidade de capacitação e recapacitação destes profissionais.

### 2.3.1 Associação entre a exposição aos fármacos antineoplásicos e a ocorrência de câncer

A associação entre a exposição aos FAN e o aparecimento de câncer já é estabelecida, tanto em estudos experimentais quanto em pacientes tratados. A dose administrada a um paciente varia em função das características antropométricas, idade, presença de patologias e combinação dos fármacos administrados.

Entretanto, em uma exposição ocupacional, é difícil estimar a exposição ou a dose absorvida. Estudos, como o realizado por ÜNDEĞER *et al.*, em 1999, demonstram o possível risco genético para os indivíduos que manipulam os fármacos antineoplásicos, enfatizando a importância da adoção de medidas de proteção e de boas práticas de trabalho.

Após avaliar 91 enfermeiras de quatro hospitais na Alemanha, FUCHS *et al.* (1995) sugeriram que os efeitos genotóxicos podem ser causados pela exposição ocupacional, sem as devidas medidas de proteção, à mistura de agentes antineoplásicos. Neste estudo, as enfermeiras foram divididas em dois grupos: no grupo I, de 10 enfermeiras que não utilizavam medidas de segurança, foram observadas alterações significativas no DNA quando comparado às do grupo II, composto por enfermeiras sem este tipo de exposição ocupacional. Após a implantação das medidas de proteção, ou seja, uso de luvas e máscaras, houve decréscimo significativo dos efeitos anteriormente observados no primeiro grupo.

MALUF & ERDTMANN (2000) avaliaram a freqüência de micronúcleos em 10 indivíduos ocupacionalmente expostos a agentes antineoplásicos de um hospital. Os resultados da primeira avaliação revelaram maior freqüência de linfócitos micronucleados nestes trabalhadores, em relação aos do grupo controle, constituído de trabalhadores do mesmo hospital, porém não expostos aos FAN. Quatro anos

depois da adoção de melhores condições de trabalho, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na avaliação destes grupos.

Medidas ambientais, realizadas em indústrias farmacêuticas na década de 80, revelaram concentrações em torno de 810 $\mu g/m^3$ de ciclofosfamida e de 75 $\mu g/m^3$ de 5-fluorouracila. SESSINK *et al.* (1995a) formularam a hipótese de que a dose de ciclofosfamida absorvida e acumulada por um trabalhador sanitário que utiliza medidas de proteção em 10 anos de trabalho, 200 dias/ano, é de 7-36 mg. SORSA *et al.* (1988) calcularam que para um indivíduo exposto a uma concentração ambiental de ciclofosfamida de 0,5 $\mu g/m^3$ por 2 horas/dia, 5 dias/semana, 40 semanas/ano, a quantidade absorvida é de 0,2 mg/ano. A dose terapêutica para um paciente pode chegar a 2 g. Os dados sugerem que há uma diferença em torno de três ordens de grandeza entre a exposição de trabalhadores sanitários e os pacientes tratados com quimioterápicos antineoplásicos. Todavia, a duração e a freqüência da exposição são fatores diretamente implicados no aumento do risco relativo de desenvolver câncer no sistema hematopoiético.

SESSINK *et al.* (1995a) relataram, pela primeira vez, uma estimativa do risco de câncer em mulheres envolvidas na manipulação dos FAN com base em um modelo experimental e epidemiológico para a ciclofosfamida. A estimativa proposta está entre 17 e 100 casos de leucemia por milhão, se utilizadas medidas de proteção.

Posteriormente, SESSINK & BOS (1999) estimaram o aparecimento de 95 a 600 casos a mais de câncer na bexiga e leucemia em homens e mulheres, por milhão de trabalhadores. Estes resultados se referem a exposição aos FAN durante 40 anos, 200 dias/ano, para um indivíduo com 70 kg de peso corpóreo.

Os dados apresentados demonstram a importância de se efetuar a produção, o preparo e a administração destes fármacos em condições seguras, isto é, utilizando medidas ambientais e pessoais que possam proteger e evitar o contato e a absorção por parte dos trabalhadores.

## 2.4 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DA CICLOFOSFAMIDA

### 2.4.1 Propriedades físico-químicas da ciclofosfamida

A ciclofosfamida é um pó cristalino, fino, branco e inodoro. É um composto cíclico derivado do agente alquilante mostarda nitrogenada e consiste de um anel fosforamida ligado a uma molécula bifuncional contendo dois grupos cloroetila, responsáveis pela liberação dos grupamentos alquila (Figura 3).

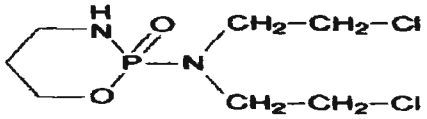



**Figura 3**- Fórmula estrutural da ciclofosfamida.
**Fonte**: ANDERSON *et al.*, 1995

Apresenta peso molecular igual a 260 ($C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P.H_2O$) e registro no Chemical Abstracts Service (CAS) n° 50-18-0 (ANDERSON *et al.*, 1995; SESSINK & BOS, 1999; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

O pó branco cristalino apresenta temperatura de fusão de 49,9-53°C e passa ao estado líquido perdendo a água de cristalização; é inflamável em temperatura acima de 110°C. É solúvel em água (1:25), etanol: água (1:1:25) e em álcool (1:1), benzeno, clorofórmio, dioxana, glicóis e pouco solúvel em éter. A solução aquosa tem atividade por poucas horas, à temperatura ambiente (25°C), e ocorre hidrólise a temperaturas acima de 30°C, com liberação dos átomos de cloro e outros fumos tóxicos, tais como óxido de fósforo e fosfina. A relativa solubilidade em meio aquoso implica em aumento no tempo de exposição (ANDERSON *et al.*, 1995; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

A ciclofosfamida é incompatível com agentes fortemente oxidantes, ácidos e bases fortes; a sua decomposição libera ácido clorídrico, óxido de nitrogênio, monóxido de carbono e anidrido carbônico. O pó deve ser conservado entre 2 e 8°C

e os comprimidos a temperatura inferior a 25ºC e sempre ao abrigo da luz (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

### 2.4.2 Usos

A ciclofosfamida (N,N- bis (2-cloroetila) tetraidro-2H-1,3,2,-oxafosforina-2-amina, 2-óxido monoidratado) é uma substância utilizada somente como fármaco. Seu uso primário é como um quimioterápico antineoplásico, todavia pode ser também utilizada como agente imunossupressor no tratamento de artrite, lupus eritematoso sistêmico, glomerulonefrite, pneumonia intersticial crônica, hepatite crônica, esclerose múltipla e em transplantes de órgãos (ANDERSON *et al.*, 1995).

A produção mundial estimada é de 1000 kg/ano e está disponível comercialmente na forma de pó monoidrato e anidro, em ampolas estéreis, para administração injetável e em comprimidos (ANDERSON *et al.*, 1995; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

### 2.4.3 Toxicidade da ciclofosfamida

- **Toxicocinética**

A ciclofosfamida é normalmente administrada em doses diárias de 100-200 mg, por via oral e por via endovenosa, com freqüência de 3 a 4 semanas, em doses de 600 a 1000 mg/m$^2$. Doses elevadas, de 5 a 7 mg/m$^2$, são administradas por 2 a 4 dias consecutivos, para pacientes submetidos a transplante de medula. Estudos realizados com diversas quantidades têm demonstrado que a cinética deste fármaco é linear e não dose-dependente (ANDERSON *et al.*, 1995; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Após a administração oral, a ciclofosfamida é absorvida no trato gastrintestinal, com pico plasmático em 1 hora. Diversos estudos têm evidenciado que a biodisponibilidade, isto é, a relação percentual entre a área sobre a curva da concentração plasmática de ciclofosfamida *versus* o tempo da administração oral e

endovenosa, é de 75 a 80%. A ciclofosfamida se liga, em cerca de 20 a 30%, às proteínas plasmáticas e se distribui amplamente nos tecidos. Pode atravessar as barreiras hematencefálica e placentária e é encontrada no leite materno. A meia-vida de eliminação é de 5 a 8,2 horas (ANDERSON *et al.*, 1995; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

A ciclofosfamida pode ser absorvida por via dérmica e inalatória. Estudos demonstram sua presença na urina de pacientes, após aplicação tópica, e também na de enfermeiros de setores oncológicos que foram expostos, possivelmente, através da inalação do aerossol liberado durante a diluição na fase de preparo do fármaco na forma injetável. A meia-vida plasmática do fármaco, após administração oral ou endovenosa, é de cerca de 6 a 8 horas e, nas primeiras 24 horas, há um rápido declínio da concentração (HIRST *et al.*, 1984; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

CONNOR *et al.* (2000) demonstraram haver vaporização de solução-padrão de ciclofosfamida, dentre outros agentes antineoplásicos mutagênicos, em temperatura de 23°C e 37°C, através de ensaios de mutagenicidade com bactérias, que reforça a importância da via respiratória.

O fármaco pode ser identificado na urina algumas horas após a aplicação de pequenas quantidades na pele. A presença de ciclofosfamida na urina, nas 18-24 horas após a exposição, indica que a absorção é lenta e ainda ocorre mesmo após o sítio de aplicação ter sido lavado. HIRST *et al.* (1984) sugerem ainda que a ciclofosfamida pode ser identificada na urina de enfermeiras que administram tal substância aos pacientes, em valores da ordem de microgramas.

Um estudo desenvolvido por SESSINK *et al.* (1994a) mostrou a presença da ciclofosfamida em luvas de algodão, sob as luvas de látex, utilizadas pelos trabalhadores que preparavam o fármaco. Os autores sugeriram que a ciclofosfamida pode permear as luvas de látex o que, em condições normais de trabalho, pode resultar em penetração dérmica.

A ciclofosfamida contém um centro quiral no átomo de fósforo, mas é administrada clinicamente como uma mistura racêmica (R,S). Está estabelecido que

as enzimas microssômicas de fígado de ratos não apresentam estereosseletividade para a biotransformação deste fármaco (ANDERSON *et al.*, 1995).

Estudos experimentais com microssomas hepáticos humano e isoenzimas do sistema citocromo P450 demonstraram que a ciclofosfamida é biotransformada em 4-hidroxiciclofosfamida. Em condições fisiológicas, a 4-hidroxiciclofosfamida está em equilíbrio com seu tautômero aldofosfamida. Ambos os produtos sofrem ação das isoenzimas NAD-aldeído oxidase e NAD-aldeído desidrogenase, resultando, respectivamente, em 4-cetociclofosfamida e carboxifosfamida, considerados inativos. A bioativação da aldofosfamida ocorre espontaneamente formando a acroleína e a mostarda de fosforamida, a qual se converte em mostarda nitrogenada. O produto mostarda de fosforamida apresenta atividade alquilante, responsável pelos efeitos terapêuticos e citotóxicos da ciclofofamida. A acroleína se liga covalentemente às proteínas e causa cistite hemorrágica pela ação sobre a bexiga. A maioria dos produtos da ciclofosfamida é eliminada por excreção renal (ANDERSON *et al.*, 1995; SESSINK *et al.*, 1996; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Em microssomas hepáticos de ratos, as principais isoformas de citocromo P450 responsáveis pela biotransformação da ciclofosfamida são 2C6 e 2C11. Todavia, a isoforma 2B1 apresenta maior atividade quando induzida pelo pré-tratamento dos animais com fenobarbital. Esta indução pode resultar em maior atividade terapêutica, já que o produto alquilante, mostarda de fosforamida, é formado a partir da reação de hidroxilação catalizada pela isoforma 2B6, correspondente em humanos à isoforma 2B1 (ANDERSON *et al.*, 1995; SESSINK *et al.*, 1996; HASSAN *et al.*, 1999). Na Figura 4 pode ser observada a biotransformação da ciclofosfamida.

O pico plasmático dos produtos de biotransformação ativos é em torno de 3 a 6 horas, com meia-vida de eliminação de cerca de 9 horas (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

SESSINK *et al.* (1995b) relatam diferenças na biotransformação da ciclofosfamida em pacientes tratados com o fármaco e em indivíduos ocupacionalmente expostos. Os autores sugerem que devido a tais diferenças pode ser verificada grande variabilidade na toxicidade do fármaco. Não é possível estimar

a dose exata individual, proveniente da exposição ocupacional, com base na excreção urinária de cada trabalhador.

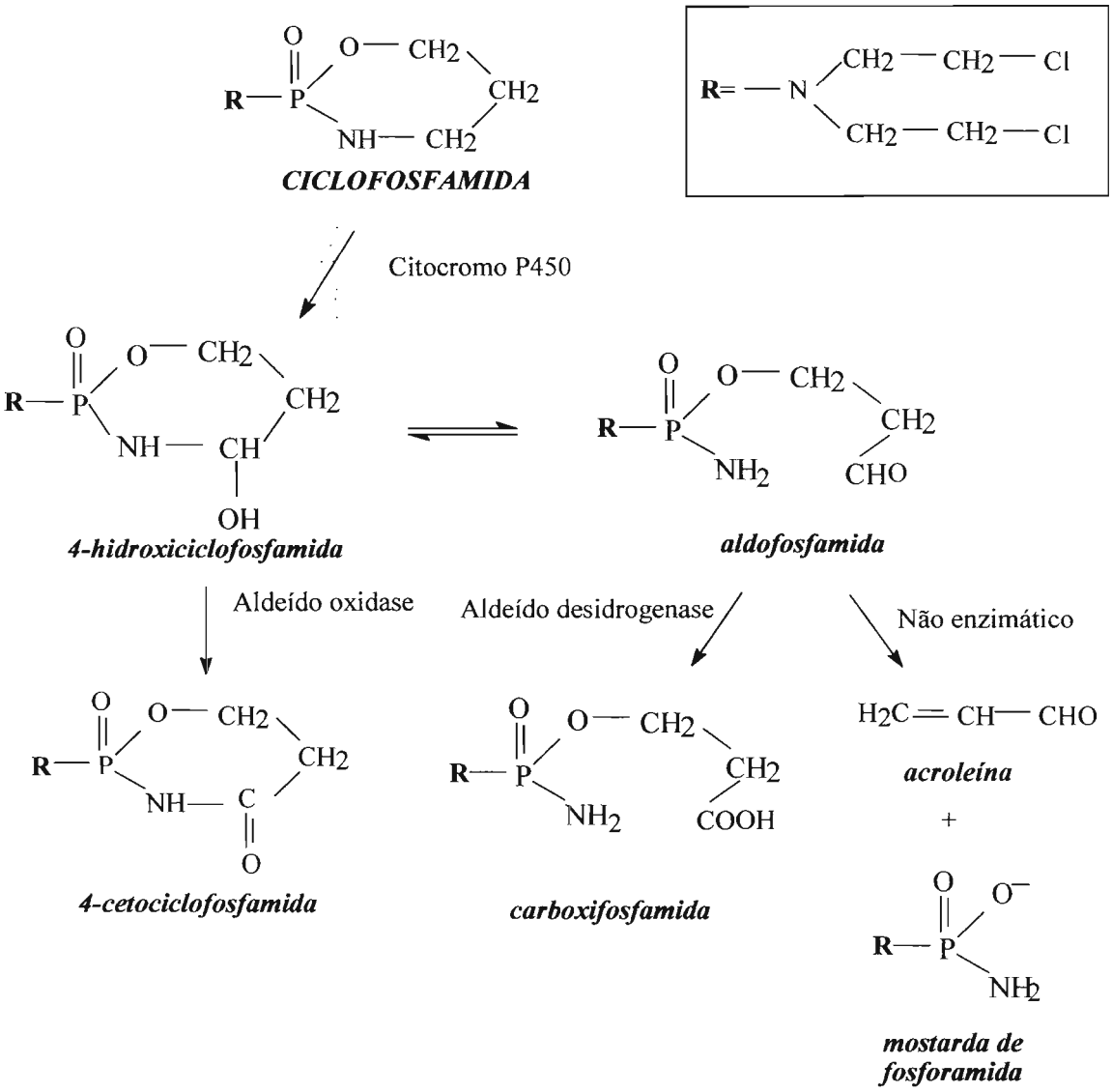



**Figura 4**- Biotransformação da ciclofosfamida.
**Fontes:** ANDERSON *et al.* (1995); MINOIA & PERBELLINI, 2000

HASSAN *et al.* (1999) avaliaram a toxicocinética da ciclofosfamida e de seu principal produto (4OH-ciclofosfamida) em pacientes com câncer de mama tratados com doses elevadas de quimioterápicos. Os resultados sugerem que a substância afeta a síntese de enzimas plasmáticas, causando um efeito auto-indutor e afetando

a excreção dos seus produtos de biotransformação. A ciclofosfamida é capaz de induzir os níveis das isoformas 2C8, 2C9 e 3A4, da citocromo P450, porém, não apresenta efeito sobre a isoforma 2B6, em hepatócitos humanos.

Os ensaios experimentais realizados com animais, para o estudo da biotransformação da ciclofosfamida, são altamente influenciados pelo gênero. Todavia, este processo cinético não sofre influência do pré-tratamento com indutores enzimáticos, etanol e β-naftoflavona (SESSINK *et al.*, 1996).

A depuração corpórea total da ciclofosfamida em indivíduos com função hepática e renal normal é de 5-6 $L/h/m^2$. Em particular a depuração hepática constitui a principal via de eliminação. Em crianças e em pacientes que receberam indutores enzimáticos, a depuração metabólica é mais elevada (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

A via renal é a principal via de excreção do fármaco e de seus produtos de biotransformação, principalmente a mostarda de fosforamida e a carboxifosfamida, e na urina pode ser determinado 2/3 da dose administrada; cerca de 10% é excretada na forma inalterada. A concentração de ciclofosfamida encontrada nas fezes não é elevada, todavia, sua presença em grande quantidade na bile sugere que esta substância passa pelo ciclo enteroepático (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

EVELO *et al.* (1986) sugerem que há correlação entre a quantidade de ciclofosfamida manipulada pelos trabalhadores e a sua excreção urinária. Em estudo realizado por estes autores, verificou-se que os indivíduos que apresentavam excreção detectável de ciclofosfamida haviam manipulado o fármaco dez vezes ou mais em relação a outros trabalhadores nos quais não foi possível a detecção. Acrescente-se que todos os trabalhadores que apresentaram ciclofosfamida eram fumantes, o que poderia introduzir maior quantidade do fármaco por via oral. Os autores sugerem, porém, que a avaliação de risco em função da excreção urinária não pode ser feita, pois os efeitos a baixas doses são desconhecidos.

- **Efeitos biológicos**

As principais indicações terapêuticas da ciclofosfamida são para casos de leucemia linfocítica crônica, de doença de Hodgkin e linfomas, e de tumores sólidos.

Os efeitos tóxicos mais comumente observados em pacientes tratados com ciclofosfamida são naúseas e vômitos, mielossupressão, cistite, alopecia, pigmentação e ocorrência de câncer secundário (FERGUSON & PEARSON, 1996).

Durante a quimioterapia, em doses convencionais, a toxicidade limitante é a mielossupressão, que se manifesta através da leucopenia. Após a administração de dose única, o máximo de depressão medular ocorre após 1 a 2 semanas, com reestabelecimento dos valores normais de glóbulos brancos no período de 3 a 4 semanas (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

A trombocitopenia e a anemia são efeitos raros e menos severos em relação à leucopenia; náuseas e vômitos são freqüentes e não dependentes da dose administrada.

Após a terapia com doses elevadas, por via endovenosa ou prolongado tratamento oral, em 40% dos casos são manifestados efeitos decorrentes de importante toxicidade urinária, associada à eliminação dos produtos ativos, como a acroleína que causa cistite hemorrágica. A hidratação adequada e o tratamento com derivado de mercaptana, composto que inativa rapidamente a acroleína, podem reduzir a urotoxicidade, sem modificar a atividade antitumoral.

Cerca de 20% dos pacientes tratados com doses convencionais e doses mais elevadas apresentam alopecia após três semanas do início do tratamento (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Dentre outros efeitos adversos destacam-se ulcerações na mucosa gastrintestinal, pigmentação cutânea, danos hepáticos e, com menor freqüência, fibrose pulmonar.

Segundo MINOIA & PERBELLINI (2000) em doses elevadas, o fármaco pode agir sobre o sistema cardíaco e é, também, irritante para mucosas, tais como a dérmica e a ocular (WHO, 2003).

GREER (2002) sugere que menores doses de ciclofosfamida administradas em pacientes que recebem transplantes podem ser de menor risco, com diminuição de alguns dos efeitos nocivos mas, ainda assim, efetivas.

- **Mutagenicidade, carcinogenicidade e teratogenicidade**

Quanto à mutagenicidade, verificou-se que a ciclofosfamida produz mutações nos pares de bases em linhagens de *Salmonella typhimurium* na presença de ativação metabólica, testes estes negativos para a *Escherichia coli*. Em células somáticas produz mutações nos genes, aberrações cromossômicas e troca de cromátides-irmãs. É demonstrada a formação de adutos com o DNA, em vários sistemas *in vitro*, e o risco genético estimado é de 1 mg de ciclofosfamida/kg de peso corpóreo, sob condições agudas de exposição (ANDERSON *et al.*, 1995; WATERS & NOLAN, 1995).

Indivíduos expostos à mistura de antineoplásicos podem apresentar danos citogenéticos, porém, múltiplos fatores influenciam nos resultados dos estudos, não permitindo assim, uma associação direta com a exposição ocupacional. Alguns autores sugerem que exames para verificar tais danos deveriam ser efetuados rotineiramente na população de trabalhadores expostos (FUCIC *et al.*, 1998).

BOS *et al.* (1982) demonstraram maior mutagenicidade na urina de enfermeiras que manipulavam fármacos antineoplásicos, as quais eram fumantes, em comparação com um grupo controle de fumantes.

Em relação à carcinogenicidade, foi demonstrado que pacientes tratados com ciclofosfamida apresentam maior risco de desenvolver leucemia e outros tipos de câncer. Em um estudo com 1.349 pacientes, com doenças não-malignas, tratados com azatioprina, ciclofosfamida ou clorambucila por um período de 3 meses, foi demonstrado que houve aumento de 5 vezes na incidência de carcinomas nas células escamosas epiteliais, de 9 vezes de câncer hepático e de 1,4 vezes de outros carcinomas (IARC, 1986).

Os principais órgãos-alvo da carcinogenicidade da ciclofosfamida são a medula-óssea e o sistema urinário (TOMATIS, 2000).

A IARC insere a ciclofosfamida no Grupo 1 (reconhecidamente carcinógeno para animais e para humanos) e a *Environmental Protection Agency* (EPA) a classifica no Grupo C, como possível carcinógeno (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

No que diz respeito à teratogenicidade, foi verificado em estudos experimentais que a administração de ciclofosfamida em ratas *Rattus norvegicus*, no 16º dia de gestação, quando a maioria das células germinativas estão em estágio de proliferação, resulta no aumento da freqüência da fragmentação nucleolar, por via dose-dependente (CUSIDÒ *et al.*, 1995).

Estudos demonstraram alta incidência de malformação fetal, em mulheres expostas ao fármaco durante o primeiro trimestre de gravidez. Todavia, não há evidências de malformações em mulheres expostas no segundo e no terceiro trimestre de gravidez. Quanto aos efeitos na reprodução, o tratamento com ciclofosfamida pode estar associado à infertilidade masculina ou feminina que pode ser revertida após a interrupção da terapia (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

# *Avaliação da Exposição Ocupacional aos Fármacos Antineoplásicos*

# 3. AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL AOS FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS

Para a avaliação da exposição aos antineoplásicos deve ser planejada uma diretriz que compreenda os cuidados com o ambiente de trabalho, com a manipulação dos fármacos e com os profissionais envolvidos. Neste planejamento reveste-se de grande importância os procedimentos de monitorização ambiental e biológica. Para organizar uma adequada monitorização é necessário conhecer a quantidade de substância manipulada, a modalidade de difusão dos fármacos no ambiente, caracterizar a área de maior contaminação, conhecer as principais vias de absorção do quimioterápico em questão e verificar a eficiência dos dispositivos de proteção coletivo (cabine com fluxo laminar) e individual (máscara, luvas, avental) (BAKER & CONNOR, 1996; APOSTOLI *et al.*, 2001).

A avaliação da exposição ocupacional aos antineoplásicos pode ser realizada através da monitorização ambiental, da análise de superfícies, luvas e máscaras e da monitorização biológica. Biologicamente, podem ser efetuados a determinação dos agentes ou de seus produtos de biotransformação, testes de mutagenicidade urinária, testes citogenéticos, determinação de tioéteres urinários, ensaio da hipoxantina guanina fosfororiboxitransferase, avaliação de danos ao DNA e determinação dos níveis de ácido D-glicárico (BAKER & CONNOR, 1996; SORSA *et al.*, 1996). A Figura 5 resume os aspectos da avaliação da exposição ocupacional aos antineoplásicos.

Para obtenção de elevado padrão de segurança e prevenção para os trabalhadores expostos aos fármacos antineoplásicos é necessário que estes sejam adequadamente informados sobre os riscos, a correta manipulação dos fármacos e dos materiais contaminados, o uso dos equipamentos de proteção individual e coletiva e o significado da monitorização ambiental biológica e da vigilância à saúde. Adequado programa de formação de pessoal qualificado para tal exposição deve ser implantado antes do início das atividades e com periodicidade suficiente para a reciclagem dos trabalhadores (APOSTOLI *et al.*, 2001).

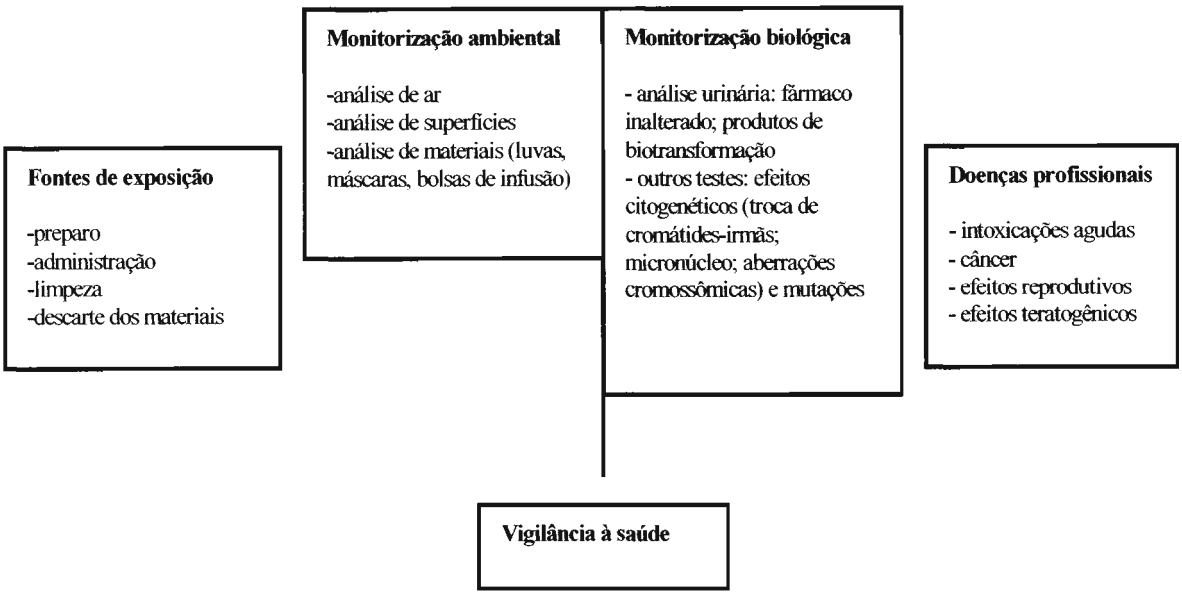



**Figura 5**- Aspectos da exposição ocupacional aos fármacos antineoplásicos.
**Fonte**: SORSA *et al.* (1996)

Segundo APOSTOLI *et al.* (2001), a avaliação da exposição aos fármacos antineoplásicos pode ser assim sintetizada:

- coleta padronizada de informações necessárias para a individualização dos riscos e possíveis intervenções;
- monitorização ambiental e biológica das substâncias utilizadas, escolhendo algumas como indicadores da exposição;
- classificação dos trabalhadores expostos quanto ao tempo de exposição, número de preparações ou administrações/dia; tipo de fármaco em contato e outros;
- finalização da atividade de avaliação, com estudo da eficiência do emprego das medidas de segurança;
- elaboração e adequação periódica da diretriz.

Os trabalhadores em contato com os quimioterápicos antineoplásicos podem ser individualizados em 2 classes de expostos:

Classe A: trabalhadores que habitualmente os manipulam, que podem ser aqueles que:

- preparam ou administram (média de 15 ou mais preparações ou administrações em uma semana ou de 5 efetuadas em um dia);
- fazem a manutenção da cabine;
- em situações de emergência ou transitórias, manipulam um número inferior de fármacos, com meios não adequados. Esta situação é particular e deve ser devidamente caracterizada.

Classe B: trabalhadores que não os utilizam habitualmente:

- os que preparam ou administram ocasionalmente, isto é, com freqüência inferior àquela prevista para os classificados na Classe A;
- os responsáveis pela limpeza dos locais de preparação e administração dos fármacos;
- os responsáveis pelo descarte dos fármacos.

ZIEGLER *et al.* (2002) avaliaram a exposição ocupacional a antieoplásicos na Ucrânia, em locais em que a exposição ocupacional a estas substâncias estava sob regulamentação, para o controle de substâncias perigosas à saúde e boas práticas de trabalho foram implementadas. Foram realizadas determinações em urina, em superfícies e em luvas utilizadas por profissionais que manipulavam compostos de platina, metotrexato, ciclofosfamida e ifosfamida. Os fármacos não foram detectados nas amostras de urina e a contaminação de superfícies e luvas foi considerada baixa.

Para avaliar a exposição potencial a uma mistura de fármacos, são considerados individualmente a ciclofosfamida, a 5- fluorouracila, o metotrexato e os compostos de coordenação de platina. Em uma escala de prioridade, as amostras obtidas de superfícies de trabalho devem ser as primeiras a serem coletadas e analisadas, seguida de amostras biológicas. Os métodos mais empregados para a coleta dos fármacos, neste tipo de exposição são: os *pads*[1] e o *wipe test*[2] (APOSTOLI *et al.*, 2001).

---

[1] *pads:* tecidos, semelhantes a gaze, colocados sobre e sob as vestimentas, para verificar a possível contaminação de zonas específicas do corpo do trabalhador, com particular referência ao tórax, às pernas e aos braços

[2] *wipe test:* é um teste que avalia a presença de resíduos sobre uma superfície específica ou objetos, nos locais de preparo e administração do fármaco

A monitorização dos antineoplásicos aerodispersos não fornece indicações úteis sobre o nível de exposição dos trabalhadores. Quando esta informação se faz necessária, a amostragem da área e pessoal deve ser realizada, individualizando pontos significativos e dispendendo particular atenção à área caracterizada como a de maior contaminação (SESSINK & BOS, 1999; APOSTOLI *et al.*, 2001).

Para a obtenção das informações deve ser utilizado um questionário para caracterizar toda a atividade pertinente ao emprego e ao contato com os quimioterápicos. O modelo padronizado se divide em quatro sessões: ambiente, pessoal, fármacos e descarte (APOSTOLI *et al.*, 2001). Este questionário, além de fornecer dados sobre as condições de trabalho, garante uma correta aplicação da monitorização ambiental e biológica.

No período de 1979 a 1996, foram desenvolvidos 63 métodos para avaliar a exposição ocupacional aos antineoplásicos. Os métodos envolvem diferentes processos e efeitos; todavia, as limitações são similares: muitos são qualitativos, não-específicos e sujeitos a muitos fatores interferentes. Não apresentam, também, sensibilidade para detectar as baixas quantidades oriundas do ambiente de trabalho (BAKER & CONNOR, 1996).

Os dados disponíveis demonstram que a determinação de fármacos antineoplásicos no ambiente ainda não é um método sensível, porém, tal determinação pode ser realizada através da coleta da amostra por coletores fixos ou pessoais com fluxo constante. O meio de captação ideal é aquele que possui membrana de fibra de vidro e o fluxo de aspiração pode ser ajustado em torno de 2 a 15 L/min. A membrana é colocada em frasco com tampa de teflon com o solvente específico para a extração do analito (PYY *et al.*, 1988; McDEVITT *et al.*, 1993; APOSTOLI *et al.*, 1996). A Tabela 4 apresenta diversos tipos de amostragem ambiental utilizados para a avaliação da exposição ocupacional aos quimioterápicos antineoplásicos.

**Tabela 4**- Tipos de amostragem ambiental para avaliar a exposição dos trabalhadores da área da saúde aos quimioterápicos antineoplásicos e as possíveis informações adquiríveis

| Tipo de amostragem | Informações fornecidas |
|---|---|
| -ambiental do tipo pessoal | - concentração aerodispersa do fármaco na zona respiratória do trabalhador |
| -ambiental no centro do local de trabalho | - concentração aerodispersa difusa no ambiente de trabalho |
| -ambiental na saída do filtro da cabine de exaustão | - verifica o sistema de filtração da cabine a fluxo laminar |
| -*wipe test* na bancada da cabine de exaustão | - nível de contaminação dos quimioterápicos sobre a superfície de trabalho, vidro e parede lateral da cabine |
| - *wipe test* no pavimento próximo à cabine de exaustão | - presença de resíduos de quimioterápicos fora da cabine com fluxo laminar ou nas vestimentas de trabalho contaminadas |
| - *wipe test* em diversos pontos do local de manipulação do fármaco | - verifica a possível contaminação difusa interna e externamente no local de preparação do fármaco |
| - *wipe test* nos objetos e maçanetas de portas | - procedimento de trabalho não efetuado em condições de segurança |

**Fonte**: APOSTOLI *et al.* (2001)

No último decênio, as técnicas instrumentais para a realização da monitorização ambiental da ciclofosfamida tiveram melhora significativa, principalmente com relação à especificidade e à obtenção de baixo limite de detecção, incrementando assim a confiança nos métodos empregados. Na Tabela 5 são sintetizados os resultados dos estudos efetuados no período de 1983 a 1999. Os níveis de ciclofosfamida aerodispersa são reduzidos confirmando que a via inalatória não é a principal via de exposição.

A casuística relativa ao estudo de SORSA *et al.* (1988) foi limitada a 3 amostras, coletadas nas proximidades do filtro, local de saída de ar da cabine de fluxo laminar. Neste caso, a concentração de ciclofosfamida resultou inferior ao limite de detecção do método analítico.

**Tabela 5**- Monitorização ambiental da exposição ocupacional à ciclofosfamida

(continua)

| Local de trabalho | Matriz | % de positividade | Concentração | Referência bibliográfica |
|---|---|---|---|---|
| oncologia | Filtros | 1/14 (7,1%) | 0,37 µg/m$^3$ | DeWERK NEAL *et al.* (1983) |
| oncologia | filtros (área de saída da cabine) | 0/3 (0%) | ND[1] | SORSA *et al.* (1988) |
| indústria | Filtros | 16/47 (34%) | 0,1-810 µg/m$^3$ | PYY *et al.* (1988) |
| hospital | filtros (três tipos de cabine) | 0/19 (0%) | ND[1] | |
| farmácia | Luvas | 2/20 (10%) | 11-21 µg/par | SESSINK *et al.* (1992) |
| ambulatório | Luvas | 0/11 (0%) | ND[1] | |
| farmácia | Filtros | 0/2 (0%) | ND[1] | |
| farmácia | *wipe test* (cabine) | 1/24 (4,2%) | 0,1 ng/cm$^2$ | |
| | *wipe test* (pavimento) | 0/15 (0%) | ND[1] | |
| ambulatório | *wipe test* (cabine) | 1/12 (8,3%) | 12 ng/cm$^2$ | |
| | *wipe test* (pavimento) | 0/12 (0%) | ND[1] | |
| farmácia | Filtros | 3/34 (8,8%) | 0,218-0,407 µg/m$^3$ | McDEVITT *et al.* (1993) |
| ambulatório | Filtros | 0/39 (0%) | ND[1] | |
| farmácia | *wipe test* | 6/34 (18%) | 0,005-0,035 µg/cm$^2$ | |
| ambulatório | *wipe test* | 6/42 (14%) | 0,005-0,035 µg/cm$^2$ | |
| biotério | Filtros | 3/39 (33,3%) | 0,1-1 µg/dia | SESSINK *et al.* (1993a) |
| | Luvas | 12/18 (66,7%) | 2-199 µg/par | |
| | Máscaras | 0/8 (0%) | ND[1] | |
| | proteção nas mangas | 4/11 (36,4%) | 0,3-10 µg | |
| | *wipe test* | 37/88 (42,0%) | 0,00005-0,044 µg/cm$^2$ | |
| farmácia | filtros | 5/34 (14,7%) | 0,2-10,1 µg/m$^3$ | SESSINK *et al.* (1994) |
| | luvas de latéx | 8/17 (47,1%) | 1,5-9,6 µg/par | |
| | luvas de algodão | 5/8 (62,5%) | 0,5-7,3 µg/par | |

**Tabela 5**- Monitorização ambiental da exposição ocupacional à ciclofosfamida (conclusão)

| Local de trabalho | Matriz | % de positividade | Concentração | Referência bibliográfica |
|---|---|---|---|---|
| farmácia | filtros | 2/45 (4,4%) | 0,06-2,0 µg/m$^3$ | SESSINK *et al.* (1997b) |
| | máscaras | 10/45 (22,2%) | 0,2-8,8 µg | |
| | luvas externas | 26/46 (57,8%) | 0,13-140 µg/par | |
| | luvas internas | 7/45 (15,6%) | 0,13-9,1 µg/par | |
| hospital A | filtros | 1/20 (5%) | 0,24 µg/m$^3$ | MINOIA *et al.* (1998) |
| | *wipe test* | 31/32 (96,9%) | 0,002-82,4 µg/dm$^2$ | |
| | luvas | 12/13 (96,9%) | 0,633-63,4 µg/par | |
| | *pads* (preparadores) | 29/91 (31,9%) | 0,02-113,98 µg/dm$^2$ | |
| | *pads* (administradores) | 4/117 (3,4%) | 0,02-0,5 µg/dm$^2$ | |
| hospital B | filtros | 0/6 (0%) | ND(1) | |
| | *wipe test* | 17/17 (100%) | 0,25-383,4 µg/dm$^2$ | |
| | luvas | 2/4 (50%) | 17,5-47,9 µg/par | |
| | *pads* (preparadores) | 21/39 (53,8%) | 0,004-23,61 µg/dm$^2$ | |
| | *pads* (administradores) | 35/65 (53,8%) | 0,001-0,53 µg/dm$^2$ | |
| farmácia | *wipe test* | 46/46 (100%) | 0,001-6,566 µg/dm$^2$ | CONNOR *et al.* (1999) |
| local de administração | *wipe test* | 33/36 (91,7%) | 0,001-0,064 µg/dm$^2$ | |
| hospital | filtros | 6/39 (15,4%) | 0,005-0,02 µg/m$^3$ | MINOIA *et al.* (1999) |
| | *wipe test* | 101/126 (80,2%) | 0,001-966,1 µg/dm$^2$ | |
| | luvas | 35/43 (81,4%) | 0,03-13,61 µg/par | |

**Nota**: (1)ND= inferior ao limite de detecção do método utilizado

Examinando os dados relativos à monitorização ambiental, se observa que DeWERK NEAL *et al.* (1983) obtiveram uma positividade de 7,1%. Na realidade, somente 1 amostra foi positiva das 14 analisadas, com uma concentração de 0,370 µg/m$^3$. No trabalho publicado por MINOIA *et al.*, em 1999, o percentual de positividade foi de 15,4%. No estudo de MCDEVITT *et al.* (1993), os valores de

ciclofosfamida dispersos foram entre 0,218 e 0,407 µg/m$^3$ (farmácia) com uma positividade de 8,8%, enquanto no ambulatório os níveis não foram analiticamente detectáveis.

No estudo de SESSINK *et al.* (1993a) conduzido em um biotério, a concentração de ciclofosfamida respirável foi estimada em 0,1-1,0 µg/dia, com positividade de 33,3% para as amostras ambientais. Em uma sucessiva monitorização efetuada em trabalhadores de uma farmácia, foram encontrados níveis ambientais elevados, entre 0,2 e 10,1 µg/m$^3$ (com 5 amostras positivas dentre 34, perfazendo uma porcentagem de positividade de 14,7%) (SESSINK *et al.*, 1994a).

Estas observações divergem dos dados anteriores obtidos por PYY *et al.* (1988) que, monitorando trabalhadores de hospital, não encontraram concentrações analiticamente detectáveis de ciclofosfamida em nenhuma das 19 amostras analisadas. Em um local de produção do antineoplásico, os mesmos autores encontram concentrações aerodispersas em torno de 0,1 a 810 µg/m$^3$, com uma positividade de 34%.

Na Tabela 5 também são relatados os valores de ciclofosfamida determinados em pares de luvas utilizadas pelos trabalhadores. O percentual de positividade variou entre 0 e 66,7% e o valor máximo foi obtido por SESSINK *et al.*, 1993a (199 µg/par).

Em um estudo realizado em 1994a, SESSINK *et al.* confrontaram os níveis de ciclofosfamida residuais presentes em luvas de materiais diferentes (látex e algodão). A positividade mais elevada foi encontrada em luvas de algodão (62,5%), com valores entre 0,5 a 7,3 µg/par de luvas. Para as luvas de látex, a positividade foi de 47,1%, com níveis de ciclofosfamida entre 1,5 e 9,6 µg/par.

A análise de máscaras de proteção é pouco difundida e o *wipe test* tem sido o tipo de amostragem mais empregado para avaliar a exposição aos quimioterápicos, com ênfase na exposição à ciclofosfamida. Os resultados obtidos podem ser avaliados na Tabela 5.

A Tabela 6 demonstra os níveis de ciclofosfamida determinados em *pads* utilizados por trabalhadores envolvidos na preparação e na administração em dois hospitais italianos, segundo um estudo realizado por MINOIA *et al.* (1998). No hospital A, a amostragem consistiu de 7 trabalhadores envolvidos na preparação e 5 na administração, e no hospital B, trabalhavam 3 indivíduos na preparação e 5 na administração. É importante ressaltar que no hospital B todos os trabalhadores envolvidos na preparação do fármaco portavam avental de tecido de algodão, enquanto no hospital A, o avental era monouso de TNT (tipo de material utilizado para confecção de roupas conhecido como tecido não-tecido).

**Tabela 6**- Níveis de ciclofosfamida em *pads* (µg/dm$^2$) utilizados por trabalhadores envolvidos na preparação e administração do fármaco, em ambiente hospitalar

| | **Hospital A** | | | | **Hospital B** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Preparação** | | **Administração** | | **Preparação** | | **Administração** | |
| **Localização dos *pads*** | **n[a]** | **Intervalo** | **n[a]** | **Intervalo** | **n[a]** | **Intervalo** | **n[a]** | **Intervalo** |
| A | 4 | 0,17-1,64 | 1 | 0,03 | 2 | 0,14-23,61 | 5 | 0,05-0,53 |
| B | 0 | - | - | - | 2 | 0,06-0,08 | 1 | 0,03 |
| C | 6 | 0,04-36,1 | 0 | - | 2 | 0,108-0,110 | 4 | 0,02-0,13 |
| D | 1 | 0,04 | - | - | 1 | 0,024 | 1 | 0,02 |
| E | 4 | 0,19-70,3 | 0 | - | 2 | 0,153-9,212 | 5 | 0,005-0,06 |
| F | 1 | 0,09 | 0 | - | 2 | 0,004-0,006 | 3 | 0,001-0,28 |
| G | 5 | 0,02-114,0 | 1 | 0,28 | 2 | 0,091-5,579 | 5 | 0,01-0,45 |
| H | 1 | 0,06 | 0 | - | 2 | 0,040-0,237 | 3 | 0,01-0,18 |
| I | 4 | 0,22-14,8 | 1 | 0,5 | 2 | 0,228-1,542 | 4 | 0,001-0,157 |
| J | 0 | - | 0 | - | 1 | 0,174 | 1 | 0,03 |
| L | 2 | 0,075-0,1 | 0 | - | 1 | 0,114 | 1 | 0,28 |
| M | 0 | - | 0 | - | 1 | 0,047 | 1 | 0,02 |
| N | 1 | 0,04 | 1 | 0,02 | 1 | 0,580 | 1 | 0,02 |

**Notas**: n[a]= número de indivíduos expostos a ciclofosfamida; A= antebraço direito sobre o avental; B= antebraço direito sob o avental; C= antebraço esquerdo sobre o avental; D= antebraço esquerdo sob o avental; E= perna direita sobre o avental; F= perna direita sob o avental; G= perna esquerda sobre o avental; H= perna esquerda sob o avental; I= tórax sobre o avental; J= tórax sob o avental; L= dorso sobre o avental; M= dorso sob o avental; N= máscara
**Fonte:** MINOIA *et al.* (1998)

Nesta mesma investigação, MINOIA *et al.* coletaram, no final da jornada, as luvas de trabalhadores envolvidos na manipulação de quimioterápicos

antineoplásicos. Os dados da Tabela 7 se referem à quantidade de ciclofosfamida determinada na parte interna de diversos tipos de luvas utilizadas (vinil, látex, látex específico para antineoplásicos) e evidenciaram que os valores mais elevados do fármaco são relativos ao preparo.

**Tabela 7**- Níveis de ciclofosfamida detectados na parte interna de luvas, confeccionadas com diversos materiais, utilizadas durante a preparação e a administração de quimioterápicos antineoplásicos

| Unidade hospitalar | Tarefa | Tipo de luvas | Ciclofosfamida (µg/par[1]) |
|---|---|---|---|
| 1 A | preparação | látex | 15,3 |
| | administração | vinil | 0,633 |
| | administração | látex (específica para antineoplásicos) | 3,5 |
| | administração | látex (específica para antineoplásicos) | 1,3 |
| 2 A | preparação | látex (específica para antineoplásicos) | <0,02 |
| 3 A | preparação | látex | 1,3 |
| 4 A | preparação | látex | 63,4 |
| | administração | látex | 11,8 |
| 5 A | preparação | látex | 2,4 |
| | preparação | látex | 2,2 |
| | administração | vinil | 1,3 |
| | administração | látex (específica para antineoplásicos) | 1,6 |
| 1 B | administração | vinil | 3,4 |
| | preparação | vinil | 17,5 |
| 2 B | preparação | vinil | <0,02 |
| | | vinil | <0,02 |
| 3 B | preparação | vinil | 47,9 |

**Nota (1)** µg/par= concentração de ciclofosfamida (em microgramas) encontrada em cada par de luvas
**Fonte**: MINOIA *et al.* (1998)

Na Tabela 8 são relatados os níveis de ciclofosfamida encontrados por MINOIA *et al.* (1999) na parte interna de luvas utilizadas por 11 trabalhadores que efetuavam a preparação e a administração de ciclofosfamida em âmbito hospitalar. Os valores demonstrados nesta tabela permitem estimar, para cada indivíduo exposto, a

quantidade total de ciclofosfamida em contato com a pele. Durante o turno de trabalho, cada indivíduo efetuava no máximo 5 preparações de ciclofosfamida, com a disposição de substituir as luvas após 20 minutos.

**Tabela 8**- Níveis de ciclofosfamida (µg/par) encontrados na parte interna de luvas utilizadas por trabalhadores envolvidos na preparação e na administração de ciclofosfamida no âmbito hospitalar, em estudo conduzido por MINOIA *et al.* (1999)

| N° do operador | N° de luvas Utilizadas | Encargo | Ciclofosfamida (µg/par[1]) |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 | preparação | 1,03 |
| | 2 | preparação | 0,24 |
| | 3 | administração | 1,22 |
| | 4 | administração | 0,76 |
| 2 | 1 | preparação | 0,79 |
| | 2 | preparação | 0,03 |
| | 3 | administração | <0,02 |
| 3 | 1 | preparação | 0,78 |
| | 2 | administração | 0,04 |
| 4 | 1 | preparação | 0,24 |
| | 2 | administração | <0,02 |
| 5 | 1 | preparação | 0,2 |
| | 2 | administração | 0,13 |
| | 3 | administração | 1,37 |
| 6 | 1 | preparação | 3,67 |
| | 2 | preparação | 0,89 |
| | 3 | administração | 0,23 |
| 7 | 1 | preparação | 1,98 |
| | 2 | administração | 0,19 |
| 8 | 1 | administração | 0,36 |
| 12 | 1 | preparação | <0,02 |
| | 2 | preparação | 13,61 |
| | 3 | preparação | 12,95 |
| 13 | 1 | administração | 0,2 |
| 14 | 1 | preparação | <0,02 |

**Notas**: A quantidade de ciclofosfamida manipulada variava de 950 a 4000 mg por turno de trabalho.
**(1)** µg/par é a concentração de ciclofosfamida (em microgramas) encontrada nos pares de luvas analisadas

A determinação dos fármacos antineoplásicos no ambiente e nos fluídos biológicos (sangue e urina) requer métodos validados quanto à sensibilidade, já que a exposição é a baixas concentrações. Parâmetros como a precisão e exatidão são, também, quesitos essenciais na validação de um método analítico confiável (SESSINK & BOS, 1999; APOSTOLI *et al.*, 2001).

Partindo do pressuposto que na população em geral estes fármacos não são encontrados, exceto compostos com platina, os resultados biológicos, ainda que baixos (em particular das classes 1, 2A, 2B, segundo a IARC) fornecem indicações úteis dos procedimentos de segurança adotados para este tipo de exposição (APOSTOLI *et al.*, 2001).

Para a monitorização biológica dos FAN, os métodos podem ser divididos em dois grupos: seletivos e não-seletivos. Para os métodos seletivos a concentração da substância ou do seu produto é determinada. Já para os não seletivos, neste caso os mais utilizados, são determinadas as propriedades em comum a um determinado grupo químico, tais como mutagenicidade e eletrofilicidade (SESSINK & BOS, 1999).

A determinação biológica avalia o grau de exposição e absorção dos fármacos antineoplásicos por todas as vias, independente da via de introdução. Porém, atualmente os métodos utilizados não apresentam grande sensibilidade e esta análise só será válida quando a absorção for elevada, o que só se verifica em situações de ambiente não controlado. Os níveis de ciclofosfamida urinária, determinados nos estudos realizados até 1999, foram compreendidos dentro de um intervalo de 0,04 a 10,031 µg/L (Tabela 9).

ENSSLIN *et al.* (1994) avaliaram a exposição ocupacional de enfermeiras e farmacêuticos de oito hospitais à ciclofosfamida e à ifosfamida, através das determinações das quantidades manipuladas dos fármacos e da excreção urinária dos mesmos. Os autores relatam que para doses manipuladas de 3900 mg de ciclofosfamida e de 5900 mg de ifosfamida, as concentrações urinárias médias foram 11,4 µg de ciclofosfamida/24 horas (12 de 31 amostras de urina) e 9 µg de ifosfamida/ 24 horas (4 de 21 amostras de urina). Com base nestes resultados, a quantidade de ciclofosfamida excretada corresponde a 101 µg da quantidade introduzida no organismo (0,0025% da dose manipulada).

Os teores de fármacos excretados não se relacionaram às doses ou ao número de preparações no dia da coleta da urina ou a dois dias antes da coleta. No entanto, o tempo de manipulação diária é correlacionado significativamente. A influência do gênero tem sido estudada, porém, são escassos os resultados devido ao número de homens executando este tipo de trabalho ser muito menor que o de mulheres (ENSSLIN *et al.* 1994).

**Tabela 9**- Valores de ciclofosfamida urinária encontrados em trabalhadores de hospitais

| % positividade | Concentração de ciclofosfamida urinária | Referência bibliográfica |
|---|---|---|
| 26,7 | 0,35-9,08 µg/L | HIRST *et al.* (1984) |
| 25,0 | 0,7-2,5 µg/L | EVELO *et al.* (1986) |
| 30,4 | 0,04-0,5 µg/L | SESSINK *et al.* (1992) |
| 1,15 | 0,7 ng/L | SESSINK *et al.* (1993) |
| 41,7 | 0,11-1,3 µg/L | MINOIA *et al.* (1998) |
| 33,3 | 0,05-10,031 µg/L | MINOIA *et al.* (1999) |

Durante a última década foram desenvolvidos novos métodos para a avaliação da exposição ocupacional aos agentes antineoplásicos que detectam efeitos biológicos precoces. Entre estes efeitos, a freqüência de aberrações cromossômicas, troca de cromátides-irmãs, presença de micronúcleos, são os mais estudados e propostos para a avaliação do risco de tumores. Convém ressaltar que, nos estudos realizados em grupos de trabalhadores que adotam medidas de proteção, os indicadores citogenéticos mostraram-se negativos (SESSINK *et al.*, 1993a; ALESSIO *et al.*, 1996; FORNI *et al.*, 1996b; SESSINK & BOS, 1999).

As premissas racionais para o estudo de aberrações cromossômicas e de troca de cromátides-irmãs em trabalhadores hospitalares que manipulam estes fármacos são: a) a maior parte destas substâncias, em particular os agentes alquilantes, é capaz de induzir efeitos citogenéticos nos sistemas experimentais e nos pacientes tratados; b) substâncias mutagênicas são liberadas na urina de trabalhadores não-fumantes que manipulam os quimioterápicos (FORNI *et al.*, 1996b).

Muitos estudos têm investigado a mutagenicidade na urina de trabalhadores expostos aos FAN com testes realizados em bactérias. FALCK *et al.* (1979) relataram aumento na atividade mutagênica na urina de indivíduos que manipulam FAN. ANDERSON *et al.* (1982) mostraram que não houve aumento da mutagenicidade urinária quando a cabine de fluxo laminar vertical é utilizada; todavia, quando somente luvas e máscaras são usadas pelos trabalhadores os testes apresentaram-se positivos.

Os testes de mutagenicidade urinária são afetados por diversos fatores tais como a dieta, o hábito de fumar ou o manuseio de outras substâncias mutagênicas. Há muita controvérsia entre laboratórios que testam a mesma substância. TUFFNEL *et al.*, em 1986, avaliaram a sensibilidade do teste de Ames. Os autores utilizaram a bactéria *Salmonella typhimurium*, linhagens TA98 e TA 100, e 17 antineoplásicos utilizados no tratamento de diversos tipos de câncer. A avaliação na urina dos pacientes tratados demonstrou que 11 dos 17 fármacos não apresentaram atividade mutagênica, todavia muitos destes foram considerados tóxicos aos organismos. A urina dos pacientes tratados com ciclofosfamida e doxorrubicina mostrou atividade mutagênica dose-dependente, não podendo ser detectada em indivíduos que trabalham com medidas de proteção. Os autores sugerem que devido à baixa sensibilidade do teste de Ames e à interferência do ambiente e de vários outros fatores nos resultados, este teste não deveria ser utilizado rotineiramente na avaliação da exposição ocupacional aos FAN.

Em estudo realizado em 2001, HESSEL *et al.* não demonstraram correlação entre os dados obtidos na biomonitorização da exposição (análise urinária dos fármacos) e um aumento na freqüência de micronúcleos. Os autores sugerem que esta discordância, em relação aos achados anteriormente relatados na literatura, seria devido ao desenho do estudo, que preconizava a realização simultânea dos testes ao invés de determinar a freqüência de micronúcleos após um tempo decorrido da exposição.

À luz dos conhecimentos atuais, não são disponíveis testes específicos para verificar condições de hipersusceptibilidade e efeitos biológicos precoces (FORNI *et al.*, 1996a).

Existem condições fisiológicas e patológicas, congênitas ou não, que podem constituir situações de particular susceptibilidade ou que podem ser agravadas na exposição ocupacional aos antineoplásicos e que, portanto, devem ser avaliadas com atenção, seja em situações de pré-exposição ou nos exames periódicos.

As condições a serem consideradas são:

- gravidez e aleitamento;
- talassemias, hemoglobinopatias, deficiência da glicose-6-fosfato-desidrogenase eritrocitária;
- anemia, leucopenia, trombocitopenia de qualquer origem;
- imunodeficiência congênita ou adquirida;
- alterações nas funções hepática ou renal;
- exposição ocupacional anterior à radiação ionizante ou a substâncias carcinógenas;
- terapia precedente capaz de induzir hipoplasia medular, em particular no tratamento com FAN ou radiação ionizante;
- condições de atopia.

A vigilância sanitária se baseia em:

- anamnese laboral;
- anamnese fisiológica, com avaliação dos hábitos pessoais;
- anamnese patológica remota e recente, com atenção ao uso de medicamentos;
- exame objetivo, com particular avaliação da pele e dos anexos;
- exame de urina;
- hemograma completo com contagens de glóbulos brancos, vermelhos, plaquetas e reticulócitos;
- testes de funções hepática e renal.

Algumas modificações podem ser efetuadas de acordo com os dados clínicos do trabalhador. A freqüência das visitas periódicas deve ser estabelecida em função do nível de exposição e, via de regra, deve ser anual. É necessário proceder a vigilância sanitária imediata em caso de exposição anormal aos antineoplásicos em

situações patológicas em que se suspeita na origem ocupacional (FORNI *et al.*, 1996a).

# *Determinação de Fármacos Antineoplásicos pela Técnica do Wipe Test*

# 4. DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS PELA TÉCNICA DO *WIPE TEST*

A determinação dos quimioterápicos sobre as superfícies ou materiais possivelmente contaminados pode ser efetuada pela técnica do *wipe test* (APOSTOLI *et al.*, 1996). A análise da superfície é mais útil, sensível, reprodutível e a técnica para efetuá-la é de baixo custo e relativamente acessível. Do mesmo modo, a análise no material como luvas e máscara pode ser útil, quando corretamente padronizada (USA, 2003b).

Utilizando esta técnica para monitorizar a superfície de trabalho, no local de preparação dos fármacos, é possível adquirir diversos tipos de informações. O número de *wipe test* pode ser aumentado ou diminuído em função da exigência específica. Por exemplo, para verificar a eficiência do procedimento de descontaminação da parede interna da cabine (incluindo a superfície de trabalho), é recomendável a execução de dupla amostragem: uma primeira série de *wipe test* é feita ao final da atividade de preparação do fármaco, antes da descontaminação, sucessivamente se procede a segunda amostragem, no mesmo ponto anterior, após a limpeza da superfície. A análise dos *wipe test* pode ser limitada a 1 ou 2 fármacos (em geral, aqueles mais usados) ou extensiva a todas as substâncias utilizadas (APOSTOLI *et al.*, 2001).

Considerando a estrutura molecular e o estado físico dos quimioterápicos mais empregados e sua lenta degradação, o *wipe test* pode evidenciar o acúmulo de tais agentes sobre a superfície (APOSTOLI *et al.*, 1996). Levando-se em conta a via transcutânea como uma das mais importantes para a absorção destes agentes, a demonstração do grau de contaminação da superfície parece ser perfeitamente justificável.

Para o *wipe test* é necessário delimitar uma superfície, utilizar um sistema de coleta (por exemplo, uma gaze de algodão estéril de 1 a 2g) previamente embebido em um solvente de extração (acetonitrila, metanol, diclorometano). A superfície é esfregada com ligeira pressão com a gaze, posteriormente colocada em frasco, com tampa de teflon, onde será realizada a extração do fármaco. Este procedimento

pode ser utilizado também para análise de materiais (luvas, máscaras), modificando para isto alguns procedimentos de coleta (APOSTOLI *et al.*, 1996).

Mais recentemente, os *wipe test* são geralmente constituídos de tecido de algodão, sobrepostos em número variável de 2 a 5, umedecidos com solvente de extração ou solução tampão a pH adequado. Todavia, pode ser observada interferência entre as partículas do tecido de algodão e os analitos e, por este motivo, é aconselhado o uso de TNT que não deixa partículas. Para limpar as superfícies e os objetos de trabalho, utilizam-se tecidos embebidos em solução de hidróxido de sódio. Em particular, para os pavimentos, o tecido não é umedecido sendo a solução de NaOH colocada diretamente sobre a superfície (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

A maior parte dos autores exprime a concentração dos princípios ativos presente nas superfícies em função da dimensão desta e não à dimensão do tecido empregado na amostragem. Quando os *wipe test* são empregados para avaliar a contaminação residual em objetos ou em maçanetas de portas ou armários, os resultados podem ser expressos como quantidade absoluta do analito sobre o objeto em questão ou como quantidade absoluta sobre o tecido. Neste caso, é necessário referir-se à dimensão do *wipe test*, observando que o modo como é realizada a amostragem infuencia nos resultados (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

A avaliação do ambiente de trabalho e da exposição aos quimioterápicos apresenta notáveis dificuldades, entre as quais a necessidade de avaliar, no ambiente, os mais diversificados valores de exposição. Neste contexto, o emprego do questionário é de grande utilidade para a avaliação dos locais de maior risco ou "pontos críticos" que merecem atenção.

A Tabela 10 lista possíveis pontos de amostragem de *wipe test* nos locais de preparação dos FAN. Analogamente ao que foi exposto para a unidade de preparação do fármaco, deve ser avaliada com atenção a possibilidade de transferência de microquantidades residuais de quimioterápicos antineoplásicos à área externa de trabalho. Por este motivo, deve ser realizada amostragem *wipe test* em diversos locais, como demonstrado na Tabela 11.

**Tabela 10**- Sítios de amostragem de *wipe test* nos locais de preparação dos fármacos antineoplásicos

| Local da amostragem | Posição para a amostragem |
|---|---|
| **cabine a fluxo laminar** | superfície de trabalho interna |
| | lado direito da superfície de trabalho interna |
| | lado esquerdo da superfície de trabalho interna |
| | parede interna frontal |
| | parede interna do lado direito |
| | parede interna do lado esquerdo |
| | parede externa superior próxima ao filtro |
| | parte interna do vidro de proteção |
| | parte externa do vidro de proteção |
| **outros sítios internos** | mesa de trabalho |
| | maçaneta da porta, lado interno do local de preparação |
| | maçaneta da geladeira |
| | pavimento em frente à cabine |
| | sola do calçado dos trabalhadores |
| **sítios externos** | pavimento, a 1 metro do local de preparação |
| | pavimento, a 3-5 metros do local de preparação |

**Fonte:** APOSTOLI *et al.* (2001)

**Tabela 11**- Sítios de amostragem dos *wipe test* nos locais de administração dos fármacos antineoplásicos

| Local para a amostragem | Posição para a amostragem |
|---|---|
| **locais de administração** | centro do local |
| | entre os leitos dos pacientes |
| | maçaneta da porta de ingresso ao local |
| | paredes do local |
| | pavimento do banheiro, se presente no cômodo |
| **outros sítios internos** | torneira do banheiro, se presente no cômodo |
| | sola do calçado do trabalhador |
| **sítios externos** | maçaneta da porta de acesso |
| | pavimento, a 1 metro do local de administração |
| | pavimento, a 3-5 metros do local de administração |

**Fonte:** APOSTOLI *et al.* (2001)

Na Tabela 12 podem ser verificados os estudos nos quais a técnica de amostragem *wipe test* foi utilizada para a avaliação da exposição aos antineoplásicos.

**Tabela 12-** Utilização da técnica de *wipe test* para a avaliação da contaminação de superfícies pelos quimioterápicos antineoplásicos

| Princípio ativo | Superfície/objeto | Referência bibliográfica |
|---|---|---|
| ciclofosfamida, 5-fluorouracila, metotrexato | pavimento, mesa, superfície da cabine | SESSINK *et al.* (1992) |
| ciclofosfamida | pavimento, cabine, superfície de trabalho | MCDEVITT *et al.* (1993) |
| ciclofosfamida | balança, mesa de trabalho, maçaneta da porta, pavimento, telefone | SESSINK *et al.* (1993a) |
| 5-fluorouracila | balança, pavimento, maçaneta da porta | SESSINK *et al.* (1994b) |
| ciclofosfamida, ifosfamida, 5-fluorouracila, metotrexato | cabine, mesa de trabalho, pavimento, telefone, maçaneta da porta e geladeira, sola do calçado dos trabalhadores | MINOIA *et al.* (1998) |
| ciclofosfamida e ifosfamida | maçaneta da porta, superfície da cabine, superfícies próximas ao filtro da cabine, pavimento | MINOIA *et al.* (1999) |
| ciclofosfamida, ifosfamida e 5-fluorouracila | cabine e pavimento | CONNOR *et al.* (1999) |
| metotrexato | cabine, pavimento, telefone, maçaneta, janelas | FLORIDIA *et al.* (1999a) |
| 5-fluorouracila | cabine, pavimento, telefone, maçaneta, janelas | FLORIDIA *et al.* (1999b) |

Para fornecer uma visão mais detalhada do tipo de informação que é possível se obter mediante o uso da técnica de *wipe test*, na Tabela 13 são relacionados os níveis de ciclofosfamida relativos a uma unidade de preparação do fármaco, a partir de um estudo realizado por MINOIA *et al.* (1999).

A amostragem foi efetuada no final da jornada de trabalho, anterior à operação de limpeza do local. Como se pode observar, os níveis de contaminação residual não estavam elevados, com exceção da Unidade 2 (966 µg ciclofosfamida/$dm^2$ sobre o plano de trabalho da cabine, lado direito). Na unidade 1, foram encontrados

valores de 1,33 µg ciclofosfamida/dm$^2$ no calçado de trabalhadores, o que pode ter contribuído para a difusão do fármaco em ambientes externos.

**Tabela 13**- Níveis de ciclofosfamida em *wipe test*, expressos em µg/dm$^2$, encontrados em unidades hospitalares de preparação do fármaco

| Posição | Unidade 1 | Unidade 2 | Unidade 3 | Unidade 4 |
|---|---|---|---|---|
| cabine: plano de trabalho interno | 46,6 | 0,52 | - | 1,29 |
| cabine: plano de trabalho interno, lado direito | 0,25 | 966,10 | - | 1,97 |
| cabine: plano de trabalho interno, lado esquerdo | 0,33 | 0,04 | - | 0,89 |
| parede interna frontal da cabine | 0,05 | 0,33 | <0,001 | 14,75 |
| parede interna da cabine lado direito | 0,03 | 0,003 | <0,001 | 7,34 |
| parede interna da cabine lado esquerdo | 0,08 | 0,01 | <0,001 | 1,18 |
| parede externa superior da cabine próxima ao filtro | 0,13 | 0,13 | <0,001 | 1,16 |
| vidro de proteção lado interno | 0,53 | 0,002 | <0,001 | 0,19 |
| vidro de proteção lado externo | 0,05 | 0,001 | <0,001 | 1,55 |
| mesa de trabalho | 0,24 | 0,02 | <0,001 | 3,07 |
| maçaneta da porta do local de preparo do fármaco | 0,03 | 0,04 | <0,001 | 0,01 |
| maçaneta da geladeira | 0,07 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| pavimento próximo à cabine | 0,08 | 0,28 | <0,001 | 0,18 |
| sola do calçado dos operadores | 1,33 | 0,12 | <0,001 | <0,001 |
| pavimento a 1 m do local de preparação | 0,60 | 0,03 | <0,001 | 0,02 |
| pavimento a 3,5 m do local de preparação | 0,15 | 0,09 | <0,001 | 0,02 |
| telefone | 0,12 | - | - | - |

**Fonte:** MINOIA *et al.* (1999)

# *Validação das Técnicas de Amostragem e Analíticas*

# 5. VALIDAÇÃO DAS TÉCNICAS DE AMOSTRAGEM E ANALÍTICAS

As técnicas de amostragem e análise empregadas para avaliar a exposição inalatória e cutânea aos quimioterápicos antineoplásicos fornecem uma estimativa aproximada da exposição real e dependem da confiança na metodologia utilizada. No entanto, os métodos analíticos relatados na literatura ainda não estão validados e, raramente, os fatores pré-analíticos, tais como eficiência da amostragem, perda do princípio ativo, estabilidade do analito e valor do branco, foram controlados.

- **Eficiência da amostragem**

A avaliação da eficiência da amostragem do material ambiental particulado deve ser efetuada mediante emprego de atmosfera controlada, reproduzida em laboratório. Tal procedimento é complexo e dificilmente exequível no caso da exposição ocupacional aos quimioterápicos antineoplásicos, pois há um elevado número de princípios ativos utilizados e dificuldades em reproduzir a atmosfera real.

Para o *wipe test*, a verificação da eficiência da amostragem pode ser efetuada através de uma prova que consiste em depositar, sobre uma superfície definida, microquantidades de solução-padrão do fármaco de interesse (isolado ou em misturas). Após a evaporação, efetua-se o recolhimento com vários solventes, verificando, assim, em que condições é obtida maior porcentagem de recuperação. Para as luvas e máscaras, a verificação da eficiência do método de coleta das amostras pode ser mais difícil, uma vez que a adição de microquantidades de solução-padrão é inviável (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

- **Alteração ou perda do princípio ativo**

Entre a amostragem ambiental e a análise pode ocorrer um período de tempo nem sempre previsível. Assim, é oportuno dispor de dados experimentais para saber se o tipo de transporte e de conservação das amostras com relação à umidade, luminosidade e temperatura, requerem acondicionamento específico. Podem ser preparadas amostras-controle, nas quais se adiciona quantidades conhecidas de analito, transportadas e conservadas nas mesmas condições das amostras reais.

Atualmente, este tipo de controle é pouco difundido pois a atenção está voltada principalmente para o procedimento de análise, isto é, para técnicas de extração e identificação do analito.

Entre os trabalhos que consideram o controle dos fatores pré-analíticos, é particularmente importante o estudo conduzido por HANSEN & WADDEN (1988). Os autores tiveram como objetivo avaliar as perdas do analito por evaporação, sublimação ou degradação dos substratos (filtro em lã de vidro com diâmetro de 37 mm). Os princípios ativos considerados foram o metotrexato e a 5-fluorouracila, para os quais foram avaliadas as perdas dos analitos e a estabilidade sob diferentes condições. Foi verificada perda somente para o metotrexato, se conservado a 25°C; depois de 1 dia, a variação era de 5,1% e depois de uma semana, de 5,9%.

PYY *et al.* (1988) conduziram um trabalho semelhante no qual avaliaram a estabilidade da ciclofosfamida nos filtros e em solução aquosa, observando perda que variou de 15% a 25%, após 8 dias.

- **Conservação do analito**

A conservação pode variar em função das características físico-químicas do analito. Alguns quimioterápicos antineoplásicos são fotodegradáveis e devem ser conservados ao abrigo da luz; outros são instáveis à temperatura superior a +4°C. Portanto, é recomendada a conservação das amostras em local seco e ao abrigo da luz ou em geladeira. Em cada caso, é oportuno efetuar a análise no tempo mais breve possível (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

- **Métodos de análise**

As técnicas instrumentais empregadas para a determinação de antineoplásicos em matrizes ambientais variam em função do material utilizado para a coleta e da característica do composto a ser analisado.

O limite de detecção é um requisito fundamental para os métodos empregados na análise dos antineoplásicos. Como conseqüência da adoção de medidas preventivas e protetivas, os níveis de exposição devem ser baixos e, assim, a

metodologia empregada deve ser capaz de revelar o analito na ordem de traços (ng) e, em alguns casos, como na análise de platina, ultratraços (pg).

Até o momento não são disponíveis métodos oficiais para a determinação de ciclofosfamida em matrizes ambientais.

SESSINK *et al.* (1992) utilizaram a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa, com prévia derivação do analito. Recentemente, a cromatografia em fase líquida, acoplada à espectrometria de massa com triplo quadrupolo está sendo utilizada, com obtenção de menor limite de detecção.

A Tabela 14 demonstra algumas técnicas utilizadas para a identificação da ciclofosfamida em matrizes ambientais e seus respectivos limites de detecção.

**Tabela 14**- Técnicas instrumentais empregadas para a análise de ciclofosfamida em matrizes ambientais e seus respectivos limites de detecção

| **Técnica instrumental** | **Limite de detecção do método** | **Referência bibliográfica** |
|---|---|---|
| CLAE-UV(1) | 32 ng/100 µL injetados | De WERK NEAL *et al.* (1983) |
| CLAE-UV | 100 ng/200 µL injetados | PYY *et al.* (1988) |
| CLAE-UV | 1 µg/m$^3$ | SORSA *et al.* (1988) |
| CG-EM(2) | 0,1 µg/L | SESSINK *et al.* (1992) |
| CLAE-UV | 1,25 µg/L | MCDEVITT *et al.* (1993) |
| CLAE-EM-EM(3) | 2,3 ng/mL | MINOIA *et al.* (1998) |
| CG-EM-EM | 0,1 ng/mL | CONNOR *et al.* (1999) |

**Notas**: (1): CLAE-UV= cromatografia em fase líquida de alta eficiência- detector de ultra-violeta; (2): CG-EM= cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa; (3): CLAE-EM-EM= cromatografia em fase líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa- massa.

LARSON *et al.* (2002) sugerem que o método por cromatografia líquida de alta eficiência pode ser utilizado para a determinação de antineoplásicos em amostras *wipe test,* pois em estudo realizado por estes autores, os resultados foram suficientemente exatos e precisos nas áreas de manipulação destes fármacos em hospitais.

A maioria dos métodos para a determinação dos FAN ainda não está validada adequadamente. SCHMAUS *et al.* (2002) propõem um método por CG-EM para a análise de amostras *wipe test* contendo ciclofosfamida e outros antineoplásicos,

coletadas em hospitais. Em estudo conduzido por estes autores, os resultados encontrados para a validação do método foram considerados satisfatórios, como demonstra a Tabela 15.

**Tabela 15**- Resultados da validação do método de determinação de ciclofosfamida em amostras *wipe test* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, de acordo com os dados de SCHMAUS *et al.* (2002)

| Parâmetro realizado | Resultado encontrado |
|---|---|
| limite de detecção | 1 ng/amostra (2,5 pg/cm$^2$) |
| limite de quantificação | 3 ng/amostra (7,5 pg/cm$^2$) |
| recuperação | 60-100% |
| estabilidade | 4 dias a 4°C ou 1 dia à temperatura ambiente |

Em indivíduos ocupacionalmente expostos, a ciclofosfamida urinária pode ser determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) ou com detector de nitrogênio-fósforo ou, ainda, através de captura de életrons com prévia extração líquido-líquido e derivação. A ifosfamida é a substância utilizada como padrão interno na maioria dos estudos relatados na literatura (EVELO *et al.*, 1986; SESSINK *et al.*, 1993b; SESSINK *et al.*, 1994a; BURGAZ *et al.*, 1999). O limite de detecção dos métodos que utilizam a cromatografia gasosa acoplada a duplo espectrômetro de massas é em torno de 100 ng/L (SESSINK & BOS, 1999).

SANNOLO *et al.*, em 1999, obtiveram limites de detecção de 0,1 e 0,5 ng/mL, respectivamente, para a ciclofosfamida e para a ifosfamida em urina, utilizando CG-EM-EM com prévia extração dos analitos com éter dietila e derivação. Neste método, o padrão interno utilizado foi a trofosfamida.

SOTTANI *et al.* (1998) relatam como técnica de identificação de ciclofosfamida em urina, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa-massa (CLAE-EM-EM), com prévia extração líquido-líquido com acetato de etila, sem derivação. Os autores propõem pH igual a 7 para a máxima eficiência do processo de extração e obtiveram um limite de detecção de 0,05 ng/mL.

Na Tabela 16 é mostrada uma comparação entre métodos de determinação de ciclofosfamida urinária, em função de seus respectivos limites de detecção.

**Tabela 16**- Comparação entre os métodos utilizados para a determinação de ciclofosfamida urinária em trabalhadores expostos, em função de seus limites de detecção

| | **Método** | **Limite de detecção** |
|---|---|---|
| ciclofosfamida e ifosfamida | CG-DCE | 2,5 µg/l |
| ciclofosfamida e ifosfamida | CLAE-EM-EM | 0,05 µg/l |
| ciclofosfamida | CG-EM-EM | 0,1- 0,5 µg/l |

**Notas:** CG-DCE= cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons; CLAE-EM= cromatografia líquida de alta eficiência acoplado ao duplo espectrômetro de massa; CG-EM-EM= cromatografia gasosa acoplada a duplo espectrômetro de massa
**Fonte:** APOSTOLI *et al.* (2001)

TURCI *et al.* (2002) propõem a determinação de ciclofosfamida, ifosfamida e metrotrexato em urina de indivíduos expostos através da técnica de CLAE-EM-EM. O método apresentou limite de detecção de 50 ng/L, não necessitando da etapa de derivação.

A técnica de monitorização, ambiental ou biológica, deverá ser idônea e capaz de refletir a exposição aos fármacos, o que corrobora a necessidade da validação dos métodos utilizados para tais determinações (APOSTOLI *et al.*, 2001).

# *Critérios de Segurança na Manipulação dos Fármacos Antineoplásicos*

# 6. CRITÉRIOS DE SEGURANÇA NA MANIPULAÇÃO DOS FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS

Os organismos nacionais e internacionais responsáveis pela segurança dos trabalhadores têm elaborado documentos que pretendem fornecer uma indicação precisa sobre a redução dos riscos durante a fase de manipulação dos FAN. Em geral, as recomendações preconizam a avaliação periódica da exposição, a utilização de equipamento de proteção individual e coletiva, a realização de vigilância sanitária e de programas de instrução, formação e informação que garantam níveis mais baixos de exposição (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

No Brasil, a Portaria 393/96, da Norma Regulamentadora 32, do Ministério do Trabalho e do Emprego, estabelece as diretrizes básicas para a implementacão de medidas de proteção dos trabalhadores em estabelecimentos de assistência à saúde, bem como daqueles que exercem atividades de promoção e assistência à saúde em geral (BRASIL, 1996).

A Resolução 288/1996, do Conselho Federal de Farmácia (CFF) dispõe sobre a competência legal para o exercício da manipulação de drogas antineoplásicas pelo farmacêutico. Em seu artigo 1º atribui privativamente ao farmacêutico a competência pelo exercício de manipulação de drogas antineoplásicas e similares nos estabelecimentos de saúde (BRASIL, 2003b). Já a Resolução 210/1998, do Conselho Federal de Enfermagem (COFEN) dispõe sobre a atuação dos profissionais de enfermagem que trabalham com quimioterápicos antineoplásicos. Esta resolução regulamenta normas a fim de assegurar condições adequadas de trabalho para esta classe de trabalhadores brasileiros (BRASIL, 2003a).

Em 1983, a *American Journal of Hospital Pharmacy*, órgão da *American Society of Hospital Pharmacists* (ASHP), e a *The Medical Journal of Australia* publicaram recomendações para a manipulação com segurança, dos agentes antineoplásicos em hospitais. Um documento análogo foi publicado pelo *Council on Scientific Affairs* do *American Medical Association*, em 1985 (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

O documento reconhecido como mais completo internacionalmente foi elaborado em janeiro de 1986 (revisado em 1995 e 1999) pela *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA), órgão do Departamento do Trabalho dos Estados Unidos. Estas recomendações individualizam dois elementos essenciais: a informação e a formação para os trabalhadores envolvidos na manipulação dos antineoplásicos e o emprego de cabine de fluxo laminar de classe II. Este documento contém uma síntese dos riscos da manipulação dos FAN, uma lista de procedimentos técnico-operacionais e dos equipamentos necessários para a redução da exposição e uma lista dos fármacos em uso.

Nos anos seguintes à publicação das recomendações, alguns autores avaliaram a aplicabilidade destas, em diversas situações, em diferentes hospitais.

Num estudo, conduzido nos Estados Unidos em 1990, foi evidenciada melhora significativa das condições de trabalho, em que 72,3% dos expostos declaravam ter à disposição um adequado sistema de aspiração, em relação a 1982, quando somente 50,5% das unidades de preparação trabalhavam com cabine a fluxo laminar (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Foi relatado por BORDONI *et al.* (1994) uma experiência piloto, em um departamento ginecológico de um hospital italiano no qual as enfermeiras recebiam informações, com suporte didático do farmacêutico e do médico responsável, sobre os agentes utilizados e as medidas de proteção individual e coletiva. Assim, com o envolvimento e colaboração de médicos, farmacêuticos e enfermeiras, houve uma significativa diminuição dos riscos advindos da manipulação de FAN.

Os locais onde há algum tipo de contato com os FAN devem ser caracterizados e os fármacos devem ser conservados em armários com barreira frontal que previnem do risco de queda e ruptura acidental do recipiente que os contém. Devem ser armazenados em locais reservados somente a esta categoria de fármacos, devendo ser assinalado o perigo de contaminação (MINOIA & PERBELLINI, 2000; USA, 2003).

MINOIA & PERBELLINI (2000) recomendam a utilização de alguns materiais, dentre os quais, conexões tipo *luer lock* entre a agulha e a seringa; seringa larga,

firme e estável, feita de material quimicamente inerte e âmbar; agulha com filtro hidrofóbico, utilizada para estabelecer o equilíbrio entre a pressão interna do frasco e a atmosférica e evitar a formação de aerossol no momento em que se retira a agulha da seringa; equalizador de pressão, dispositivo de segurança, dotado de câmera de expansão com filtro e interconexão *luer lock* e tela absorvente monouso, impermeáveis no lado inferior e absorventes no lado superior, para a contenção do risco da exposição nas fases de preparo e administração dos fármacos antineoplásicos.

A tendência atual nos países desenvolvidos é utilizar o dispositivo de segurança PhaSeal® (Figura 6), também conhecido como sistema fechado, que previne a liberação dos fármacos para o ambiente durante a preparação e a administração. Estudos estão sendo conduzidos para avaliar a eficiência deste dispositivo e os resultados demonstraram uma redução da contaminação de superfícies, mesmo quando o fármaco não foi preparado na cabine de segurança (CONNOR *et al.*, 2002).

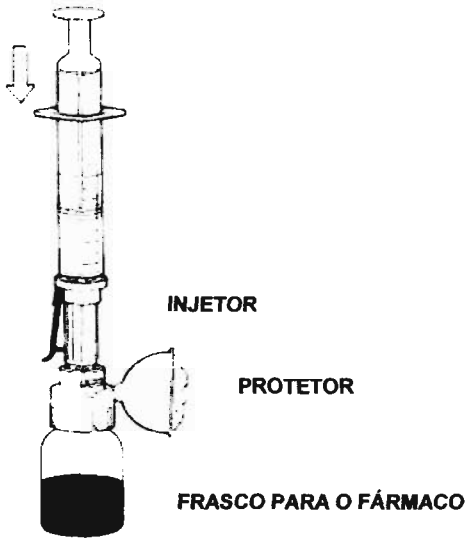



**Figura 6-** Sistema fechado Phaseal® composto por três partes: injetor, protetor e frasco para conter o fármaco.

Os trabalhadores que manipulam os FAN devem ter conhecimento sobre o risco e sobre a adequada manipulação destas substâncias e, ainda, devem utilizar devidamente os equipamentos de proteção individual, tais como: avental, calça, cobressapato, máscaras e respirador, luvas, óculos de proteção e viseira (VALANIS *et al.*, 1992; VILLA *et al.*, 1994; PALAZZO *et al.*, 1996; WHITE *et al.*, 1996; USA, 2003a).

Não existem luvas capazes de garantir impermeabilidade absoluta a todos os fármacos e de longa resistência ao tempo. A única recomendação significativa é usar um duplo par de luvas e trocá-los no máximo depois de 30 minutos de uso (a sudorese das mãos facilita a permeação do fármaco através da luva), fazendo uma adequada higienização das mãos a cada troca. Dar-se-á preferência às luvas de látex tipo cirúrgica ou, como alternativa, as de látex para laboratório. Deve ser evitado o uso de luvas com pó que, deixando um resíduo nas mãos, pode favorecer a absorção dos FAN. As mãos devem ser lavadas antes de se colocar as luvas e depois de retirá-las. É aconselhável o uso de avental monouso, de TNT (tecido não tecido) do tipo cirúrgico, com mangas longas e com elástico no pulso, tal que permita a aderência das luvas sobre o avental (PALAZZO *et al.*, 1996; DEL GAUDIO & MENONNA-QUINN, 1998; USA, 2003).

A preparação dos FAN deve ser realizada em cabine posicionada longe de fonte de calor e de eventual corrente de ar. A cabine recomendada é a de fluxo laminar vertical, na qual o fluxo de ar é direcionado do alto para baixo, estabelecendo uma barreira entre o interior da cabine e o operador. Este tipo, integrada com filtro HEPA[3] de alta eficiência e de sistema de expulsão para o exterior do ar filtrado, garante a manutenção de um plano de trabalho asséptico e uma proteção segura para os trabalhadores. Segundo PALAZZO *et al.* (1996) a cabine de fluxo laminar horizontal garante a assepsia, porém, não protege os trabalhadores.

---

[3] HEPA- *high efficiency particulate air*- tipo de filtro de alta eficiência para material particulado.

É necessário que os trabalhadores adotem um comportamento preventivo nas várias fases de manipulação do fármaco (Anexo I) (VILLA *et al.*, 1994; PALAZZO *et al.*, 1996).

Quanto ao descarte dos resíduos sólidos advindos do preparo e administração dos FAN, ROCHA (2002) recomenda que os materiais não podem ser descartados juntamente com os demais resíduos, devendo ocorrer a separação e posterior identificação deste lixo como "lixo tóxico", conforme Resolução 5/1993, do CONAMA. Além disso, os resíduos devem ser colocados em recipientes apropriados para o descarte de pérfuro-cortantes e o lixo deve ser recolhido individualmente, ambos devendo ser identificados e separados de modo semelhante ao preconizado pelo CONAMA.

Qualquer que seja o programa adotado para a contenção dos riscos ocupacionais a partir da exposição a substâncias perigosas, no caso os FAN, este deve ser constantemente revisado e todo pessoal envolvido com a manipulação deve ser informado e deve ter contato com as recomendações (VALANIS *et al.*, 1992; VILLA *et al.*, 1994; PALAZZO *et al.*, 1996; WHITE *et al*, 1996; HARRISON *et al.*, 1999).

- **Descarte ambiental dos fármacos antineoplásicos**

Todos os materiais residuais dos procedimentos de manipulação dos quimioterápicos antineoplásicos devem ser considerados lixo hospitalar especial e devem ser descartados de acordo com os procedimentos do local, com rigorosa atenção quando da liberação para o meio ambiente (USA, 2003a; WHO, 2003).

Quase todos os quimioterápicos antineoplásicos são sensíveis ao processo de incineração na temperatura em torno de 1000/1200°C. Este processo destrói a molécula principal da substância, mas pode dar origem a derivados de combustão que conservam a atividade mutagênica. É, portanto, oportuno efetuar um tratamento de inativação química (hipoclorito a 10% por 24 horas) antes de enviar o material para o processo de incineração. A urina dos pacientes que recebem tratamento

quimioterápico também deve ser inativada antes do descarte (PALAZZO *et al.*, 1996; MINOIA & PERBELLINI, 2000).

A Tabela 17 demonstra os resultados de alguns métodos químicos utilizados para a degradação da ciclofosfamida.

**Tabela 17**- Métodos químicos de degradação da ciclofosfamida e seus respectivos resultados

| Método | Degradação completa | Produtos mutagênicos | % de degradação após 1 hora |
|---|---|---|---|
| Ni-Al em KOH 2M | sim | não | |
| $KMnO_4$ | sim | não | |
| $H_2O_2$ 30% | | não | 98 |
| NaOCl 5% | | não | 98 |
| Reativo de Fenton (à base de $FeCl_2$) | | sim (se o fármaco é preparado em solução de dextrosol 5%) | 98 |

**Fonte:** MINOIA & PERBELLINI, 2000

Os FAN provenientes do material excretado por pacientes não demonstram ser biodegradáveis. Eles não são eliminados da água por tratamentos convencionais e podem ser encontrados nos efluentes dos rios (KUMMERER *et al.*, 2000).

Os conhecimentos atuais relativos ao destino ambiental dos fármacos antineoplásicos são insuficientes e se faz necessário dispor de dados para avaliar o verdadeiro impacto ambiental derivado do emprego destas substâncias, em particular em relação à contaminação do solo, da fauna aquática e das águas superficiais. Sabe-se que uma vez no ciclo d'água, estes compostos podem ser absorvidos por microorganismos do solo ou degradados por fotólise ou hidrólise (MINOIA & PERBELLINI, 2000). Ainda assim, são insuficientes os dados relativos à transformação ambiental e à bioconcentração destas substâncias.

A ciclofosfamida não está presente na natureza e apresenta elevada mobilidade no solo. A constante de Henry para este composto é estimada em 1,4 x $10^{-11}$ atm $m^3$/ moL, indicando uma considerável volatilização no solo úmido. A tensão de vapor é de cerca de 4,4 x $10^{-5}$ mmHg, dado que fornece uma indicação

análoga para solo seco. Não está estabelecida a velocidade ou a importância da degradação da ciclofosfamida no solo. Em solo úmido, a meia-vida calculada para este fármaco é de 41 dias. A ciclofosfamida não parece ser absorvida em materiais em suspensão ou sedimentos. RICHARDSON & BOWRON (1985) discutiram a falta de informação relativa à degradação e à ecotoxicidade dos fármacos presentes na água próxima ao ambiente hospitalar. A ciclofosfamida sofre lenta hidrólise em solução aquosa após alquilação da molécula sendo, assim, persistente. Esta hipótese foi confirmada após determinação de ciclofosfamida em efluente tratado, demonstrando que esta substância degrada-se parcialmente.

Na atmosfera, a ciclofosfamida está presente tanto na fase de vapor quanto no material particulado aerodisperso. A fase de vapor é degradada por reação com radical hidroxila produzido fotoquimicamente e a meia-vida desta reação é estimada em 5,5 horas (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

# *Objetivos e Plano de Trabalho*

# 7. OBJETIVOS E PLANO DE TRABALHO

Na monitorização da exposição aos antineoplásicos muitas são as dificuldades tanto de ordem técnica quanto analítica. Sendo assim, não existe um padrão mais adequado em relação ao tipo de amostragem e em relação ao método de análise que permita uma avaliação da exposição e do risco. Contudo, é fundamental a obtenção de dados para que se tome medidas efetivas de proteção à saúde.

Assim, este trabalho teve como objetivo geral validar método para a determinação de ciclofosfamida em superfícies e luvas e avaliar a aplicação deste em situação de real exposição ao fármaco. Especificamente, objetivou-se:

- testar cartuchos contendo fase sólida composta de terra diatomácea, para a extração da ciclofosfamida em diversas superfícies e materiais, tais como luvas e bolsas de infusão;

- validar o método, através de estudo de linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, recuperação, precisão e estabilidade;

- coletar amostras de diferentes superfícies e luvass e aplicar o método em situação de exposição ocupacional;

- testar a eficiência de um dispositivo de segurança utilizado para preparo e administração dos antineoplásicos, visando reduzir os níveis de contaminação do ambiente de trabalho;

Para se atingir os objetivos propostos o plano de trabalho foi:

- realizar levantamento e estudo de vários aspectos da exposição ocupacional aos agentes antineoplásicos, particularmente dos métodos analíticos propostos para a determinação da ciclofosfamida;

- determinar a ciclofosfamida nas superfícies e materiais e correlacionar os resultados obtidos entre as diferentes amostras, confrontando-os com os relatados na literatura antes da utilização do dispositivo de segurança (fase 1) e após a sua utilização (fase 2).

# *Material e Método*

# 8. MATERIAL E MÉTODO

## 8.1 DESENHO DO ESTUDO

Foi escolhido como fármaco indicador a ciclofosfamida, um dos antineoplásicos mais utilizados entre os mais tóxicos (classe 1 da IARC). Para medir a contaminação nos locais de preparo e administração do fármaco, a amostragem foi realizada antes e depois da limpeza, na primeira e terceira semana de uso da ciclofosfamida, em quatro centros hospitalares italianos. O estudo foi dividido em duas fases: na primeira fase, os trabalhadores manipulavam o fármaco segundo a técnica tradicional, ou seja, preparo com utilização de ampola e/ou frasco, agulha e seringa e a transferência do fármaco de um frasco e/ou ampola por meio da seringa ou agulha; na segunda fase, os trabalhadores de um dos centros hospitalares (Centro II) manipulavam o fármaco com auxílio do dispositivo Phaseal®- *Carmel Pharma* e a coleta das amostras foi efetuada após três meses de adoção deste dispositivo.

Um questionário, proposto por APOSTOLI *et al.* (1996), com as características do trabalho foi respondido pelo responsável pela coleta das amostras, em cada centro participante do estudo. Este questionário pode ser verificado no anexo II. Na Tabela 18 são elencadas as principais características dos quatro centros, com base nas informações fornecidas pelos trabalhadores.

A medida da contaminação foi efetuada sobre superfícies nos locais de preparação, ou seja, no plano interno da cabine de segurança, plano externo à cabine, pavimento próximo à cabine e, à escolha, maçaneta da geladeira, ou do móvel ou da porta de ingresso, sobre as luvas utilizadas pelos trabalhadores e sobre as bolsas de infusão preparadas e destinadas à administração do fármaco. Para cada ponto de amostragem foram coletados, nas fases 1 e 2, dois *wipe test* (antes e depois da limpeza), assegurando-se que a ciclofosfamida fora utilizada em quantidade de pelo menos 6 g nos dias em que se efetuava a coleta de amostras. No total foram efetuadas cerca de 30 amostras/centro/fase.

As amostras dos 4 centros participantes eram coletadas e enviadas ao laboratório, acondicionadas em caixa de poliestireno com gelo seco e conservadas a -20°C, até o momento da análise.

**Tabela 18**- Caracterização do ambiente e das práticas de trabalho nos quatro centros hospitalares, a partir da análise do questionário

| **Informações referentes ao ambiente e às práticas de trabalho** | **Centro hospitalar** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **I** | **II** | **III** | **IV** |
| *Local de preparo dos fármacos* | | | | |
| -fármacos preparados por farmacêuticos ou técnicos-farmacêuticos | x | x | x | |
| -uso exclusivo para preparação | x | x | x | x |
| -limitação de acesso | x | x | x | x |
| -número de boxes | 6 | 3 | 1 | 1 |
| -pavimento e paredes íntegros e facilmente laváveis | x | x | x | x |
| -cabine de fluxo laminar vertical | 1 | 2 | 1 | 1 |
| -condicionamento de ar específico para o local | x | x | x | x |
| -plano de trabalho coberto com tela monouso | x | x | x | |
| -plano de trabalho fora da cabine | 1 | | 1 | 1 |
| -lavagem dos planos de trabalho no final da semana de trabalho | x | x | x | x |
| -limpeza do plano ao final da jornada | x | x | x | x |
| -armário porta-fármacos antineoplásicos trancado | x | x | x | x |
| -fármacos transportados em carrinho porta-fármacos | x | x | x | x |
| -limpeza efetuada pelo pessoal externo | x | x | x | x |
| -utilização de detergente a base de tensoativos | x | x | x | x |
| - vestiário próprio para o setor | | x | | |
| *Local de administração dos fármacos* | | | | |
| -uso exclusivo | x | x | | |
| -limitação de acesso | | | | |
| -utilização de tela monouso no carrinho porta-fármacos | x | x | x | |
| -limpeza do carrinho porta-fármacos no final da semana de trabalho | x | x | x | x |
| -utilização de detergentes a base de tensoativos | x | x | x | x |
| -utilização de tela monouso para a administração aos pacientes | x | x | x | x |
| *Equipamentos de proteção individual* | | | | |
| -opcionais | x | | x | x |
| -máscara | x | x | x | x |
| -luvas de látex | x | x | x | x |
| -troca das luvas a cada 30 minutos | x | x | | |
| -avental | x | x | x | x |
| -propé de plástico | x | x | x | x |
| -equipamentos de proteção descartáveis | x | x | x | x |
| *Descarte dos materiais e dejetos dos pacientes* | | | | |
| -materiais reutilizáveis, lavados por pessoal externo | x | x | x | x |
| -materiais contaminados estocados em locais próprios e identificados | x | x | x | x |
| -incineração dos materiais | x | x | x | x |
| -dejetos dos pacientes inativados com hipoclorito de sódio | x | x | x | x |

## 8.2 DETERMINAÇÃO DA CICLOFOSFAMIDA

### 8.2.1 Tratamento da amostra

#### 8.2.1.1 Material

- **Reativos**

- ciclofosfamida monoidratada 97% de pureza- ACRÓS, Nova Jersey-USA;

- padrão interno: ifosfamida 97% de pureza- produto comercial Holoxan®- ASTA-PHARMA, Milão- Itália;
- anidrido trifluoroacético 99%- SIGMA, Saint Louis-USA;
- coluna extrativa Chem Elut® de terra diatomácea de capacidade 1 mL- VARIAN, Harbor City-USA;
- tris (hidroximetil) aminometano- ANALYTICALS CARLO ERBA, Milão, Itália;
- os outros reagentes utilizados foram de alto grau de pureza.

- **Equipamento**

- cromatógrafo à gás HP 6890 acoplado a um espectrômetro de massa HP 5972-A, controlados por um computador pessoal Vectra XM série 3 5/9, ambos da marca HEWLETT PACKARD;

- coluna analítica HP5-MS 30 m, diâmetro de 0,25 mm e filme de 0,25 µm, acoplada a uma pré-coluna HP Retention Gap 5 m; diâmetro de 0,53 mm- marca HEWLETT PACKARD. Condicionamento da coluna e da pré-coluna a 300°C por 24 horas, antes do uso.

- **Condições instrumentais**

- injetor: 1 µL injetado no modo *on-column*. Rampa com temperatura inicial de 80°C por 1 minuto, depois 75°C/minuto até 300°C, permanecendo constante;

- forno: temperatura inicial de 70°C/1 minuto, depois 15°C/min até 250°C por 3 minutos e ao final 30°C/minuto até 300°C, permanecendo constante por 5

minutos; o hélio (He) foi utilizado como gás de arraste a pressão constante de 82 kPa e fluxo inicial de 1,1 mL/min;

- interface: temperatura de 310°C. Inicialmente, a identificação da ciclofosfamida foi efetuada em modo SCAN para a obtenção do espectro total, do décimo ao décimo quinto minuto de corrida cromatográfica. Do espectro total foram selecionadas as massas com relação massa/carga 307 e 309 (três vezes menor que o 307) para a análise em modo SIM. O analito foi identificado pela presença dos íons 307 e 309 em adição ao tempo de retenção relativo entre a ciclofosfamida e a ifosfamida N-trifluoroacetiladas.

A quantificação foi realizada com auxílio de uma curva de calibração, construída através de diluição em NaOH, no intervalo de 1 a 100 ng/mL, da solução-mãe de ciclofosfamida a 1 g/L. Estas soluções foram tratadas como amostras e o cálculo da resposta produzida pelo equipamento foi feito com base na área relativa do íon 307 da ciclofosfamida/ifosfamida N-trifluoroacetiladas.

#### 8.2.1.2 Técnica de extração do analito

O método baseou-se no estudo de SESSINK *et al.* (1992), com modificação na técnica de extração do analito, na qual os autores utilizaram a líquido-líquido e, neste estudo, o analito foi extraído, inovadoramente, com utilização de um cartucho contendo terra diatomácea.

- no frasco da amostra adicionar quantidade suficiente para 50 mL de solução aquosa de NaOH 0,03 M;
- colocar no banho de ultra-som por 90 minutos e após agitar em agitador mecânico por 10 minutos; centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos;
- adicionar 1 mL de tampão TRIS (0,2 M; pH 4,5) e 20 µL de padrão interno (Ifosfamida 5 mg/L) à 1 mL de sobrenadante, misturar;
- transferir 1 mL da solução acima para o cartucho contendo terra diatomácea e após 5 minutos, adicionar 5 mL de acetato de etila, duas vezes;
- evaporar à secura e adicionar 50 µL de acetato de etila;

- adicionar 50 µL de anidrido trifluoroacético e colocar o tubo fechado em banho de água a 70°C por 20 minutos; esfriar em temperatura ambiente;
- evaporar à secura e adicionar 50 µL de tolueno;
- colocar no banho de ultra-som por 3 minutos e conservar a -20°C até o momento da análise.

### 8.2.2 Validação analítica

Para validar o método de determinação de ciclofosfamida em superfícies e luvas foram executados alguns parâmetros descritos abaixo (CHASIN *et al.*, 1998; FDA, 1996; FDA, 1998; BRASIL, 2003c):

- *limite de detecção e de quantificação:* foi considerado como limite de detecção do método, a menor concentração que, tratada como amostra real, produziu um pico cromatográfico três vezes maior que o ruído produzido pelo branco, na região do pico da ciclofosfamida. O limite de quantificação do método foi considerado como a menor concentração que, tratada como amostra real, produziu um pico cromatográfico identificável, reprodutível, com precisão a um nível aceitável de 20% e exatidão de 80 a 120%. Os dois limites foram obtidos através de diluições sucessivas da solução-padrão de ciclofosfamida;
- *linearidade:* foi obtida através da análise em quintuplicata de soluções-padrão de ciclofosfamida diluídas no intervalo de 1 a 100 ng/mL, tratadas como amostras reais; o coeficiente de determinação ($r^2$) foi utilizado para avaliação deste parâmetro;
- *precisão:* expressa como coeficiente de variação (CV) percentual, foi determinada em termos de repetibilidade e reprodutibilidade, através da análise de amostras e de solução-padrão de ciclofosfamida, no intervalo de 1 a 100 ng/mL, mediante determinação no mesmo dia e em diferentes dias, cinco replicatas de cada concentração;
- *recuperação do analito após deposição em superfície:* na ausência de amostra certificada, foram depositadas sobre uma superfície definida (900 $cm^2$) soluções-padrão de ciclofosfamida, nas concentrações de 30 e 100 ng/mL. Sucessivamente, as superfícies foram amostradas e o *wipe test* foi analisado nas

mesmas condições de uma amostra de valor desconhecido, em cinco replicatas de cada concentração;

- *recuperação do analito após tratamento em coluna extrativa:* as soluções-padrão de ciclofosfamida, no intervalo de 1 a 100 ng/mL, foram analisadas, em cinco replicatas de cada concentração, como amostras reais e os resultados confrontados com os obtidos sem procedimento de extração, isto é, soluções diluídas em 10 mL de acetato de etila;

- *estabilidade do analito na amostra estocada a -20°C:* foram analisadas amostras, contendo 30 e 100 ng/mL de ciclofosfamida, preparadas para o teste da exatidão, após 15 e 30 dias em congelador.

O teste de exatidão não pôde ser realizado devido à ausência de amostra certificada contendo o analito em questão.

## 8.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com auxílio do *software GraphPad InStat tm®*. Quando a concentração de ciclofosfamida não foi quantificada por este método, por ser menor que o limite de quantificação, foi utilizado nos cálculos o valor 0,25 ng/mL, ou seja metade do limite de detecção (HORNUNG & REED, 1990).

O teste *Kruskal-Wallis* foi utilizado para comparar as concentrações de ciclofosfamida encontradas em superfícies amostradas no plano de trabalho da cabine, no pavimento adjacente à cabine e no plano de trabalho externo à cabine. Estas amostras foram comparadas em cada um dos quatro centros avaliados. O teste *Kruskal-Wallis* foi também utilizado para comparação entre as concentrações do fármaco encontradas no plano de trabalho da cabine, nas luvas utilizadas no preparo do fármaco e nas bolsas de infusão, em cada centro avaliado, com exceção do Centro III, devido à impossibilidade da quantificação da ciclofosfamida nas luvas. Quando foi verificada a diferença estatística entre os valores de ciclofosfamida presentes nas amostras supra citadas, foi aplicado o teste *Dunn´s*, para a comparação múltipla entre as amostras.

O teste *Mann-Whitney* foi utilizado para verificar a diferença estatística entre as concentrações de ciclofosfamida em amostras coletadas nos quatro centros, antes e após a limpeza. Este teste foi também utilizado para verificar a diferença estatística entre as concentrações de ciclofosfamida em amostras coletadas no Centro II, antes e após a utilização do sistema fechado Phaseal®.

# *Resultados e Discussão*

# 9. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos direcionados à avaliação da exposição aos fármacos antineoplásicos sugerem que tais substâncias são responsáveis pelo aparecimento de diversos efeitos tóxicos podendo, muitas vezes, até originar graves efeitos crônicos irreversíveis. Nesta exposição, contraditoriamente, a mesma substância que é benéfica oferece risco para a maioria dos indivíduos que as utilizam e para os trabalhadores que as manipulam.

São requeridas técnicas especiais para a manipulação dos antineoplásicos. É a determinação de procedimentos especiais que minimiza a exposição acidental, evitando a contaminação ambiental e biológica. Os riscos aos profissionais que manuseiam tais fármacos são resultantes da toxicidade inerente da substância química e das condições de exposição, as quais ressalta-se a dose, a duração e a freqüência da exposição.

Existe uma série de medidas para reduzir os riscos advindos desta exposição, todavia, somente uma, talvez a mais importante, a de trabalhar com concentração e atenção, é acessível a qualquer profissional. Todas as outras medidas exigem, de alguma forma, a colaboração de outras pessoas e de um âmbito superior ao dos trabalhadores (MONTEIRO, 2001).

Todos os profissionais que manipulam os FAN devem ser conscientizados dos riscos decorrentes desta exposição pois, ao serem manuseados incorretamente, tais agentes podem contaminar o ambiente, o organismo do trabalhador ou ambos.

Para a avaliação da exposição muitos métodos utilizados, tais como a mutagenicidade urinária, as aberrações cromossômicas e a troca de cromátides-irmãs, apresentam baixa sensibilidade e inespecificidade. Já, para a identificação e a quantificação dos antineoplásicos em urina dos profissionais que os manipulam e nas diversas superfícies contaminadas, os avanços tecnológicos, tais como o emprego da cromatografia gasosa ou líquida acoplada ao espectrômetro de massas, têm contribuido para o aumento da confiabilidade nas determinações.

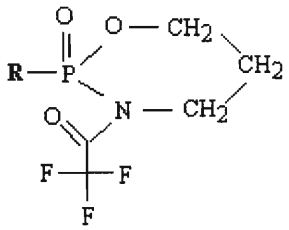
Por ser a ciclofosfamida classificada no grupo 1 da IARC, detectá-la nos locais de preparo e administração representa a identificação de um risco potencial para os trabalhadores, o que reafirma a necessidade da avaliação com métodos cada vez mais sensíveis. Não detectar o fármaco pode não significar sua ausência mais sim, ineficiência metodológica. E detectá-lo indica a necessidade de revisão e modificação dos procedimentos de manuseio dos antineoplásicos, levando à redução dos níveis de contaminação e prevenindo os efeitos decorrentes desta exposição.

Neste estudo, a determinação da ciclofosfamida em diversas superfícies e em luvas foi realizada com base no método proposto por SESSINK *et al.*, em 1992, sendo a técnica de identificação do analito similar àquela utilizada por estes autores, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa.

## 9.1 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DA CICLOFOSFAMIDA EM SUPERFÍCIES E MATERIAIS

A partir da análise preliminar do espectro da substância, obtido com soluções-padrão de ciclofosfamida e ifosfamida, tratadas como se fossem amostras reais foram escolhidos dois íons para a identificação do analito nas amostras. O íon 307, por ser o mais abundante na molécula derivada, e já utilizado em outros estudos (SESSINK *et al.*, 1992 e SESSINK *et al.*, 1993b), e o íon 309, descrito por EVELO *et al.* (1986) e SCHMAUS *et al.* (2002). A proporção entre os picos cromatográficos, produzida pelos dois íons neste estudo, foi de 3:1 (íon 307: íon 309). A Figura 7 demonstra os espectros da ciclofosfamida e da ifosfamida N-trifluoroacetiladas.

Teoricamente, a utilização de mais de um íon na identificação do analito causa perda de sensibilidade instrumental; apesar disto, neste estudo, ao se utilizar dois íons, foi possível detectar baixas concentrações da ciclofosfamida com maior confiabilidade nos resultados obtidos.



*CICLOFOSFAMIDA N-trifluoroacetilada*

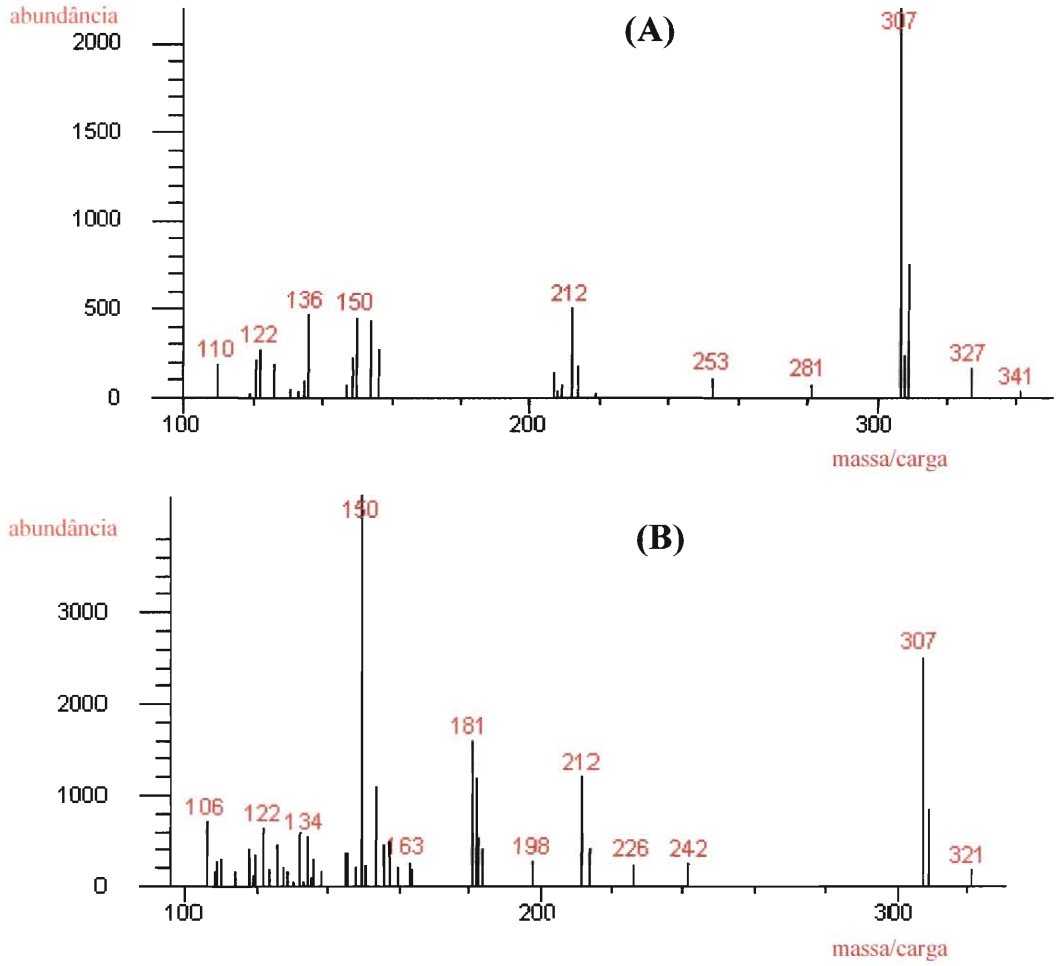



**Figura 7**- Espectro das substâncias N-trifluoroacetiladas: ciclofosfamida (A) e padrão interno (B), a partir de análise de solução-padrão por meio de CG-EM, em modo SCAN, com prévia extração em fase sólida.

O padrão interno escolhido foi a ifosfamida, com base no estudo realizado por SESSINK *et al.* (1992). Todavia, este é também um fármaco antineoplásico que

pode ser utilizado na prática clínica. Quando ocorre a manipulação simultânea da ciclofosfamida e da ifosfamida, a determinação destes dois fármacos não pode ser realizada na mesma análise, por este método. Em vista disto, era premissa que os centros participantes não manipulassem este fármaco nos dias das amostragens. Todavia, em dois pares de luvas do Centro II, um na fase 1 e outro na fase 2, a concentração de ciclofosfamida não pôde ser determinada devido à presença de ifosfamida nas amostras, sugerindo que a substância fora manipulada pelos trabalhadores que utilizavam estes pares de luvas no momento da coleta das amostras. Como procedimento de rotina, é recomendado o questionamento sobre os fármacos manipulados no dia da coleta das amostras.

O tempo de retenção obtido para a ciclofosfamida N-trifluoroacetilada foi de 13,3 minutos e de 12,5 minutos para a ifosfamida N-trifluoroacetilada, com uma variação de ± 0,2 minuto para os dois compostos. O tempo de retenção relativo, sendo uma constante e, neste estudo, igual a 1,06, foi considerado um parâmetro adicional na identificação do analito no cromatograma.

A extração da ciclofosfamida da matriz foi considerada etapa fundamental nesta análise toxicológica. Como esta objetivou a detecção de apenas um analito, optou-se por uma técnica mais elaborada, na tentativa de excluir as demais substâncias. Assim, foi utilizada, de forma inovadora, a extração em fase sólida, a qual vem se tornando ferramenta importante, nos laboratórios de Toxicologia, por apresentar algumas vantagens, das quais destaca-se o aumento na eficiência do processo, representada pela maior porcentagem de recuperação, a eliminação da possibilidade da formação de emulsões e a obtenção de um extrato mais limpo, originando um cromatograma com menos interferentes. Além disso, o uso da fase sólida possibilitou menor contato do analista com o acetato de etila, minimizando um possível risco de exposição ao solvente.

A coluna Chem Elut®, utilizada neste estudo, contém uma fase sólida composta de terra diatomácea e apresenta uma grande área de superfície em que é adsorvida a amostra aquosa. A posterior aplicação do solvente orgânico, imiscível com a água, proporciona a extração do analito.

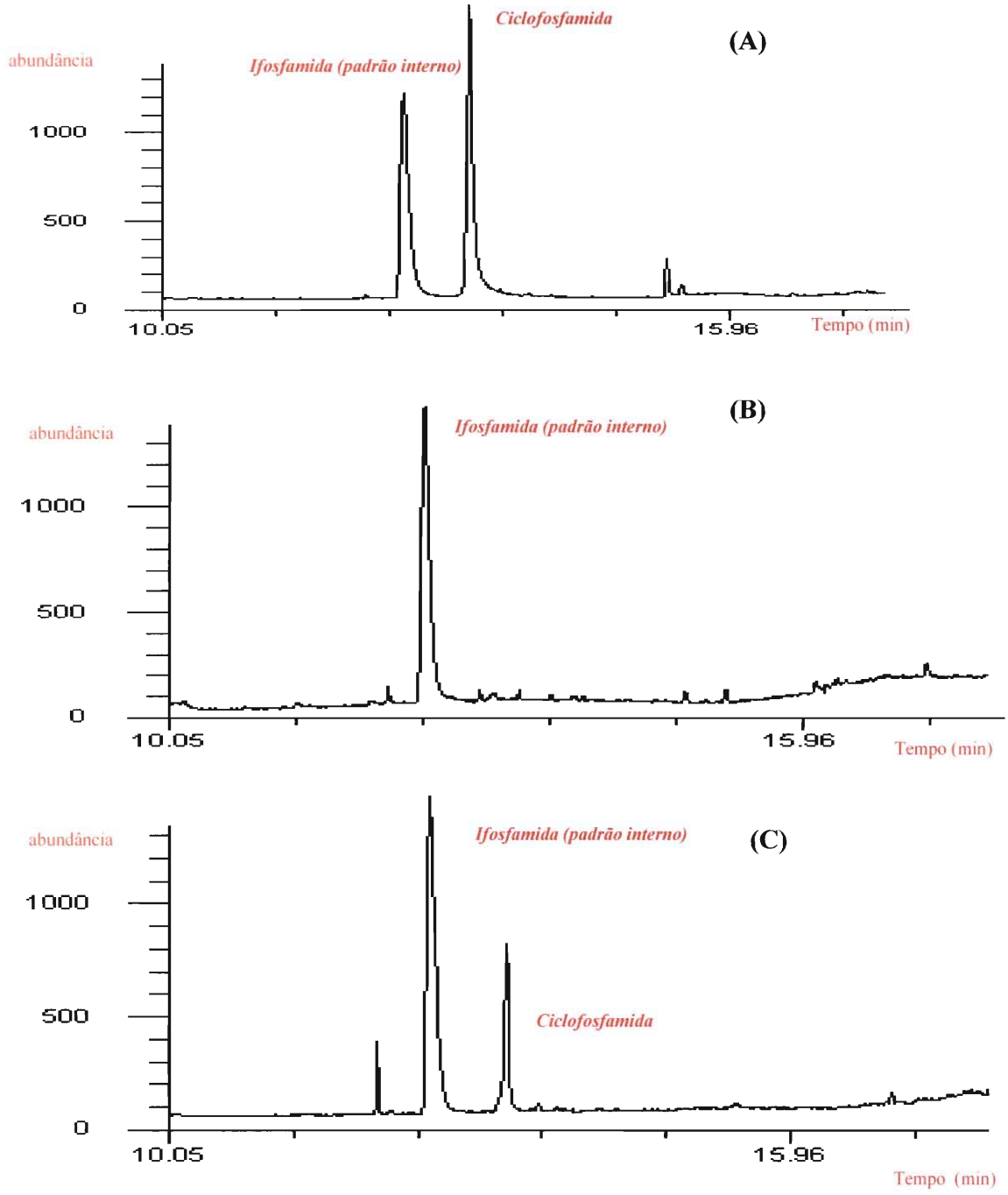



**Figura 8**- Cromatogramas obtidos após análise de: (A) adicionado de solução-padrão de ciclofosfamida a 50 ng/mL (13,3 min), em relação à ifosfamida (12,5 min); (B) bolsa de infusão com concentração não quantificada (<1,0 ng/mL); (C) bolsa de infusão com concentração igual a 640 ng de ciclofosfamida, em modo SIM= íon 307. As amostras foram analisadas por CG-EM com prévia extração em fase sólida.

A ciclofosfamida e a ifosfamida N-trifluoroacetiladas foram completamente separadas na corrida cromatográfica, sem interferência nos tempos de retenção dos dois compostos, tanto na análise de solução-padrão quanto na análise das amostras, como demonstrado na Figura 8. Ainda assim, em 9 pares de luvas utilizadas no Centro III, não foi possível a correta identificação do analito, pois havia um pico cromatográfico interferente do íon 307, entre o 12° e o 15° minutos de corrida, possivelmente um componente da própria luva, que também era extraído por este método.

## 9.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

A qualidade e a credibilidade de um trabalho analítico se fundamentam nos cuidados com os quais o analista se cerca para produzir dados que expressem o valor real da medida obtida. A validação de um método é um dos elementos básicos de sistemas de qualidade laboratorial, como propõem as Boas Práticas de Laboratório (BPL). O ato de validar visa diminuir ou controlar os fatores que levam à imprecisão ou inexatidão de um dado gerado (CHASIN, 1998). Em vista disso, e da ausência de métodos para a determinação de ciclofosfamida completamente validados, esta etapa analítica foi considerada de fundamental importância neste estudo.

Utilizando as colunas de extração em fase sólida, na fase de preparo das amostras, obteve-se um limite de detecção de 0,4 ng/mL e um limite de quantificação de 1,0 ng/mL (Tabela 19). Com estes limites foi possível quantificar a ciclofosfamida na fase 1 do estudo em 80,5%, de um total de 143 amostras coletadas. Em 18 amostras, a concentração de ciclofosfamida não pôde ser quantificada, pois a resposta obtida foi menor que 1,0 ng/mL, ou seja, abaixo do limite de quantificação do método.

Na análise dos FAN o limite de detecção é parâmetro de suma importância pois o método empregado deve ser capaz de revelar o analito na ordem de traços (ng ou até pg). O valor de LD encontrado neste estudo, 0,4 ng/mL, foi menor do que aquele

encontrado por SESSINK *et al.* em 1992, 1,0 ng/mL, quando foi empregada a mesma técnica de identificação e quantificação da ciclofosfamida, CG-EM.

O método, no intervalo de 1 a 100 ng/mL, apresentou coeficiente de determinação maior 0,98 ($r^2$= 0,9928), sendo assim considerado linear (FDA, 1998; BRASIL, 2003c). Este resultado reforça o achado de SESSINK *et al.*, em 1993, que, utilizando o mesmo intervalo dinâmico, obteve um coeficiente superior a 0,99. Na Figura 9 pode ser observada a curva média obtida no estudo da linearidade do método.

A partir da curva de calibração neste intervalo, analisada no início da corrida analítica e preparada diariamente, a ciclofosfamida pôde ser determinada na maioria das amostras coletadas, exceto naquelas em que os valores foram abaixo do limite de quantificação. Quando a concentração de ciclofosfamida na amostra excedeu o intervalo dinâmico da curva de calibração, procedeu-se à diluição da mesma com a solução de NaOH de tal maneira que a quantificação pudesse ser interpolada no intervalo estudado. O resultado obtido foi multiplicado pelo fator de diluição.

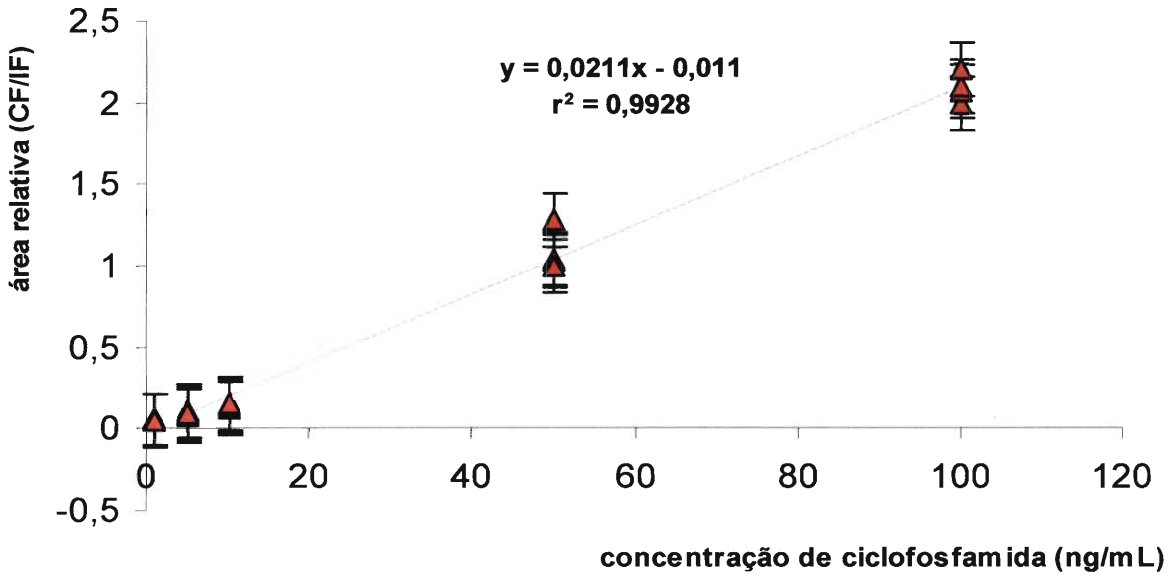



**Figura 9-** Linearidade do método utilizado para a determinação de ciclofosfamida em superfícies e luvas, no intervalo de 1 a 100 ng/mL, através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa com prévia extração do analito em fase sólida.

**Tabela 19**- Resultados da validação do método de determinação da ciclofosfamida em *wipe test* e luvas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa com prévia extração em fase sólida

| parâmetro avaliado | resultado encontrado |
|---|---|
| limite de detecção | 0,4 ng/ml |
| limite de quantificação | 1,0 ng/ml |
| linearidade (coeficiente de correlação) | 0,9928 |
| precisão (intervalo do coeficiente de variação) | repetibilidade: 0,5-10% |
| | reprodutibilidade: 0-19% |
| recuperação após deposição em superfície | de -17 a +16 % |
| recuperação após extração em coluna | 98,9% |
| estabilidade | 30 dias a -20°C |

No estudo da precisão do método, em termos de repetibilidade, os coeficientes de variação obtidos para a análise de soluções-padrão, no intervalo 1-100 ng/mL, foram de 0,5 a 10% (Tabela 19). Os coeficientes de variação, obtidos em diferentes dias de análise (reprodutibilidade), foram de 0 a 19%.

CONNOR *et al.* (1999), após análise de ciclofosfamida em amostras de superfície através de CG-EM-EM, obtiveram coeficientes de variação abaixo de 10%. No estudo realizado por SESSINK *et al.* (1993b) o coeficiente de variação intra-ensaio obtido foi 5,1% e o interensaio foi 18%, na análise de adicionado contendo 11,7 ng/mL de ciclofosfamida, valor médio no intervalo de concentrações estudado por estes autores.

O coeficiente de variação de até 20% pode ser aceito desde que a análise tenha sido realizada com calibradores contendo baixas concentrações do analito (FDA, 1998), o que ocorreu neste estudo pois o CV de 19% foi obtido quando foram analisadas as replicatas do calibrador 1 ng/mL.

Para o teste da recuperação do analito após deposição em superfície definida, como demonstra a Tabela 19, a tendenciosidade variou de 16% para o *wipe test*, preparado com uma concentração nominal de 30 ng/mL de ciclofosfamida e -17% para a concentração nominal de 100 ng/mL. Os resultados foram considerados satisfatórios, em relação ao intervalo de 15 a 20%, preconizado pela *Food and Drug Administration* (FDA, 1998). Não foi possível comparar os achados do presente

trabalho aos da literatura, pois não há relatos de outros estudos que tenham realizado este teste.

Na Tabela 19 pode ser observado que o estudo de recuperação do analito, resultou em 98,9%, para as duas concentrações estudadas, 30 ng/mL e 100 ng/mL. Estes resultados corroboram a discussão anterior sobre as vantagens da utilização de extração em fase sólida, destacando-se a elevada porcentagem de recuperação e a minimização do risco do contato do analista com o solvente extrator. SCHMAUS *et al.* (1998) obtiveram, dentro de um intervalo de 0,5 a 50 ng, recuperação de 60 a 100%, quando o analito foi extraído utilizando-se 30 mL de acetato de etila. Este estudo obteve maior recuperação com a utilização de 1/3 do solvente.

O percentual médio obtido por MINOIA *et al.* (1998) e MINOIA *et al.* (1999) foi >85%, para o intervalo de concentrações igual a 1-5 ng/filtro ou *wipe* e 0,5-50 µg/par de luvas. McDEVITT *et al.* (1993), para um intervalo de concentrações não relatado, obtiveram um percentual de recuperação igual a 85%. Por sua vez, PYY *et al.* (1988) obtiveram uma recuperação percentual igual a 97%, para a análise de ciclofosfamida em matriz ambiental.

Segundo a FDA (1998), 100% é a porcentagem desejável, porém porcentagens menores como 50 a 60% podem ser aceitas se o estudo é reprodutível e exato.

No teste para verificar a estabilidade da ciclofosfamida nas amostras conservadas em congelador a -20ºC, foi observado que o analito permaneceu estável pelo período de um mês, nas concentrações de 30 ng/mL e 100 ng/mL (Tabela 19). Os gráficos da Figura 10 demonstram que a concentração de ciclofosfamida decaiu até dois desvios-padrão em relação à média, no período analisado.

SESSINK *et al.* (1993b) não observaram perda significativa na análise de amostras-controle de urina, contendo 11,7 ng/mL de ciclofosfamida, por um período de três meses. Em 8 dias, a concentração de ciclofosfamida diminuiu de 15%, em filtros de amostragem ambiental, e 25%, no extrato em água, no estudo de PYY *et al.* (1988). SCHMAUS *et al.* (2002) obtiveram estabilidade de um dia, quando a

amostra contendo ciclofosfamida foi conservada à temperatura ambiente (22°C), e quatro dias, quando conservada a 4°C.

Os resultados da validação foram considerados satisfatórios e o método pôde ser aplicado em diferentes amostras coletadas em centros hospitalares, em situação de real exposição ocupacional aos fármacos antineoplásicos.

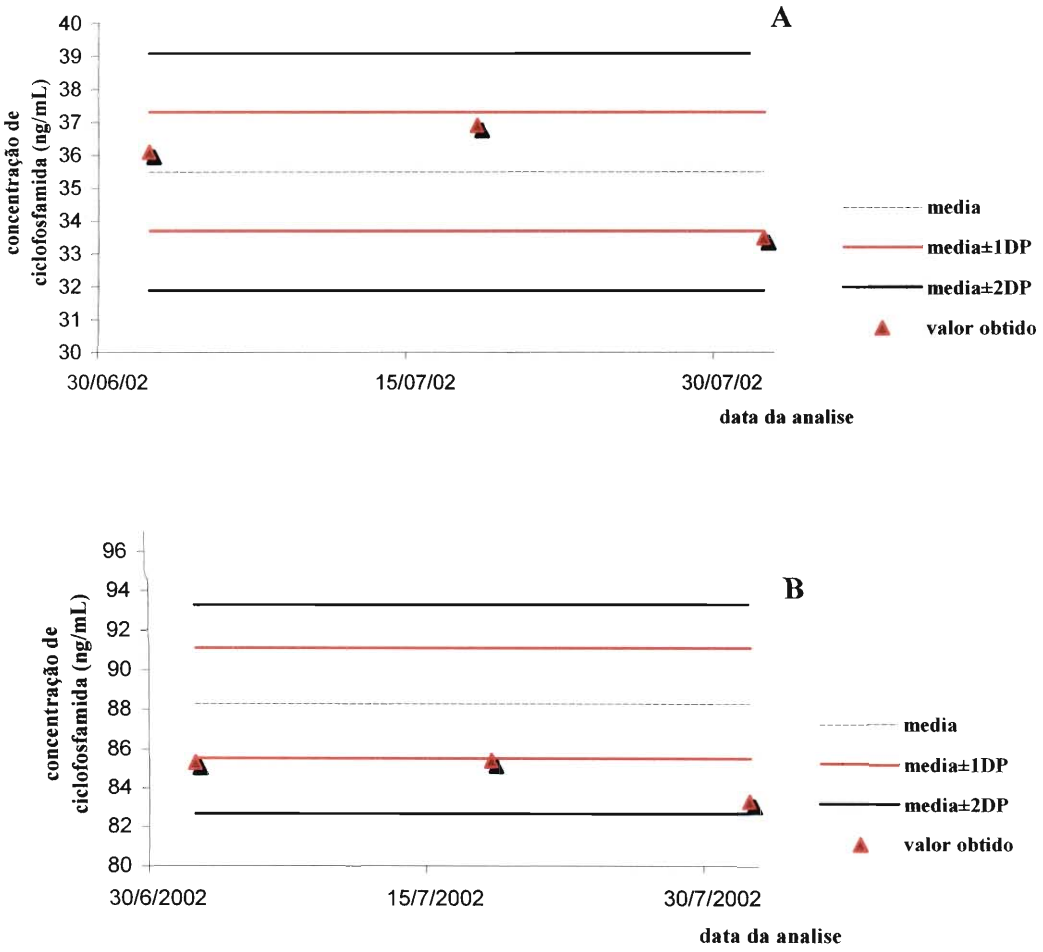



**Figura 10-** Estabilidade da ciclofosfamida, a 30 ng/mL (A) e a 100 ng/mL (B), em *wipe test* estocado em congelador a -20°C e analisado por um período total de um mês através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa com prévia extração do analito em fase sólida.

## 9.3 AMOSTRAS

### *FASE 1*

A fase 1 do estudo foi caracterizada pela manipulação da ciclofosfamida de acordo com a técnica tradicional, ou seja, preparo com utilização de ampola e/ou frasco, agulha e seringa e a transferência do fármaco de um frasco e/ou ampola por meio da seringa ou agulha. Nesta fase foram coletadas e analisadas 143 amostras: 62 destas coletadas em diferentes superfícies, 39 luvas e 42 bolsas de infusão. Em 115 destas amostras, perfazendo 80,5%, a concentração de ciclofosfamida pôde ser determinada, de acordo com o limite de quantificação do método (1,0 ng/mL).

As condições e os procedimentos de trabalho foram essencialmente os mesmos, nos quatro centros avaliados (Tabela 18). Os equipamentos de proteção individual (EPI) e coletiva eram acessíveis a todos os trabalhadores, embora nem sempre fossem por estes utilizados. Apesar da existência das normas de segurança e sua periódica revisão, observou-se na prática cotidiana a transgressão das mesmas por grande parte dos trabalhadores.

Somente no Centro II os trabalhadores relataram preparar o fármaco sempre sob a cabine, a obrigatoriedade da utilização dos EPI e a troca das vestimentas em vestiário próprio (Tabela 18).

Os dados do estudo de MONTEIRO (2001), realizado em um hospital universitário de Minas Gerais, indicam que, ao preparar o fármaco antineoplásico injetável, os enfermeiros, técnicos e auxiliares de enfermagem referiram não utilizar os equipamentos de proteção individual. Os trabalhadores referiram, ainda, não utilizar a cabine de fluxo laminar vertical com exaustão externa devido à falta do equipamento nos locais de manipulação do fármaco.

Embora não exista uma indicação específica para a segura manipulação de fármacos antineoplásicos (COSENDEY, 1994), no Brasil, de acordo com a Portaria 3535, do Ministério da Saúde, para o preparo dos fármacos antineoplásicos é obrigatória a instalação de cabine de segurança biológica classe II com 100% de exaustão externa, sem recirculação de ar (BRASIL, 1998).

No Centro IV, os planos de trabalho não eram recobertos com telas ou tecidos monouso, sendo estes reutilizados após lavagem com detergente à base de tensoativos, nem sempre separadamente. Esta não é considerada prática de trabalho adequada, pois pode aumentar o risco de exposição pela retenção do fármaco no tecido.

Na Tabela 20 podem ser observados os resultados encontrados a partir da análise de ciclosfamida em *wipe test* coletados em superfícies do pavimento adjacente à cabine, do plano de trabalho da cabine, das maçanetas (escolhidas a critério do centro) e do plano de trabalho externo à cabine, geralmente o carrinho porta-fármacos.

Analisando as amostras coletadas nesta fase, os resultados obtidos nas 16 amostras do pavimento adjacente à cabine variaram de não quantificado a 3,1 ng de ciclofosfamida/cm$^2$. SESSINK *et al.*, no estudo realizado em 1992, não detectaram a ciclofosfamida nas amostras coletadas em dois diferentes locais de possível contaminação com o fármaco, o ambulatório e a farmácia. MINOIA *et al.* (1999) obtiveram para este mesmo tipo de superfície amostrada, valores entre <0,1 e 28 ng/cm$^2$.

O trabalhador deve sempre realizar a manipulação dos FAN dentro da cabine de segurança e sua movimentação deve ser a mínima possível, pois pode aumentar o risco de contaminação na área de trabalho.

No plano de trabalho da cabine, nas 16 amostras analisadas, os resultados variaram de 0,01 a 53 ng ciclofosfamida/cm$^2$ (Tabela 20). Estes resultados reforçam os achados de SESSINK *et al.* (1992) que encontraram um intervalo de 0,1 a 12 ng ciclofosfamida/cm$^2$, na análise de 36 amostras e, à semelhança do presente estudo, nenhuma destas apresentou níveis não quantificáveis.

Nos *wipe test* analisados por McDEVITT *et al.* (1993) os resultados variaram de 5 a 35 ng ciclofosfamida/cm$^2$ e no estudo conduzido por SESSINK *et al.* (1993a) os *wipe test* apresentaram valores de ciclofosfamida que variaram de 0,05 a 44 ng/cm$^2$.

Recentemente, CONNOR *et al.* relataram que estudos realizados em vários países têm demonstrado a contaminação das superfícies das cabines utilizadas para

o preparo dos FAN (CONNOR, 2002). Os achados do presente trabalho sugerem que a manipulação da ciclofosfamida foi realizada de forma incorreta, resultando em níveis elevados de contaminação ambiental. Na Tabela 18, pode ser observado que nos Centros I, III e IV, o preparo dos FAN não foi realizado somente sob a cabine de segurança, havendo nestes três centros planos de trabalho fora da capela.

Apesar de serem considerados elevados, os valores obtidos no presente estudo não foram os maiores já determinados, pois em 1999, MINOIA *et al.* encontraram nas superfícies das cabines de segurança, amostradas em hospitais italianos, valores variáveis de 52 a 4660 ng/cm$^2$.

No plano de trabalho externo à cabine (geralmente o carrinho porta-fármacos) os valores variaram de não quantificado a 1,4 ng ciclofosfamida/cm$^2$. Estes valores são considerados baixos, em relação às outras superfícies amostradas e aos estudos anteriores, todavia tal contaminação com o fármaco não pode ser desconsiderada, pois demonstra e reforça as inadequadas práticas de trabalho.

As maçanetas do armário porta-fármacos apresentaram valores de ciclofosfamida que variaram de não quantificado a 1174 ng (Tabela 20). Os resultados não foram expressos em ng/cm$^2$, pois, neste estudo, este tipo de amostra não foi determinado em termos de superfície, mas sim em valores absolutos. Em estudo conduzido por MINOIA *et al.* (1999) foram obtidos de 0,1 a 70 ng/cm$^2$, em maçanetas de porta e de geladeira, demonstrando que esta é um tipo de superfície que pode ser contaminada, sendo importante fonte de veiculadora do agente.

MINOIA *et al.* (1998), CONNOR *et al.* (1999) e MINOIA *et al.* (1999) encontraram valores de 10 a 96.610 ng ciclofosfamida/cm$^2$ em *wipe test* coletados em diversos departamentos hospitalares, mostrando o amplo intervalo de concentrações que pode ser obtido em diferentes superfícies, até mesmo de locais em que o acesso não é restrito. Em vista disto, é de suma importância amostrar e analisar as superfícies, tais como a do carrinho porta-fármacos e a de maçanetas, cuja probabilidade de contato é grande por parte de outros profissionais, que não somente os responsáveis pelo preparo dos fármacos.

**Tabela 20**- Concentração de ciclofosfamida encontrada nos *wipe test* coletados em diversas superfícies nos 4 centros hospitalares

| | Pavimento adjacente à cabine ($ng/cm^2$) | Plano de trabalho da cabine ($ng/cm^2$) | Maçaneta (ng) | Plano de trabalho externo à cabine ($ng/cm^2$) |
|---|---|---|---|---|
| **centro I** | | | | |
| **amostragem 13/06/2002** | | | | |
| antes da limpeza | 0,20 | 0,90 | 688,0 | 0,70 |
| após a limpeza | 0,30 | 0,40 | 1102,0 | 0,30 |
| **amostragem 27/06/2002** | | | | |
| antes da limpeza | 0,03 | 0,40 | 210,0 | 0,10 |
| após a limpeza | 0,05 | 0,10 | NQ(1) | 0,04 |
| **centro II** | | | | |
| **amostragem 14/06/2002** | | | | |
| antes da limpeza | 0,10 | 0,30 | 592,0 | 0,50 |
| após a limpeza | 0,50 | 0,20 | 1174,0 | 0,40 |
| **amostragem 28/06/2002** | | | | |
| antes da limpeza | 0,10 | 0,30 | 135,0 | 0,20 |
| após a limpeza | 0,30 | 0,20 | 220,0 | 0,10 |
| **centro III** | | | | |
| **amostragem 03/07/2002** | | | | |
| antes da limpeza | NQ(1) | 4,00 | 240,0 | 0,10 |
| após a limpeza | 0,10 | 0,05 | 150,0 | 0,10 |
| **amostragem 17/07/2002** | | | | |
| antes da limpeza | 0,04 | 0,05 | NQ(1) | 1,40 |
| após a limpeza | 0,20 | 0,01 | NQ(1) | NQ(1) |
| **centro IV** | | | | |
| **amostragem 20/06/2002** | | | | |
| antes da limpeza | 0,10 | 4,20 | 76,1 | 0,50 |
| após a limpeza | 0,20 | 0,70 | NA(2) | 0,02 |
| **amostragem 04/07/2002** | | | | |
| antes da limpeza | 3,10 | 3,70 | NQ(1) | NQ(1) |
| após a limpeza | 0,40 | 53,00 | NA(2) | NQ(1) |

**Notas:** (1) NQ= não quantificado (inferior a 1,0 ng/mL); (2) NA= não amostrado

Nas Tabelas 21, 22 e 23 podem ser observadas as medidas estatísticas das concentrações de ciclofosfamida nas superfícies do pavimento adjacente à cabine, do plano de trabalho da cabine e do plano de trabalho externo à cabine, respectivamente.

**Tabela 21-** Resumo das medidas estatísticas das concentrações de ciclofosfamida, em ng/cm$^2$, encontradas no plano de trabalho da cabine nos quatro centros hospitalares avaliados

| | **Resultados estatísticos/ Centro** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **I** | **II** | **III** | **IV** |
| média | 045 | 0,25 | 1,03 | 15,40 |
| mediana | 0,40 | 0,25 | 0,05 | 3,95 |
| desvio-padrão | 0,332 | 0,058 | 1,982 | 25,114 |
| intervalo de confiança 95% | | | | |
| inferior | -0,077 | 0,158 | -2,125 | -24,557 |
| superior | 0,977 | 0,342 | 4,180 | 55,357 |

**Tabela 22-** Resumo das medidas estatísticas das concentrações de ciclofosfamida, em ng/cm$^2$, encontradas no pavimento adjacente à cabine nos quatro centros hospitalares avaliados

| | **Resultados estatísticos/ Centro** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **I** | **II** | **III** | **IV** |
| média | 0,15 | 0,25 | 0,09 | 0,95 |
| mediana | 0,13 | 0,25 | 0,07 | 0,30 |
| desvio-padrão | 0,128 | 0,192 | 0,084 | 1,439 |
| intervalo de confiança 95% | | | | |
| inferior | -0,058 | -0,055 | -0,046 | -1,339 |
| superior | 0,349 | 0,555 | 0,221 | 3,239 |

**Tabela 23-** Resumo das medidas estatísticas das concentrações de ciclofosfamida, em ng/cm$^2$, encontradas no plano de trabalho externo à cabine nos quatro centros hospitalares avaliados

| | **Resultados estatísticos/ Centro** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **I** | **II** | **III** | **IV** |
| média | 0,29 | 0,30 | 0,40 | 0,14 |
| mediana | 0,20 | 0,30 | 0,10 | 0,01 |
| desvio-padrão | 0,298 | 0,183 | 0,666 | 0,243 |
| intervalo de confiança 95% | | | | |
| inferior | -0,189 | 0,010 | -0,658 | -0,252 |
| superior | 0,759 | 0,591 | 1,463 | 0,522 |

O teste *Kruskal-Wallis*, para a comparação múltipla nos 4 centros hospitalares das amostras coletadas no plano de trabalho da capela, no pavimento adjacente e no plano de trabalho externo, demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa (Tabela 24 e Figura 11).

**Tabela 24-** Valores de *p* encontrados após a aplicação do teste *Kruskal-Wallis* para a comparação entre as concentrações de ciclofosfamida, em ng/cm$^2$, nas superfícies amostradas nos quatro centros hospitalares

| **Resultados estatísticos*** | | |
|---|---|---|
| Plano de trabalho da cabine | Pavimento Adjacente | Plano de trabalho externo à cabine |
| 0,0506 | 0,2005 | 0,4049 |

* Os valores de *p*>0,05 demonstraram diferenças não estatisticamente significativas

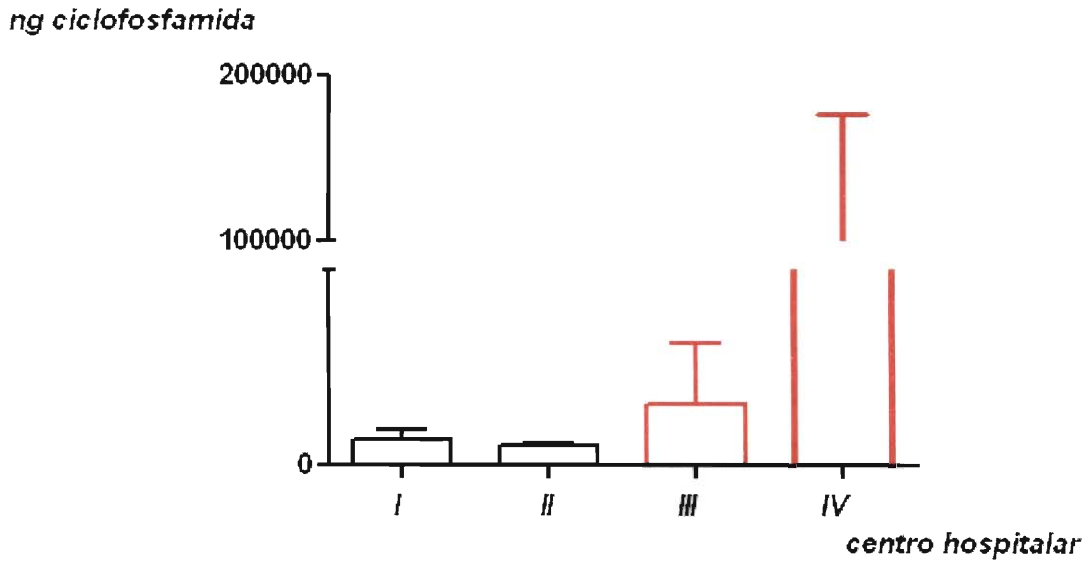



**Figura 11-** Comparação entre as concentrações de ciclofosfamida, em ng, encontradas nas amostras coletadas nos quatro centros hospitalares (**teste Kruskal-Wallis:** diferença não significativa, *p*= 0,2010).

No Centro IV foram observados alguns procedimentos de trabalho inadequados (Tabela 18), no que concerne a utilização dos equipamentos de proteção individual, procedimentos de limpeza das superfícies e utilização de telas não monouso, sobre os planos de trabalho. Inadequadamente, neste centro o preparo dos antineoplásicos não fora realizado exclusivamente por farmacêuticos ou técnicos-farmacêuticos.

De modo geral, o farmacêutico deve estar presente em todas as atividades envolvendo medicamentos, desde de seu controle de qualidade e conservação até a obtenção e difusão de informações sobre os fármacos e a educação permanente dos profissionais da saúde, do paciente e da comunidade, para assegurar o uso racional destas substâncias. No Brasil, de acordo com a Resolução 288/1996, que dispõe sobre a competência legal para o exercício de manipulação de drogas antineoplásicas, ao farmacêutico cabe proceder a manipulação dos antineoplásicos segundo prescrição médica em concordância com o preconizado na literatura. Cabe ainda a este profissional orientar, supervisionar e estabelecer rotinas nos procedimentos de manipulação e preparo destes fármacos (BRASIL, 2003b).

MONTEIRO (2001) indagou os trabalhadores sobre a existência de outro profissional que manipulasse os fármacos antineoplásicos no hospital avaliado e, a partir das respostas, foi constatado que somente os trabalhadores de enfermagem realizavam esta atividade, que vai desde o preparo dos fármacos até o descarte das excreções dos pacientes.

Já no estudo realizado por ROCHA (2002), em um hospital de médio porte da cidade de Ribeirão Preto, quanto às atividades executadas, foi constatado que, dentre 30 trabalhadores de enfermagem, 5 (16,70%) prepararam e administraram os antineoplásicos. Os enfermeiros eram os únicos elementos da equipe de enfermagem responsáveis pelo preparo de antineoplásicos e realizavam esta tarefa durante os finais de semana, feriados e período noturno, momentos em que o farmacêutico, profissional legalmente autorizado para a execução da atividade, estava ausente. Cabe destacar que a freqüência de manipulação de quimioterápicos antineoplásicos está relacionada à demanda de pacientes, cuja média mensal no hospital era de 20 pacientes/mês.

Na Figura 12 podem ser observadas as diferenças entre as concentrações de ciclofosfamida nas superfícies, antes e depois da limpeza. Com valores de $p$ de 0,2403 (Centro I); 0,9356 (Centro II); 0,9999 (Centro III) e 0,6307 (Centro IV), as diferenças, antes e depois da limpeza, não foram consideradas estatisticamente significativas. Somente o Centro IV relatou no questionário que a limpeza não fora efetuada com pano monouso. Porém, os resultados demonstraram que nenhum dos

centros foi capaz de descontaminar efetivamente as superfícies, implicando em uma contaminação acumulativa em algumas delas, tais como a superfície da cabine e do pavimento (Tabela 20).

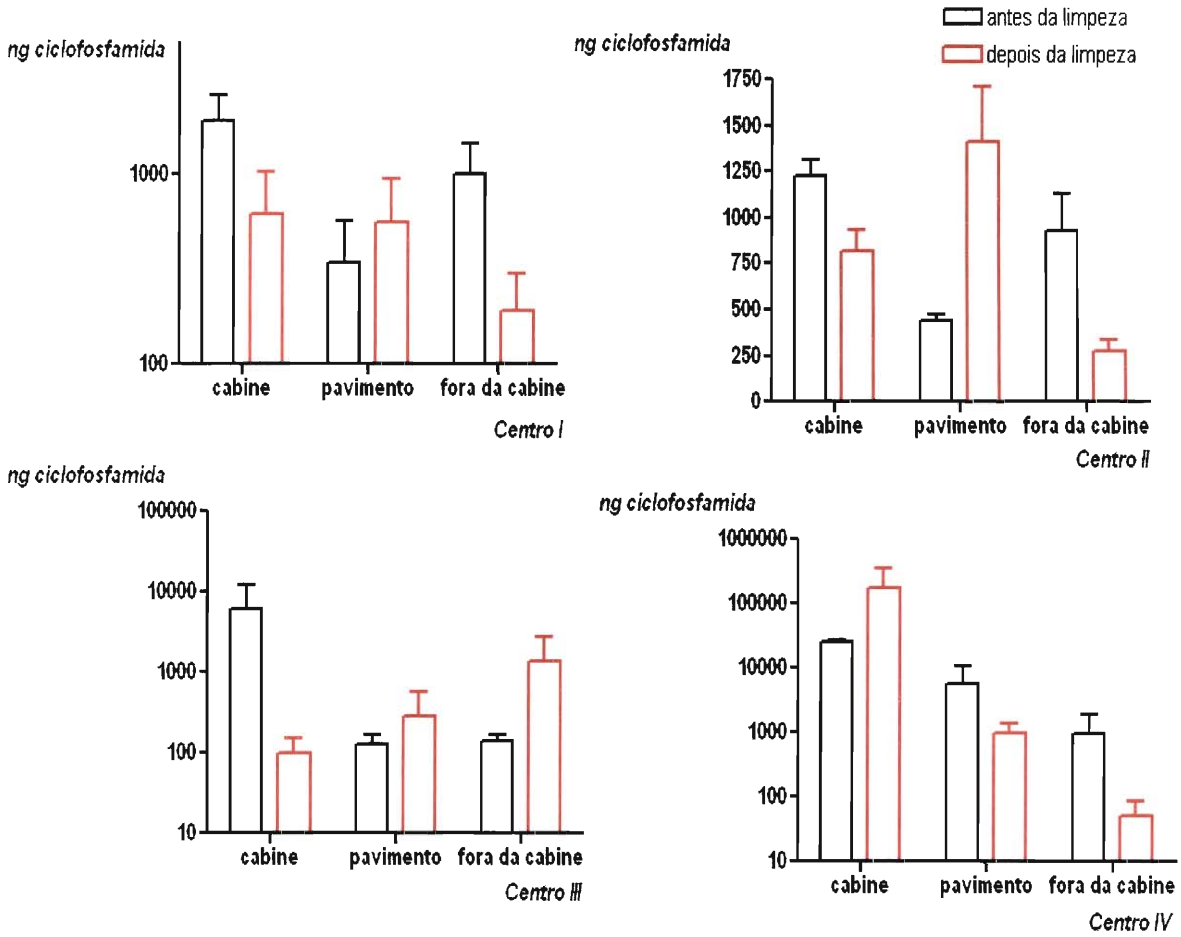



**Figura 12-** Comparação entre as concentrações de ciclofosfamida (ng) encontradas nas superfícies amostradas em quatro centros hospitalares antes e depois da limpeza (**teste Mann-Whitney:** diferença não significativa, $p>0,05$).

SESSINK *et al.* (1992) sugerem que, nas determinações efetuadas em panos utilizados para limpeza de superfícies, tais como cabine e bancadas, e em pares de luvas, os valores dos antineoplásicos podem ser mais elevados do que em relação aos ambientais, determinados no ar que será inalado. Se a limpeza é realizada com procedimentos inadequados há um acúmulo dos fármacos nas superfícies supostamente limpas.

A limpeza dos locais deve ser efetuada a úmido, partindo do local menos contaminado para o mais contaminado. Recomenda-se a utilização de detergente com pH elevado. Os acessórios e o material para a limpeza devem ser utilizados somente nos locais de manipulação e os tecidos devem ser monouso. Os trabalhadores que executam o trabalho de limpeza devem receber treinamento especial (MINOIA & PERBELLINI, 2000).

Para a cabine de segurança, antes de iniciar a manipulação dos antineoplásicos e após o término, deve-se realizar a limpeza com álcool a 70% ou outro antisséptico adequado. ROCHA (2002) observou que durante o preparo de fármacos antineoplásicos, nenhum enfermeiro realizou limpeza da cabine de fluxo laminar após a manipulação de agentes antineoplásicos. Este autor recomenda que seja utilizado álcool 70% para a limpeza da cabine também após o preparo de cada fármaco antineoplásico, se não ocorrido qualquer incidente na manipulação destes agentes, causado, por exemplo, por respingos ou derramamento de drogas; caso isso ocorra, é recomendada a utilização de papéis absorventes para a remoção dos resíduos da droga e, em seguida, deve-se limpar o local com água e detergente.

Comprovando a probabilidade de absorção da ciclosfosfamida pela via cutânea, cita-se o trabalho de SESSINK *et al.* (1992), que obtiveram concentrações em torno de 11 e 21 µg de ciclofosfamida/par de luvas, com valor médio igual a 100 ng/par de luvas. Tal dado é considerado baixo, se comparado àqueles encontrados neste estudo (Tabela 25). PRIANTE *et al.* (1994) sugerem que com a análise de luvas utilizadas pelos trabalhadores pode ser estimada, em termos quantitativos, a exposição cutânea aos FAN.

Os trabalhadores informaram, no questionário, que o dispositivo mais utilizado para sua proteção foram as luvas, concordando om o estudo conduzido por MONTEIRO (2001). Cabe ressaltar que as luvas devem ser de boa qualidade, utilizadas uma sobre a outra e sem talco (COSENDEY, 1994).

**Tabela 25-** Concentração de ciclofosfamida encontrada nas luvas utilizadas pelos trabalhadores e nas bolsas de infusão amostradas nos 4 centros hospitalares

| Luvas (ng) | | Bolsas de infusão ($ng/cm^2$) | |
|---|---|---|---|
| **Centro I** | | | |
| **13/06/2002** | **27/06/2002** | **13/06/2002** | **27/06/2002** |
| 616,0 | 3095,0 | 1,6 | 0,4 |
| 883,0 | 70,0 | 2,5 | 0,5 |
| 397,6 | NQ(1) | 1,9 | 0,3 |
| 3625,7 | NQ(1) | 2,7 | 0,5 |
| | | 2,6 | 0,7 |
| **Centro II** | | | |
| **14/06/2002** | **28/06/2002** | **14/06/2002** | **28/06/2002** |
| 104.353,9 | 5800,0 | 2,6 | 1,1 |
| 1392,7 | interferente(2) | 35,7 | 1,8 |
| 713,1 | NQ(1) | 2,8 | 0,9 |
| 518,9 | 185,0 | 1,6 | 0,8 |
| 931,6 | 170,0 | 1,5 | 1,0 |
| 761,7 | 13390,0 | 2,4 | 0,8 |
| 1271,4 | | 0,9 | |
| **Centro III** | | | |
| **03/07/2002** | **17/07/2003** | **03/07/2002** | **17/07/2003** |
| interferente(3) | interferente(3) | 0,1 | NQ(1) |
| | | 0,3 | 2,1 |
| | | 0,2 | |
| | | 0,3 | |
| **Centro IV** | | | |
| **20/06/2002** | **04/07/2002** | **20/06/2002** | **04/07/2002** |
| 4943,4 | 141186,2 | 1,0 | NQ(1) |
| 10406,4 | 704,6 | 5,7 | NQ(1) |
| 57195,4 | 10131,2 | 533,4 | 68,3 |
| 80,7 | 7608,3 | 18,4 | 274,6 |
| | NQ(1) | 8,6 | 7,6 |
| | | | NQ(1) |
| | | | NQ(1) |
| | | | NQ(1) |

**Notas:** (1) NQ= não quantificado (inferior a 1,0 ng/mL); (2) presença de interferente= luvas com grande quantidade de ifosfamida (padrão interno); (3) interferente= luvas com pico interferente no tempo de retenção do analito e do padrão interno

No presente estudo, em um par de luvas coletadas no Centro IV foram encontradas 141.186 ng de ciclofosfamida. Valor semelhante já havia sido anteriormente quantificado em um par utilizado por um técnico que preparou a ciclofosfamida, em estudo conduzido por SESSINK *et al.*, 1997b. Os autores encontraram um intervalo de 130 a 140.000 ng de ciclofosfamida nas luvas analisadas.

Na investigação conduzida por MINOIA *et al.* (1998) em hospitais italianos (Tabela 7) a determinação de ciclofosfamida na parte interna de luvas forneceu uma positividade de 50 a 100%. Em particular, para o estudo efetuado no hospital A, a concentração de ciclofosfamida na parte interna de luvas variou de 0,633 a 63,4 µg/par. Com relação à monitorização efetuada no hospital B, o intervalo de valores de ciclofosfamida era de 17,5 e 49,5 µg/par, ao passo que na investigação conduzida após 1 ano (Tabela 8) estes mesmos autores encontraram valores mais baixos (de <0,02 a 13,61 µg/par) (MINOIA *et al.*, 1999).

Os resultados encontrados por estes autores, sugerem significativa introdução do fármaco pela via dérmica, quando as luvas utilizadas pelos trabalhadores são de vinil ou de látex, pois foi evidenciado que a ciclofosfamida é permeável às luvas confeccionadas com estes dois tipos de materiais.

Para avaliar o potencial dos fármacos para a contaminação através da via cutânea, neste mesmo estudo, MINOIA *et al.* utilizaram *pads*. Observando a Tabela 6, os valores mais elevados de ciclofosfamida foram verificados entre os trabalhadores envolvidos na preparação do fármaco, com concentrações de 0,02 a 114,0 µg/dm$^2$. Os *pads* situados sob o avental dos trabalhadores resultaram positivos, quando colocados em correspondência aos locais em que foram encontrados os níveis mais elevados de ciclofosfamida. Assim, os autores sugerem que o risco de contaminação através da vestimenta de trabalho é elevado, pois se estas são confeccionadas em algodão, o fármaco pode transpassá-la.

Na Tabela 25 pode ser verificado que os níveis de ciclofosfamida, encontrados em bolsas de infusão coletadas nos 4 centros, foram compreendidos entre não quantificado a 533,4 ng/cm$^2$ (21553 ng). SESSINK *et al.*, no estudo realizado em 1992, relatam um valor igual a 2100 ng de ciclofosfamida encontrado em uma bolsa de infusão.

Na Figura 13 são demonstradas comparações entre as concentrações de ciclofosfamida amostradas na superfície da cabine, nas luvas e nas bolsas de infusão. Em ordem decrescente, estes três tipos de amostras apresentaram os níveis mais elevados do fármaco. Após a aplicação do teste *Kruskal-Wallis*, a

diferença foi estatisticamente significativa somente entre os valores de ciclofosfamida presentes nas amostras coletadas no Centro IV ($p$=0,0248).

Posterior ao teste *Kruskal-Wallis*, o qual apresentou $p$<0,05 para o Centro IV, foi aplicado também o teste *Dunn´s*, para a comparação múltipla entre as medidas observadas. A diferença foi considerada estatisticamente significativa entre os valores de ciclofosfamida encontrados no plano de trabalho da cabine e nas bolsas de infusão ($p$<0,05). Todavia, não foi verificada significância estatística entre as concentrações de ciclofosfamida determinadas no plano de trabalho da cabine e nas luvas e entre os valores encontrados nas bolsas de infusão e nas luvas.

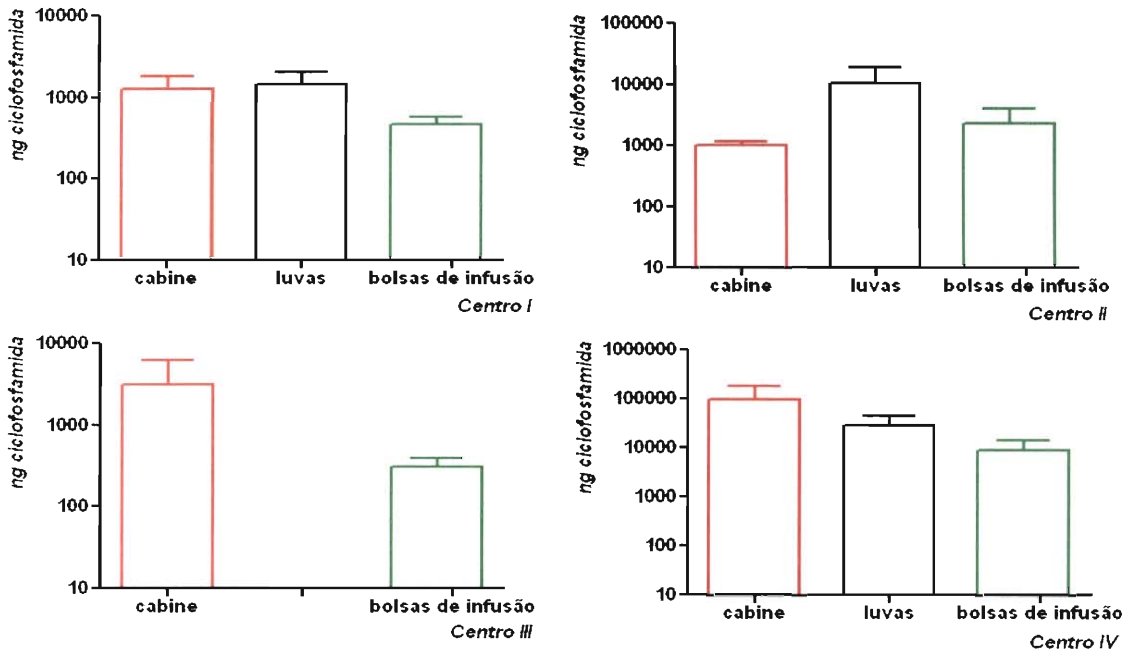



**Figura 13-** Comparação entre as concentrações de ciclofosfamida (ng) encontradas em amostras coletadas na cabine, luvas e bolsas de infusão de quatro centros hospitalares (**teste Kruskal-Wallis**: diferença significativa entre as amostras do Centro IV, $p$=0,0248; **teste Dunn´s**: diferença significativa entre o plano de trabalho da cabine e as bolsas de infusão, $p$<0,05).

Luvas e bolsas de infusão podem ser importantes para a monitorização da exposição dérmica, uma das mais importantes vias de absorção na exposição aos FAN, durante as fases de preparo e administração. As bolsas podem ser

contaminadas pelo contato com luvas utilizadas durante a preparação dos fármacos e são importante fonte de contaminação para os trabalhadores que administram os fármacos e outras pessoas presentes nos locais de administração, já que nos quatro centros avaliados (Tabela 18) e em muitos hospitais o acesso não é restrito.

Quanto ao descarte destes materiais, bem como de agulhas, seringas e excretos de pacientes, pode ser observado na Tabela 18 que todos centros analisados possuíam locais próprios para o acondicionamento e, posteriormente os materiais eram levados à incineração. Todavia, MONTEIRO (2001), constatou, em seu estudo, que na Unidade de Quimioterapia pouco cuidado tem sido destinado quanto à biossegurança no descarte de materiais e manipulação de excretas e roupa de cama utilizadas pelos pacientes. O autor relata que 84% dos trabalhadores indagados responderam que descartavam os materiais em cesto de lixo sem tampa e apenas 1 trabalhador (4%) referiu desprezar os resíduos em cesto de lixo com tampa e trava, exclusivo e identificado de forma visível.

***FASE 2***

A fase 2 do estudo caracterizou-se pela manipulação do fármaco com auxílio do dispositivo Phaseal®- *Carmel Pharma*, também conhecido como sistema fechado, e a coleta das amostras foi efetuada após três meses de adoção deste dispositivo. A tendência atual, nos países desenvolvidos, é utilizar este dispositivo prevenindo assim, a liberação dos fármacos para o ambiente durante a preparação e a administração.

Nesta fase, foram coletadas 33 amostras, sendo 16 amostras de diferentes superfícies, 9 de luvas e 8 de bolsas de infusão, no Centro II. Foi possível quantificar a ciclofosfamida em somente 9 (27,3%) das 33 amostras coletadas, como demonstram as Tabelas 26 e 27. Esta redução na quantidade de amostras quantificadas por este método era esperada, pois de acordo com CONNOR *et al.* (2002) há uma significativa diminuição nos níveis dos fármacos antineoplásicos quando este dispositivo é utilizado.

**Tabela 26**- Concentração de ciclofosfamida em amostras coletadas de diferentes superfícies no Centro II, antes (Fase 1) e após (Fase 2) a utilização do sistema fechado Phaseal®

| | Pavimento adjacente à cabine ($ng/cm^2$) | Plano de trabalho da cabine ($ng/cm^2$) | Maçaneta (ng) | Plano de trabalho externo à cabine ($ng/cm^2$) |
|---|---|---|---|---|
| **Fase 1** | | | | |
| **amostragem 14-06-02** | | | | |
| antes da limpeza | 0,10 | 0,30 | 592,0 | 0,50 |
| depois da limpeza | 0,50 | 0,20 | 1174,0 | 0,40 |
| **amostragem 28-06-02** | | | | |
| antes da limpeza | 0,10 | 0,30 | 135,0 | 0,20 |
| depois da limpeza | 0,30 | 0,20 | 220,0 | 0,10 |
| **Fase 2** | | | | |
| **amostragem 27-09-02** | | | | |
| antes da limpeza | 0,2 | 0,1 | NQ(1) | NQ(1) |
| depois da limpeza | 0,1 | 0,3 | NQ(1) | NQ(1) |
| **amostragem 11-10-02** | | | | |
| antes da limpeza | 0,1 | 0,1 | NQ(1) | NQ(1) |
| depois da limpeza | 0,1 | 0,1 | NQ(1) | NQ(1) |

**Nota**: (1) NQ= inferior a 1,0 ng/mL

**Tabela 27**- Concentração de ciclofosfamida em luvas e bolsas de infusão coletadas no Centro II, antes (Fase 1) e após (Fase 2) a utilização do sistema fechado Phaseal®

| Luvas (ng) | | Bolsas de Infusão ($ng/cm^2$) | |
|---|---|---|---|
| | | **Fase 1** | |
| **14/06/02** | **28/06/02** | **14/06/02** | **28/06/02** |
| 104.353,9 | 5800,0 | 2,6 | 1,1 |
| 1392,7 | 1232,0 | 35,7 | 1,8 |
| 713,1 | NQ | 2,8 | 0,9 |
| 518,9 | 185,0 | 1,6 | 0,8 |
| 931,6 | 170,0 | 1,5 | 1,0 |
| 761,7 | 13390,0 | 2,4 | 0,8 |
| 1271,4 | | 0,9 | |
| | | **Fase 2** | |
| **27/09/02** | **11/10/02** | **27/09/02** | **11/10/02** |
| NQ(1) | NQ(1) | NQ(1) | NQ(1) |
| NQ(1) | NQ(1) | 0,4 | NQ(1) |
| NQ(1) | NQ(1) | NQ(1) | NQ(1 |
| NQ(1) | interferente (2) | NQ(1) | |
| NQ(1) | | NQ(1) | |

**Nota**: (1) NQ= inferior a 1,0 ng/mL; (2) presença de interferente= luvas com grande quantidade de ifosfamida (padrão interno)

No desenvolvimento de seu estudo, CONNOR *et al.* (2002) coletaram amostras de diferentes superfícies antes e após o uso deste sistema e efetuaram a análise em CG-EM-EM, obtendo menor limite de detecção (0,1 ng/mL), em relação ao obtido no presente estudo (0,5 ng/mL). Ainda assim, muitas das amostras, após a utilização do sistema fechado, resultaram não quantificadas.

Após a aplicação do teste *Mann-Whitney* foi encontrado valor de $p$ <0,0001 e a diferença foi considerada estatisticamente significativa entre as concentrações de ciclofosfamida, antes e após o uso do dispositivo, como demonstra a Figura 14.

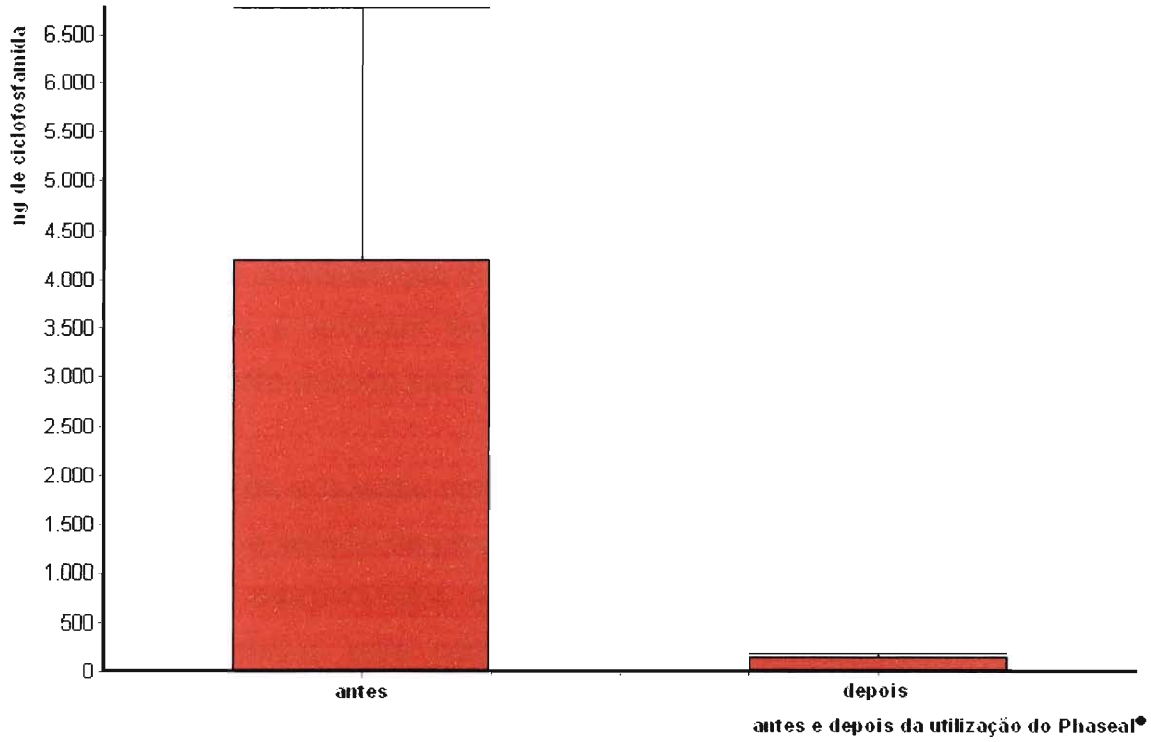



**Figura 14-** Comparação entre as concentrações de ciclofosfamida (ng) nas amostras coletadas no Centro II, antes e depois da utilização do sistema Phaseal® (**teste Mann-Whitney**: diferença significativa, $p$<0,0001).

O dispositivo Phaseal®, em adição ao preparo sob cabine de fluxo laminar vertical e a outras boas práticas de manipulação de fármacos antineoplásicos, podem minimizar os riscos advindos desta perigosa exposição ocupacional e podem ser consideradas efetivas práticas de biossegurança.

Biossegurança pode ser definida como um conjunto de medidas voltadas à prevenção, minimização ou eliminação do risco (ODA, 1999 *apud* MONTEIRO, 2001). A literatura mostra que os fármacos antineoplásicos devem ser manuseados por profissionais capacitados e informados sobre os riscos da atividade que exercem e as recomendações para a correta manipulação devem seguidas.

Os resultados obtidos demonstraram a contaminação de diferentes superfícies e materiais na fase 1 do estudo e a redução desta, na fase 2, quando foi utilizado o sistema fechado Phaseal®. Contudo, alguns valores foram considerados elevados, principalmente aqueles em que a amostragem foi efetuada após a limpeza das superfícies, sugerindo desconhecimento ou negligência dos trabalhadores em relação aos procedimentos corretos de manipulação dos fármacos e efetiva descontaminação dos locais de trabalho.

Apesar dos achados do presente estudo não serem suficientes para delimitar a real dimensão da contaminação do ambiente de trabalho com os FAN, reforçam os achados anteriores e auxiliam estudos futuros, sustentando a possibilidade da utilização do presente método para a monitorização da exposição ocupacional a tais substâncias.

A avaliação da exposição por meio da monitorização ambiental e biológica, a vigilância à saúde, a adoção de programas de informação e treinamento de pessoal e a utilização de equipamentos de proteção coletiva e individual são algumas medidas recomendadas para controlar a exposição e proteger a saúde dos indivíduos que têm contato com os antineoplásicos no ambiente de trabalho.

# *Conclusões e Considerações Finais*

# 10. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados experimentais obtidos no presente trabalho, foi possível concluir que:

- a técnica de extração da ciclofosfamida em fase sólida, por meio da utilização de cartuchos contendo terra diatomácea, mostrou-se segura e eficiente, por reduzir a exposição do analista ao solvente orgânico e proporcionar elevada porcentagem de recuperação do analito;

- o método analítico, validado para a determinação de ciclofosfamida nas amostras coletadas em diversas superfícies, foi considerado linear, preciso e apresentou baixo limite de detecção, o que permitiu segurança analítica nas condições estabelecidas e confiança nos resultados obtidos;

- o método revelou-se eficiente para ser aplicado em situações de exposição ocupacional pois permitiu quantificar amostras com valores acima de 1,0 ng/mL;

- nos locais em que os procedimentos de limpeza não foram suficientes para descontaminar as superfícies, foi verificado um acúmulo da ciclosfamida, implicando em aumento do risco da exposição ocupacional;

- os centros que apresentaram os maiores níveis de ciclofosfamida em luvas utilizadas na preparação apresentaram, conseqüentemente, os maiores níveis do fármaco em bolsas de infusão, constituindo uma possível fonte de exposição para os trabalhadores que administram quimioterápicos;

- o dispositivo de segurança Phaseal®, utilizado no preparo e administração dos fármacos antineoplásicos, mostrou-se eficiente na redução dos níveis de contaminação da ciclofosfamida nas superfícies amostradas.

De acordo com o relatado na literatura, os fármacos antineoplásicos devem ser manipulados por profissionais capacitados e informados sobre os riscos potenciais a que estão expostos e sobre as recomendações a serem seguidas, em todas as fases de contato com estes agentes. Assim, parece pertinente sugerir aos centros hospitalares envolvidos no tratamento de pacientes com câncer que elaborem e

implementem programas de monitorização ambientais e biológicos que visem a preservação da saúde e a integridade dos trabalhadores. Cabe ressaltar, ainda, que o gerenciamento dos resíduos sólidos produzidos é de suma importância, para minimizar e/ou evitar os riscos advindos da utilização dos FAN.

Finalmente, cabe a sugestão de que haja a promoção de cursos de capacitação e recapacitação para os trabalhadores e a admissão de profissionais de nível superior capacitados, como responsáveis pelo preparo e pela administração dos fármacos. Os profissionais de nível médio devem atuar somente como auxiliares. Esta prática oferece maior segurança aos pacientes e é recomendada por leis que regulamentam os exercícios das profissões de Enfermagem e Farmácia, no Brasil. Finalizando, é fundamental que se defina e revise, periodicamente, as normas e os procedimentos sobre o uso dos agentes antineoplásicos em conjunto com os trabalhadores envolvidos direta ou indiretamente nesta exposição.

# *Anexos*

# 11. ANEXOS

## ANEXO I

*Procedimentos preventivos para reduzir a exposição aos fármacos antinoplásicos*

A potencial absorção devido à exposição aos quimioterápicos antineoplásicos pode ser reduzida adotando-se medidas preventivas específicas, tais como:

- centralização da atividade;
- observação das características dos locais em que as atividades são desenvolvidas;
- adoção dos meios de proteção ambiental e individual;
- treinamento dos trabalhadores.

A fim de garantir um adequado sistema de proteção para as pessoas que profissionalmente estão em contato com tais substâncias no ambiente sanitário, é oportuno prever a criação de uma unidade específica de manipulação de quimioterápicos antineoplásicos, responsável pelo ciclo de trabalho, ou seja, preparação, transporte, administração, descarte, eliminação dos excretos contaminados e manutenção dos equipamentos.

A unidade de manipulação de quimioterápicos antineoplásicos deve compreender a unidade de preparação, que deve ser confiada preferencialmente à farmácia ou, em alternativa, aos serviços e divisões de Oncologia Médica e Hematologia. Ainda, a gestão clínica deve ser de exclusiva responsabilidade do médico oncologista e hematologista.

O corpo de trabalhadores da unidade de manipulação de quimioterápicos antineoplásicos deve ser constituído de médicos, farmacêuticos, enfemeiros, técnicos de farmácia ou de laboratório, auxiliares, indivíduos ligados às atividades de manutenção e à limpeza e deve participar de atividades periódicas de formação e informação, devendo estar ligada ao programa de vigilância sanitária.

Na manipulação dos fármacos antineoplásicos deve-se:

- lavar as mãos;
- usar os equipamentos de proteção individual adequados (luvas de látex cirúrgicas ou luvas hipoalergênicas livres de látex, máscara impermeável, protetor de olhos ou de face); após utilizados, devem ser retirados preferivelmente em ambiente limítrofe ao local reservado à preparação; deve ser proibida a utilização da indumentária de proteção fora da zona de trabalho;
- durante as operações de manipulação e no interior dos locais de contato com os fármacos não deve ser permitido beber, comer ou mascar goma, fumar;
- a cabine deve ser lavada com hipoclorito de sódio a 10% no início e no final do trabalho;
- todos os materiais necessários à preparação devem ser posicionados em cabine antes do início do trabalho e as operações de manipulação devem ser realizadas no centro da cabine.
- antes de iniciar a administração deve-se verificar se todo o material necessário para a administração do fármaco está facilmente ao alcance;
- realizar a quimioterapia em ambiente calmo;
- explicar os potenciais efeitos colaterais ao paciente e aos seus familiares e descartar todo o equipamento utilizado e a quimioterapia em local designado para tal.

O transporte dos fármacos deve ser efetuado com a máxima segurança. Devem estar contidos dentro de um recipiente de transporte, que permita controlar possíveis acidentes, e que não permitam o vazamento do fármaco do frasco.

Toda contaminação acidental deve ser assinalada pelos responsáveis pelo serviço de prevenção e proteção e pelo serviço de Vigilância Sanitária.

Em caso de contato acidental com a pele, deve-se lavar abundantemente a parte contaminada utilizando água e sabão e consultar um médico.

Em caso de contaminação dos olhos é necessário lavá-los cuidadosamente com água ou solução fisiológica, mediante a utilização do lava-olhos, por pelo menos 15 minutos.

# ANEXO II

## *Questionário para avaliar a exposição aos fármacos antineoplásicos*

*A= AMBIENTE DE TRABALHO*

**1. Locais de preparação**

Denominação do local:
Departamento a que pertence:
Localização no âmbito da estrutura:
1.1 Descrição geral
1.1.1 Uso exclusivo para preparação: sim___ não___
1.1.2 Limitação de acesso: sim___ não___
1.1.3 Presença de sinal de acesso exclusivo: sim___ não___
1.1.4 Existência de percurso obrigatório: sim___ não___
1.1.5 Existência de vestiário: sim___ não___
1.1.6 Presença de pia: sim___ não___
1.1.7 Presença de lava-olhos: sim___ não___
1.1.8 Presença de chuveiro: sim___ não___
1.1.9 Presença de janelas: sim___ não___
1.2 Pavimento
1.2.1 Impermeável: sim___ não___
1.2.2 Uniforme: sim___ não___
1.2.3 Íntegro: sim___ não___
1.3 Parede
1.3.1 Lavável: sim___ não___
1.3.2 Uniforme: sim___ não___
1.3.3 Íntegra: sim___ não___
1.4 Aeração e ventilação
1.4.1 Condicionamento de ar centralizado: sim___ não___
1.4.2 Condicionamento de ar específico para o local: sim___ não___
1.5 Plano de trabalho utilizado para a preparação
1.5.1 Presença de cabine: sim___ não___ Quantas?___
1.5.1.1 Presença de cabine aspirante: sim___ não___ Quantas?___
1.5.1.2 Presença de cabine química: sim___ não___ Quantas?___
1.5.1.3 Presença de cabine de fluxo laminar vertical: sim___ não___ Quantas?___
1.5.1.4 Presença de cabine de fluxo laminar horizontal: sim___ não___ Quantas?___
1.5.1.5 Presença de cabine com descarte : externo___ interno___ (recirculação total___pacial___)
1.5.1.6 Presença de cabine com filtro para área de saída: sim___ não___ Tipo_____
1.5.1.7 Presença de cabine com filtro para área em entrada: sim___ não___ Tipo_____
1.5.1.8 Substituição periódica do filtro: sim___ não___
1.5.1.9 Plano da cabine coberto com tela: sim___ não___
1.5.2 Outro plano de preparação que não seja a cabine: sim___ não___
1.5.3 Telas de cobertura dos planos: sim___ não___
1.5.3.1 Material :
1.5.3.2 Troca da tela de cobertura:
1.5.4 Lavagem dos planos de trabalho:
1.5.4.1 Freqüência:
1.6 Movimentação dos fármacos
1.6.1 Local de estocagem dos fármacos (especificar se é um local só para antineoplásicos, se em temperatura ambiente ou refrigerado, se fechado à chave, etc.):_____
1.6.2 Destino dos fármacos já preparados:
1.7 Tipo de sistema de comunicação: _____

1.8 Limpeza
1.8.1 Efetuada por pessoal: interno___ externo___
1.8.1.1 Se externo, informações sobre o risco: sim___ não___
1.8.2 Freqüência:
1.8.3 Detergente:

**2. Locais de administração**

Denominação:
Departamento a que pertence :
Localização no âmbito da estrutura:
2.1 Descrição geral
2.1.1 Uso exclusivo para administração: sim___ não___
2.1.2 Limitação de acesso: sim___ não___
2.1.3 Presença de sinal de acesso exclusivo: sim___ não___
2.1.4 Presença de pia: sim___ não___
2.1.5 Presença de lava-olhos: sim___ não___
2.1.6 Serviço de higiene exclusivo para pacientes: sim___ não___
2.2 Pavimento
2.2.1 Impermeável: sim___ não___
2.2.2 Uniforme: sim___ não___
2.2.3 Íntegro: sim___ não___
2.3 Parede
2.3.1 Lavável: sim___ não___
2.3.2 Uniforme: sim___ não___
2.3.3 Íntegra: sim___ não___
2.4 Tipo de plano de trabalho:_____
2.4.1 Telas de cobertura dos planos: sim___ não___
2.4.1.1 Material :
2.4.1.2 Troca da tela de cobertura:
2.4.2 Lavagem dos planos de trabalho:
2.4.2.1 Freqüência:
2.4.2.2 Detergente utilizado:
2.5 Modalidade de administração:_____
2.5.1 Uso de tela sob o braço: sim___ não___Tipo/ material de confecção:_____
2.5.2 Freqüência de troca do tela:
2.6 Tipo de sistema de comunicação: _____
2.7 Limpeza
2.7.1 Efetuada por pessoal: interno___ externo___
2.7.1.1 Se externo, informações sobre o risco: sim___ não___
2.7.2 Freqüência:
2.7.3 Detergente:

**3. Locais de internação**

Denominação:
Departamento a que pertence :
Localização no âmbito da estrutura:
3.1 Espaço exclusivo para pacientes tratados: sim___ não___
3.2 Serviço de higiene exclusivo para pacientes: sim___ não___
3.3 Possibilidade de contaminação de pessoal não informado: sim___ não___
3.4 Pavimento
3.4.1 Impermeável: sim___ não___
3.4.2 Uniforme: sim___ não___
3.4.3 Íntegro: sim___ não___
3.5 Parede
3.5.1 Lavável: sim___ não___

3.5.2 Uniforme: sim___ não___
3.5.3 Íntegra: sim___ não___
3.6 Limpeza
3.6.1 Efetuada por pessoal: interno___ externo___
3.6.1.1 Se externo, informações sobre o risco: sim___ não___
3.6.2 Freqüência:
3.6.3 Detergente:

*B- FÁRMACOS UTILIZADOS*

**1. Registrar o tipo e a quantidade de fármacos utilizados por um período de ao menos um mês**

| Fármaco (nome comercial) | Dosagem (mg) | Número de preparações | Quantidade total manipulada (mg) |
|---|---|---|---|
| | | | |

**2. Uso de protocolo à altas doses**: sim___ não___

*C-PESSOAL*

**1. Número de pessoas que trabalham na preparação e/ou administração dos fármacos antineoplásicos**:_____

**2. Comportamento**

2.1 Hábito de fumar durante o trabalho : sim___ não___
2.1.1 Hábito de fumar nos locais de risco : sim___ não___
2.1.2 Hábito de fumar sem ter lavado as mãos : sim___ não___
2.2 Uso de cosméticos durante o trabalho: sim___ não___
2.3 Consumo de bebidas e alimentos nos locais de risco: sim___ não___
2.3.1 Uso de goma de mascar durante o trabalho: sim___ não___
2.4 Freqüência de lavagem das mãos:_____
2.4.1 Detergente utilizado para lavagem das mãos:
2.4.2 Uso de esponga para lavagem das mãos: sim___ não___

**3. Equipamentos de proteção individual (EPI)**

Tipos/ Frequência de utilização/ Frequência de troca

*D-DESCARTE*

**1. Destino do material contaminado monouso**

1.1 Seringa/agulha
1.2 Frascos de fármacos
1.3 Frasco
1.4 Gaze
1.5 Tela
1.6 EPI e avental
1.7 Material de limpeza
1.8 Outros materiais monouso

**2. Destino do material contaminado reutilizável**

2.1 Vestimentas de trabalho
2.2 EPI
2.3 Material de limpeza

2.4 Telas
2.5 Roupas dos pacientes

**3. Movimentação do material contaminado**

3.1 Estocagem em local próprio: sim___ não___
3.2 Percurso preferencial: sim___ não___
3.3 Recipientes sigilados: sim___ não___
**4. Dejetos dos pacientes**
4.1 Coleta e inativação com hipoclorito: sim___ não___
**5. A coleta do material é efetuada por pessoal**: externo____ interno___
5.1 Se externo, informações sobre os riscos: sim___ não___

# *Referências Bibliográficas*

# 12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS(*)

ALESSIO, L.; APOSTOLI, P.; DRAICCHIO, F.; FORNI, A.; LUCCHINI, R.; MERLER, E.; PALAZZO, S.; SCARSELLI, R.; SOSSAI, D. Prevenzione dei rischi da esposizione professionale a chemioterapici antiblastici. Documento di consenso. **Med. Lav.**, Fidenza, v.87, n.3, p.194-200, 1996.

ANDERSON, D.; BISHOP, J.B.; GARNER, R.C.; OSTROSKY-WEGMAN, P.; SELBY, P.B. Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potencial germ cell risks. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.330, p.115-181, 1995.

ANDERSON, R.W.; PUCKETT Jr., W.H., DANA, W.J.; NGUYEN, T.V.; THEISS, J.C.; MATNEY, T.S. Risk of handling injectable antineoplastic drugs. **Am. J. Hosp. Pharm.**, Washington, v.39, p.1881-1887, 1982.

APOSTOLI, P.; ALESSANDRO, G.; ALESSIO, L. Rischi per la salute conseguenti all'uso do composti chimici nei laboratori biomedici. In: CONGRESSO NAZIONALE DI MEDICINA PREVENTIVA DEI LAVORATORI DELLA SANITÀ, 2, Brescia, 1994. **Atti**. p.120-140.

APOSTOLI, P.; CLONFERO, E.; COTTICA, D.; BERGAMASCHI, A.; MOCCALDI, R.; DRAICCHIO, F.; TRANFO, G.; SANNOLO, N.; SOSSAI, D. Criteri e metodi per lo studio dell'esposizione occupazionale a chemioterapici antiblastici. **Med. Lav.**, Fidenza, v.87, n.3, p.230-254, 1996.

APOSTOLI, P.; FACCO, P.; ALESSIO, L. **Convenzione ISPESL pelo studio**: Messa a punto di una lista di controllo per valutare l'esposizione degli adetti alla preparazione dei chemioterapici antiblastici. Brescia: Università degli Studi di Brescia, 2001. 48 p. [Folheto].

BAKER, E.S.; CONNOR, T.H. Monitoring occupational exposure to cancer chemoterapy drugs. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, Bethesda, v.53, n.22, p.2713-1723, 1996.

(*) De acordo com as normas preconizadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT)

BERTRAM, J.S. The molecular biology of cancer. **Mol. Aspects Med.**, Oxford, v.21, p.167-223, 2001.

BORDONI, S.; COLOMBO, E.; MONINA, G.; GHIRINGHELLI, M.; RUFFATO, G. Manipolazione dei farmaci citostatici: percorso preventivo e attuali procedure di tutela del personale paramedico in un USSL. In: CONGRESSO NAZIONALE DI MEDICINA PREVENTIVA DEI LAVORATORI DELLA SANITÀ, 2, Brescia, 1994. **Atti**. p.354-356.

BOS, R.P.; LEENAARS, A.O.; THEUWS, J.L.G.; HENDERSON, P.TH. Mutagenicity of urine from nurses handling cytostatics drugs; influence of smooking. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, Berlin, v.50, p.359-369, 1982.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. **Norma Regulamentadora 32**. Segurança e saúde no trabalho em estabelecimento de assistência à saúde. Portaria 393/96, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria 3535**. Estabelece critérios para cadastramento de centros de atendimento em oncologia. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de setembro de 1998.

BRASIL. Conselho Federal de Enfermagem. **Resolução 210/1998**. Disponível em: http://www.cofen.org.br. Acesso em: 20 de maio de 2003a.

BRASIL. Conselho Federal de Farmácia. **Resolução 288/1996**. Disponível em: http://www.cff.org.br. Acesso em: 20 de maio de 2003b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Resolução 899, de 29/ 05/ 2003**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm. Acesso em: 01 de agosto de 2003c.

BURGAZ, S.; KARAHALIL, B.; BAYRAK, P.; TASKIN, L.; YAVUZASLAN, F.; BOKESOY, I.; ANZION, R.B.M.; BOS, R.P.; PLATIN, N. Urinary cyclophosphamide excretion and micronuclei frequencies in peripheral lymphocytes and in exfoliated buccal epithelial cells of nurses handling antineoplastics. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.439, p.97-104, 1999.

CAVALCANTI Jr., G.B.; KLUMB, C.E.; MAIA, R.C. p53 e as hemopatias malignas. **Rev. Bras. Cancerol.**, Rio de Janeiro, v.48, n.3, p.419-427, 2002.

CESANA, G.; ARDUCA, A.; LATOCCA, R.; SIRTORI, G. Valutazione del rischio e sorveglianza sanitaria nella realtà ospedaliera: revisione critica e contributi dall'esperienza condotta presso l'ospedale "S. Gerardo dei tintori" a Monza. **Med. Lav.**, Fidenza, v.89, n.1, p.23-46, 1998.

CHASIN, A.A.M.; NASCIMENTO, E.S.; RIBEIRO-NETO, L.M.; SIQUEIRA, M.E.P.B.; ANDRAUS, M.H.; SALVADORI, M.C.; FERNÍCOLA, N.A.G., GORNI, R.; SALCEDO, S. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. **Rev. Bras. Toxicol.**, São Paulo, v.11, n.1, p.1-6, 1998.

CONNOR, T.H.; ANDERSON, R.W.; SESSINK, P.J.; BROADFIELD, L.; POWER, L.A. Surface contamination with antineoplastic agents in six cancer treatment centers in Canada and United States. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, Bethesda, v.56, p.1427-1432, 1999.

CONNOR, T.H.; SHULTS, M.; FRASER, M.P. Determination of the vaporization of solutions of mutagenic antineoplastic agents at 23 and 37°C using a desiccator technique. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.470, p.85-92, 2000.

CONNOR, T.H.O.; ANDERSON, R.W.O.; SESSINK, P.J.O.; SPIVEY, S.M Effectiveness of a closed-system device in containing surface contamination with cyclophosphamide and ifosfamide in an i.v. admixture area. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, Bethesda, v.59, n.1, p.68-72, 2002.

COSENDEY, M.A.E. **Avaliação da segurança do profissional na preparação e administração de medicamentos antineoplásicos parenterais nos hospitais públicos do estado do Rio de Janeiro**: Rio de Janeiro, 1994. 125p. Dissertação de mestrado- Faculdade de Farmácia- UFRJ.

CUNNINGHAM, A.R.; ROSENKRANZ, H.S.; ZHANG, Y.P.; KLOPMAN, G. Identification of "genotoxic" and "non-genotoxic" alerts for cancer in mice: the carcinogenic potency database. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.398, p.1-17, 1998.

CUSIDÒ, L.; PUJOL, R.; EGOZCUE, J.O.; GARCÍA, M. Cyclophosphamide-induced synaptonemal complex damage during meiotic prophase of female *Rattus norvegicus*. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.329, p.131-141, 1995.

DEL GAUDIO, D.; MENONNA-QUINN, D. Chemoterapy: potencial occupational hazards. **Am. J. Nurs.**, New York, v.98, n.11, p.59-65, 1998.

DEMENT, J.M.; CROMER, J.R. Cancer and reproductive risks among chemists and laboratory workers: a review. **Appl. Occup. Environ. Hyg.**, Basingstoke, v.7, n.2, p.120-126, 1992.

DeWERK NEAL, A.; WADDEN, R.A.; CHIOU, W.L. Exposure of hospital workers to airborne antineoplastic agents. **Am. J. Hosp. Pharm.**, Washington, v.40, p.597-601, 1983.

ENSSLIN, A.S.; STOLL, Y.; PETHRAN, A.; PFALLER, A.; ROMMELT, H.; FRUHMANN, G. Biological monitoring of cyclophosphamide and ifosfamide in urine of hospital personnel occupationally exposed to cytostatic drugs. **Occup. Environ. Med.**, London, v.51, p.229-233, 1994.

EVELO, C.T.A.; BOS, R.P.; PETERS, J.G.P.; HENDERSON, P.TH. Urinary cyclophosphamide assay as a method for biological monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, Berlin, v.58, p.151-155, 1986.

FALCK, K.; GROHN, P.; SORSA, M.; VAINIO, H.; HEINONEN, E.; HOLSTI, L.R. Mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. **Lancet**, London, p.1250-1251, 1979.

FERGUSON, L.R.; PEARSON, A.E. The clinical use of mutagenic anticancer drugs. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.355, p.1-12, 1996.

FLORIDIA, L.; PIETROPAOLO, A.M.; TAVAZZANI, M.; RUBINO, F.M.; COLOMBI, A. High-performance liquid chromatography of methotrexate for environmental monitoring of surface contamination in hospital departments and assessment of occupational exposure. **J. Chromatogr. B, Biomed. Appl.**, Amsterdam, v.726, n.1/2, p.95-103, 1999a.

FLORIDIA, L.; PIETROPAOLO, A.M.; TAVAZZANI, M.; RUBINO, F.M.; COLOMBI, A. Measurement of surface contamination from nucleoside analogue antineoplastic drug by high-performance liquid chromatography in occupational hygiene studies of oncologic hospital departments. **J. Chromatogr. B, Biomed. Appl.**, Amsterdam, v.724, p.325-334, 1999b.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Drug Evaluation and Research. **Q2B validation of analytical procedures: methodology**. Rockville: FDA, 1996. 10 p.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Drug Evaluation and Research. **Bioanalytical methods validation for human studies**: guidance for industry. Rockville: FDA, 1998.13 p.

FORNI, A. Rischi chimici genotossici per il personale ospedaliero. In: CONGRESSO NAZIONALE DI MEDICINA PREVENTIVA DEI LAVORATORI DELLA SANITÀ, 2, Brescia, 1994. **Atti.** p.178-192.

FORNI, A.; ALESSIO, L.; CORTONA, G.; ERBA, P.; FELTRIN, G.; PESATORI, A. Soveglianza sanitaria del personale che manipola antiblastici. **Med. Lav.**, Milano, v.87, n.3, p.265-267, 1996a.

FORNI, A.; BONATTI, S.; MERLER, E. Indicatori citogenetici di genotossicità in soggetti professionalmente esposti a chemioterapici antiblastici. **Med. Lav.**, Milano, v.87, n.3, p.222-229, 1996b.

FUCHS, J.; HENGSTLER, J.G.; JUNG, D.; HILTL, G.; KONIETZKO, J.; OESCH, F. DNA damage in nurses handling antineoplastic agents. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.342, p.17-23, 1995.

FUCIC, A.; JAZBEC, A.; MIJIC, A.; SESO-SIMIC, D.; TOMEK, R. Cytogenetic consequences after occupational exposure to antineoplastic drugs. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.416, p.59-66, 1998.

GARATTINI, S.; LA VECCHIA, C. Perspectives in cancer chemotherapy. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v.37, suppl.8, p.S128-S147, 2001.

GREER, M. Reduced-dose cyclophosphamide lowers mobilization risks. **Blood Wkly**, Atlanta, v.12, p.3, 2002.

GUEDES, M. H. A. **Condições de manuseio, saúde e segurança dos trabalhadores com antineoplásicos em hospitais do Distrito Federal.** Brasília, 1998. 132p. Dissertação de Mestrado- Ciências da Saúde- Universidade de Brasília.

HALL, A.; HARRINGTON, J.M.; AW, T.-C. Mortality study of british pathologists. **Am. J. Ind. Med.**, New York, v.20, p.83-89, 1991.

HANSEN, T.B.; WADDEN, R.A. Sample loss during measurement of airborne antineoplastic agents. **Am. Ind. Hyg. Assoc. J.**, Akron, v.49, n.2, p.58-60, 1988.

HARRINGTON, J.M.; DOAKES, D. Mortality study of british pathologists 1974-80. **Br. J. Ind. Med.**, London, v.41, p.188-191, 1984.

HARRISON, B.R. Exposure to hazardous drugs: time to reevaluate your program? **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, Bethesda, v.56, n.14, p.1403, 1999.

HASSAN, M.; SVENSSON, U.S.H.; LJUNGMAN, P.; BJORKSTRAND, B.; OLSSON, H.; BIELENSTEIN, M.; ABDEL-REHIM, M.; NILSSON, C.; JOHANSSON, M.; KARLSSON, M.O. A mechanism-based pharmacokinetic-enzyme model for cyclophosphamide autoinduction in breast cancer patients. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, Oxford, v.48, p.669-677, 1999.

HESSEL, H.; RADON, K.; PETHRAN, A.; MAISCH, B.; GROBMAIR, S.; SAUTTER, I.; FRUHMANN, G. The genotoxic risk of hospital, pharmacy and medical personnel occupationally exposed to cytostatic drugs: evaluation by the micronucleus assay. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.497, p.101-109, 2001.

HIRST, M.; MILLS, D.G.; TSE, S.; LEVIN, L. Occupational exposure to cyclophosphamide. **Lancet**, London, v.28, p.186-188, 1984.

HIRST, M.; TSE, S.; MILLS, D.G.; LEVINE, L. Caution handling antineoplastic drugs. **New Engl. J. Med.**, Boston, v.309, p.188-189, 1993.

HOAR, S.K.; PELL, S. A retrospective cohort study of mortality and cancer incidence among chemists. **J. Occup. Med.**, Chicago, v.23, p.485-494, 1981.

HORNUNG, R.W; REED, L.D. Estimation of average concentration in the presence of non-detectable values. **Appl. Occup. Environ. Hyg.,** Basingstoke, v.5, p.46-51, 1990.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. O que é câncer? Disponível em: http://www.inca.gov.br/cancer. Acesso em: 20 jun. 2003.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans**: some antineoplastic and immunosopressive agents. Lyon: IARC, 1981. v.26.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Carcinogenicity of alkilating cytostatic drugs**. Lyon: IARC, 1986. (Scientific Publications, n.78).

JACKSON, M.A.; STACK, H.F.; WATERS, M.D. Genetic activity profiles of anticancer drugs. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.355, p.171-208, 1996.

JALOSZYNSKI, P.; KUJAWSKI, M.; WASORVICZ, M.; SZULE, R.; SZYFTER, K. Genotoxicity of inhalation anesthetics halothane and isoflurane in human lymphocytes studied in vitro using the comet assay. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.439, p.199-206, 1999.

KESHAVA, N.; ONG, T.-M. Occupational exposure to genotoxic agents. **Mutat. Res., Rev. Mutat. Res.**, Amsterdam, v.437, n.2, p.175-194, 1999.

KOROLKOVAS, A.; KOROLKOVAS, F.F.A.C.; CUNHA, B.C.A. **Dicionário terapêutico Guanabara**: 2002/2003. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

KOUROUKIS, C.T.; BROWMAN, G.P.; ESMAIL, R.; MEYER, R.M. Chemoterapy for older patients with newly diagnosed, advanced- stage, aggressive- histology non-Hodgkin lymphoma: a systematic review. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v.136, p.144-152, 2002.

KROMHOUT, H.; HOEK, F.; UITTERHOEVE, R.; HUIJBERS, R.; OVERMARS, R.F.; ANZION, R.; VERMEULEN, R. Postulating a dermal pathway for exposure to antineoplastic drugs among hospital workers: applying a conceptual model to the results of three workplace surveys. **Ann. Occup. Hyg.**, Oxford, v.44, n.7, p.551-560, 2000.

KUMMERER, K.; AL-AHMAD, A.; BERTRAM, B.; WIEBLER, M. Biodegradability of antineoplastic compounds in screening tests: influence of glucosidation and of stereochemistry. **Chemosphere**, Oxford, v.40, p.767-773, 2000.

LARSON, R.R.; KHAZAELI, M.B.; DILON, H.K. Monitoring method for surface contamination caused by selected antineoplastic agents. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, Bethesda, v.59, n.3, p.270-277, 2002.

LUCCOLI, L.; VERGNANO, P.; FERRARINI, A.; COSCIA, G.C. Esperienze in tema di sorveglianza sanitaria in esposti a farmaci antineoplastici. In: CONGRESSO NAZIONALE DI MEDICINA PREVENTIVA DEI LAVORATORI DELLA SANITÀ, 2, Brescia, 1994. **Atti**. p.358-361.

MACHADO-SANTELLI, G.M. Mutagênese e carcinogênese. In: OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p.77-89.

MAHER, K.V.; DEFONSO, L.R. A historical cohort study of mortality among chemical researchers. **Arch. Environ. Health**, Washington, v.41, p.109-116, 1986.

MALUF, S.W.; ERDTMANN, B. Follow-up study of the genetic damage in lymphocytes of pharmacists and nurses handling antineoplastic drugs evaluated by cytokinesis-block micronuclei analysis and single cell gel electrophoresis assay. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.471, p.21-27, 2000.

McDEVITT, J.J.; LEES, P.S.J.; McDIARMID, M.A. Exposure of hospital pharmacists and nurses to antineoplastic agents. **J. Occup. Med.**, Chicago, v.35, n.1, p.57-60, 1993.

MERLER, E.; VILLA, L.; LUCCHINI, R. Effetti patologici causati da chemioterapici antiblastici nei lavoratori addetti alla loro produzione o somministrazione. **Med. Lav.**, Fidenza, v.87, n.3, p.207-221, 1996.

MINOIA, C.; PERBELLINI, L. **Monitoraggio ambientale e biologico dell'esposizione professionale a xenobiotici**: chemoterapici antiblastici. Milano: Morgan, 2000. v.3, 265p.

MINOIA, C.; TURCI, R.; SOTTANI, C.; ANGELERI, S.; MICOLI, G.; FIORENTINO, M.L. Monitoraggio ambientale e biologico nell'esposizione professionale a chemioterapici antiblastici. In: CONVEGNO NAZIONALE "PROGRESSI NELLA VALUTAZIONE DEL RISCO ESPOSITIVO A CHEMIOTERAPICI ANTIBLASTICI", Pavia, 1999. **Atti**.

MINOIA, C.; TURCI, R.; SOTTANI, C.; SCHIAVI, A.; PERBELLINI, L.; ANGELERI, S.; DRAICCHIO, F.; APOSTOLI, P. Application of high-performance liquid chromatography/ tandem mass spectrometry in the environmental and biological monitoring of health care personnel occupationally exposed to cyclophosphamide and ifosfamide. **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, Bognor Regis, v.12, p.1485-1493, 1998.

MONTEIRO, A.B.C. **Biossegurança no preparo, administração e descarte de agentes antineoplásicos injetáveis pela equipe de enfermagem**: Rio de Janeiro. Ribeirão Preto, 2001. 142p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Enfermagem de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

OHTA, I.; GORAI, I.; MIYAMOTO, Y.; YANG, J.; ZHENG, J.H.; KAWATA, N.; HIRAHARA, F.; SHIROTAKE, S. Cyclophosphamide and 5-fluorouracila act synergistically in ovarian clear cell adenocarcinoma cells. **Cancer Lett.**, Shannon, v.162, p.39-48, 2001.

OLIN, G.R.; AHLBOM, A. The cancer mortality among swedish chemists graduated during three decades. **Environ. Res.**, Orlando, v.22, p.154-161, 1980.

PALAZZO, S.; BERNARDO, G.; DRAICCHIO, F.; LUCCHINI, R.; MERLANO, M.; MINGUZZI, M.; MOLINARO, V.; SCANNI, A.; SOSSAI, D.; VILLA, L. Linee guida per la tutela della salute e per la sicurezza dei lavoratori esposti a chemioterapici antiblastici. **Med. Lav.**, Fidenza, v.87, n.3, p.255-264, 1996.

PLEVEN, C.; AUDRAN, R.; FALCY, M.; EFTHYMIOU, M.-L.; PHILBERT, M. Glioblastomes et mutagenése chimique dans les laboratoires de biologie. **Arch. Mal. Prof.**, Paris, v.44, p.411-418, 1983.

PRIANTE, E.; ALESSANDRO, G.; CLONFERO, E. Esposizione dei lavoratori ospedalieri a farmaci citostatici. In: CONGRESSO NAZIONALE DI MEDICINA

PREVENTIVA DEI LAVORATORI DELLA SANITÀ, 2, Brescia, 1994. **Atti**. p.156-167.

PYY, L.; SORSA, M.; HAKALA, E. Ambient monitoring of cyclophosphamide in manufacture and hospitals. **Am. Ind. Hyg. Assoc. J.**, Akron, v.49, p.314-317, 1988.

RICHARDSON, M.L.; BOWRON, J.M. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. **J. Pharm. Pharmacol.**, Wallingford, v.37, p.1-12, 1985.

ROCHA, F.R.L. **Perigos potenciais a que estão expostos os trabalhadores de enfermagem na manipulação de quimioterápicos antineoplásicos: conhecê-los para preveni-los.** Ribeirão Preto, 2002. 93p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Enfermagem de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

SANNOLO, N.; MIRAGLIA, N.; BIGLIETTO, M.; ACAMPORA, A.; MALORNI, A. Determination of cyclophosphamide and ifosphamide in urine at trace levels by gas chromatography/tandem mass spectrometry. **J. Mass Spectrom.**, Bognor Regis, v.34, p.845-849, 1999.

SCHMAUS, G.; SCHIERL, R.; FUNCK, S. Monitoring surface contamination by antineoplastic drugs using gas chromatography-mass spectrometry and voltammetry. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, Bethesda, v.59, n.10, p.956-961, 2002.

SELEVAN, S.G.; LINDBOHM, M.-L.; SCI, C.P.; HORNUNG, R.W.; HEMMINK, K. A study of occupational exposure to antineoplastic drugs and fetal loss in nurses. **New Engl. J. Med.**, Boston, v.313, n.7, p.1173-1178, 1985.

SESSINK, P.J.M.; BOER, K.A.; SCHEEFHALS, A.P.H.; ANZION, R.B.M.; BOS, R.P. Occupational exposure to antineoplastic agents at several departments in a hospital. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, Berlin, v.64, p.105-112, 1992.

SESSINK, P.J.M.; ROOS, J.H.C.; PIERIK, F.H; ANZION, R.B.M.; BOS, R.P. Occupational exposure of animal caretakers to cyclophosphamide. **J. Occup. Med.**, Chicago, v.35, p.47-52, 1993a.

SESSINK, P.J.M.; SCHOLTES, M.M.; ANZION, R.B.M.; BOS, R.P. Determination of cyclophosphamide in urine by gas chromatography-mass spectrometry. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.616, p.333-337, 1993b.

SESSINK, P.J.M.; VAN DE KERKHOLF, M.C.A. Environmental contamination and assessment of exposure to antineoplastic agents by determination of cyclophosphamide in urine of exposed pharmacy technicians: is skin absorption an important exposure route? **Arch. Environ. Health**, Washington, v.49, p.165-169, 1994a.

SESSINK, P.J.M.; SCHOLTES, M.M.; ANZION, R.B.M.; BOS, R.P. Assesssment of occupational exposure of pharmaceutical plant workers to 5-fluoruracil. Determination of α-Fluoro-β-alanine in urine. **J. Occup. Med.**, Chicago, v.36, p.79-83, 1994b.

SESSINK, P.J.M.; KROESE, E.D.; VAN KRANEN, H.J.; BOS, R.P. Cancer risk assessment for health care workers occupationally exposed to cyclophosphamide. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, Berlin, v.67, p.317-323, 1995a.

SESSINK, P.J.M.; VAES, P.H.H; BROEK van den; NOORDHOEK, J.; BOS, R.P. Determination of cyclophosphamide metabolites by gas chromatography and thermionic specific detection. Interindividual differences in hepatic biotransformation of cyclophosphamide in man in vitro. **J. Chromatogr. B, Biomed. Appl.**, Amsterdam, v.673, p.205-212, 1995b.

SESSINK, P.J.M.; VAES W.H.J.; VAN DEN BROEK, P.H.H.; DE ROOS, J.H.C.; NOORDHOEK, J.; BOS, R.P. Influence of Aroclor 1254, phenobarbital, β-naphthoflavone and ethanol pretreatment on the biotransformation of cyclophosphamide in male and female rats. **Toxicology**, Oxford, v.112, p.141-150, 1996.

SESSINK, P.J.M.; VERPLANKE, A.J.W.; HERBER, R.F.M.; BOS, R.P Occupational exposure to antineoplastic agents and parameters for renal dysfunction. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, Berlin, v.69, p.215-218, 1997a.

SESSINK, P.J.M.; WITTENHORST, B.C.J.; ANZION, R.B.M.; BOS, R.P. Exposure of pharmacy technicians to antineoplastic agents: reevaluation after additional protective measures. **Arch. Environ. Health**, Washington, v.52, n.3, p.240-244, 1997b.

SESSINK, P.J.M.; BOS, R.P. Drug hazardous to healthcare workers: evaluation of methods for monitoring occupational exposure to cytostatic drugs. **Drug Saf.**, Auckland, v.20, n.4, p.347-359, 1999.

SORSA, M.; PYY, L.; SALOMAA, S.; NYLUND, L.; YANGER, J.W. Biological and environmental monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide in industry and hospitals. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.204, p.465-479, 1988.

SORSA, M.; ANDERSON, D. Monitoring of occupational exposure to cytostatic anticancer agents. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.355, p.253-261, 1996.

SOTTANI, C.; TURCI, R.; PERBELLINI, L.; MINOIA, C. Liquid-liquid extraction procedure for trace determination of cyclophsphamide in human urine by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, Bognor Regis, v.12, p.1063-1068, 1998.

TOMATIS, L. The identification of human carcinogens and primary prevention of cancer. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.462, p.407-421, 2000.

TUCKER, M.A.; COLEMAN, C.N.; COX, R.S.; VERGHESE, A.; ROSENBERG, S.A. Risk of second cancers after treatment for Hodgkin's disease. **New Engl. J. Med.**, Boston, v.318, p.76-81, 1988.

TUFFNELL, P.G.; GANNON, M.T.; DONG, A.; DEBOER, G.; ERLICHMAN, C. Limitations of urinary mutagen assays for monitoring occupational exposure to antineoplastic drugs. **Am. J. Hosp. Pharm.**, Washington, v.43, p.344-348, 1986.

TURCI, R.; SOTTANI, C.; RONCHI, A.; MINOIA, C. Biological monitoring of hospital personnel occupationally exposed to antineoplastic agents. **Toxicol. Lett.**, Amsterdam, v.134, p.57-64, 2002.

ÜNDEĞER, Ü.; BAŞARAN, N.; KARS, A.; GÜÇ, D. Assessment of DNA damage in nurses handling antineoplstic drugs by alkaline COMET assay. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.439, p.277-285, 1999.

UNITED STATES. Department of Labor. Occupational Safety & Health Administration. Osha Tecnical Manual. "Controlling occupational exposure to hazardous drugs". Washington: Section VI, cap.2 Disponível em: http://www.osha.gov. Acesso em: February 20, 2003a.

UNITED STATES. Department of Labor. Occupational Safety & Health Administration. Osha Tecnical Manual. "Sampling for surface contamination". Washington, 1997. Section II, cap.2. Disponível em: http://www.osha.gov. Acesso em: 20 fev. 2003b.

VALANIS, B.; VOLLMER, W.M.; LABUHN, K.; GLASS, A.; CORELLE, C. Antineoplastic drug handling protection after OSHA guidelines: comparison by, profession, handling activity, and work site. **J. Occup. Med.**, Chicago, v.34, p.149-155, 1992.

VALANIS, B.; VOLLMER, W.; LABUHN, K.; GLASS, A. Occupational exposure to antineoplastic agents and self-reported infertility among nurses and pharmacists. **J. Occup. Environ. Med.**, Baltimore, v.39, n.6, p.574-580, 1997.

VALANIS, B.; VOLLMER, W.; STEELE, P. Occupational exposure to antineoplastic agents: self-reported miscarriages and stillbirths among nurses and pharmacists. **J. Occup. Environ. Med.**, Baltimore, v.41, n.8, p.632-638, 1999.

VILLA, L.; VIGANÒ, G.; CORVI, C. Precauzioni per la corretta manipulazione dei farmaci antineoplastici. In: CONGRESSO NAZIONALE DI MEDICINA PREVENTIVA DEI LAVORATORI DELLA SANITÀ, 2, Brescia, 1994. **Atti**. p.382-388.

WALRATH, J.; LI, F.P.; HOAR, S.K.; MEAD, M.W.; FRAUMENI Jr., J.F. Causes of death among female chemists. **Am. J. Public Health**, Washington, v.75, p.883-885, 1985.

WATERS, M.D.; NOLAN, C. EC/US workshop report: assessment of genetic risks associated with exposure to ethylene oxide, acrylamide, 1,3-butadiene and cyclophosphamide. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.330, p.1-11, 1995.

WHITE, S.K.; STEPHENS, A.D.; SUGARBAKER, P.H. Hyperthermic intraoperative intraperitonial chemoterapy safety considerations. **AORN J.**, Denver, v.63, n.4, p.716-724, 1996.

WILLIAMS, G.M. Mechanisms of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. **Toxicology**, Oxford,v.166, p.3-10, 2001.

WITT, K.L.; BISHOP, J.B. Mutagenicity of anticancer drugs in mammalian germ cells. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.355, p.209-234, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Health impacts of health-care waste. Disponível em: http://www.who.int. Acesso em: 01 fev. 2003.

ZIEGLER, E.; MASON, H.J.; BAXTER, P.J. Occupational exposure to cytotoxic drugs in two UK oncology wards. **Occup. Environ. Med.**, London, v.59, p.608-612, 2002.