

 Regione Emilia-Romagna

Giunta Regionale
Direzione Generale Sanità e Politiche sociali
Servizio Politica del Farmaco
Dirigente Responsabile del Servizio
Dott.ssa Luisa Martelli



FONDAZIONE SALVATORE MAUGERI
CLINICA DEL LAVORO E DELLA RIABILITAZIONE
I.R.C.C.S.

**LA RETE DELLE FARMACIE ONCOLOGICHE DELLA REGIONE EMILIA ROMAGNA:
1° CORSO REGIONALE PER FARMACISTI E TECNICI DI LABORATORIO DELL'AREA ONCOLOGICA**

**20 e 21 Ottobre 2009
Via Aldo Moro n. 21- Bologna
Sala 315 d – 3° piano**

J Controlli Ambientali per la sicurezza

Minoia Claudio, *Laboratorio di misure ambientali e tossicologiche, "Fondazione S. Maugeri", Clinica del Lavoro e della Riabilitazione, Pavia*

VALUTAZIONE del RISCHIO ESPOSITIVO a CHEMIOTERAPICI ANTIBLASTICI (CA)



**Area di monitoraggio 1:
Unità A1 e Unità B2**

**Area di monitoraggio 2:
Unità C3 e Unità D4**

**Area di monitoraggio 3:
Unità E5**

VALUTAZIONE del RISCHIO ESPOSITIVO a CHEMIOTERAPICI ANTIBLASTICI

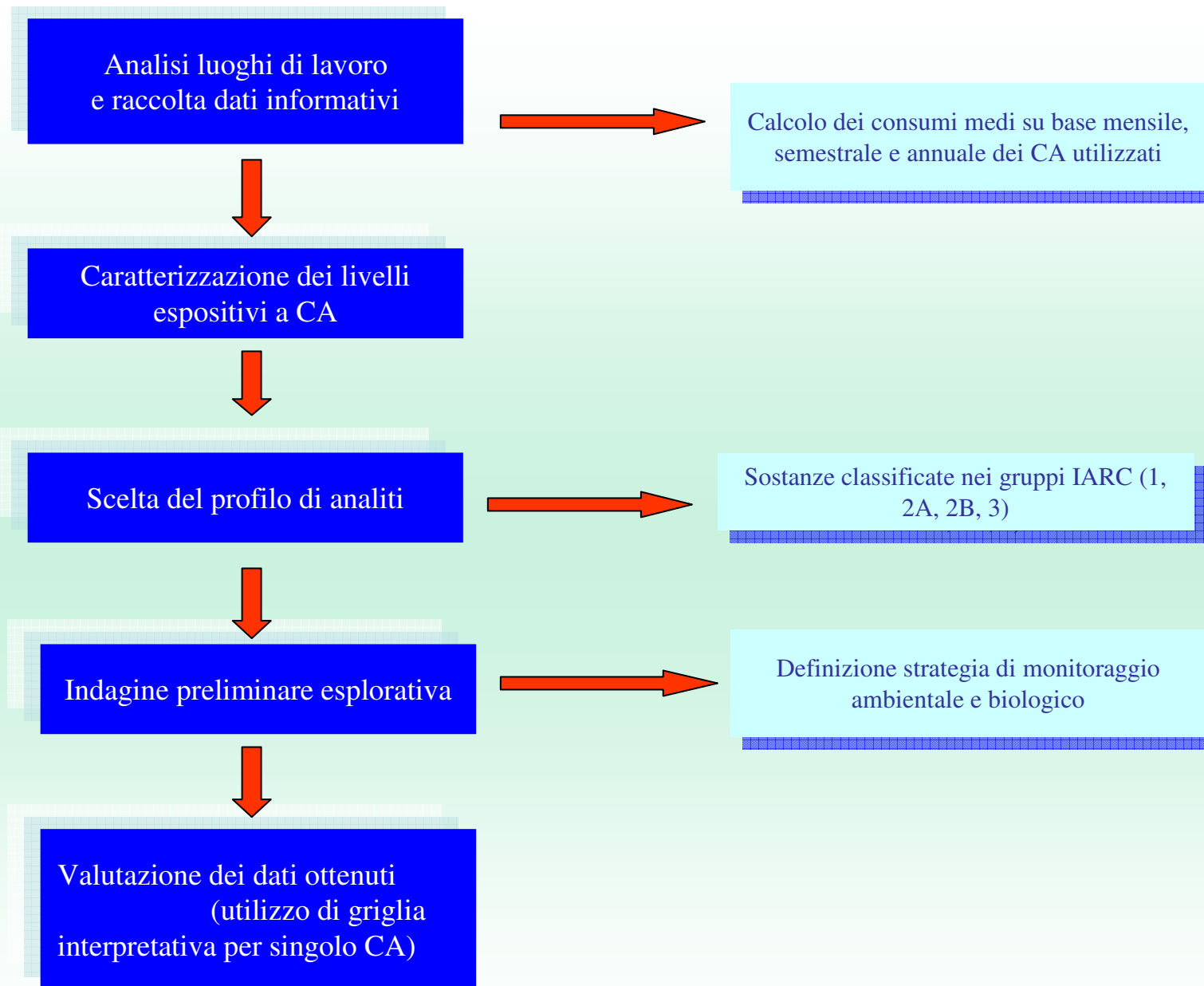
MONITORAGGIO AMBIENTALE



ESPOSIZIONE



MONITORAGGIO BIOLOGICO



✓ **RISULTATI COMPLESSIVI DELL'INDAGINE**
✓ **INDIVIDUAZIONE DEGLI INTERVENTI RITENUTI NECESSARI**

Calcolo dei consumi medi su base giornaliera e annuale per i 5 ospedali

			Valore Medio dei quantitativi manipolati (g)	
Posto di Lavoro		Anni di Monitoraggio	giornalmente (intervallo)	annualmente (intervallo)
Italia del Nord	Unità A1	1998-2001	1.5 (0.9-2.0)	117 (98-123)
		2002-2005	1.8 (0.9-2.9)	232 (211-246)
		2006-2007	2.8 (2.6-2.9)	235 (223-246)
	Unità B2	1998-2001	1.4 (0.9-2.7)	290 (223-445)
		2002-2005	4.5 (0.9-6.6)	114 (98-125)
		2006-2007	8.8 (8.8)	434 (423-446)
Italia del Centro	Unità C3	1998-2001	1.2 (0.9-1.9)	196 (111-342)
		2002-2005	1.4 (0.9-2.6)	248 (111-478)
		2006-2007	2.7 (2.6-2.8)	296 (211-380)
	Unità D4	1998-2001	8.9 (0.9-26.7)	854 (764-988)
		2002-2005	10.3 (6.8-14.8)	1,163 (980-1,456)
		2006-2007	13.8 (12.9-14.8)	1,796 (1634-1958)
Italia del Sud	Unità E5	1998-2001	8.9 (8.1-9.8)	2,423 (1,890-2,456)
		2002-2005	8.3 (6.8-9.8)	2,598 (2,156-2,890)
		2006-2007	20.7 (18.8-22.8)	3,345 (3,124-3,567)

Sostanze classificate nei gruppi IARC (1, 2A, 2B, 3)

Gruppo 1:
Cancerogeni per l'uomo

Busulfan
Ciclofosfamide anidra
[Ciclofosfamide](#) monoidrata
Clorambucile
Melfalan
Trietilentiofosforamide (tio-TEPA)
Cloronafazina

Gruppo 2A:
Sostanza probabilmente cancerogena per l'uomo

5-azacitidina
Carmustina
[Cisplatino](#)
[Doxorubicina](#)
Doxocloridrato
Etoposide
Lomustina
Mecloretamina
Procarbazina idrocloruro
Teniposide

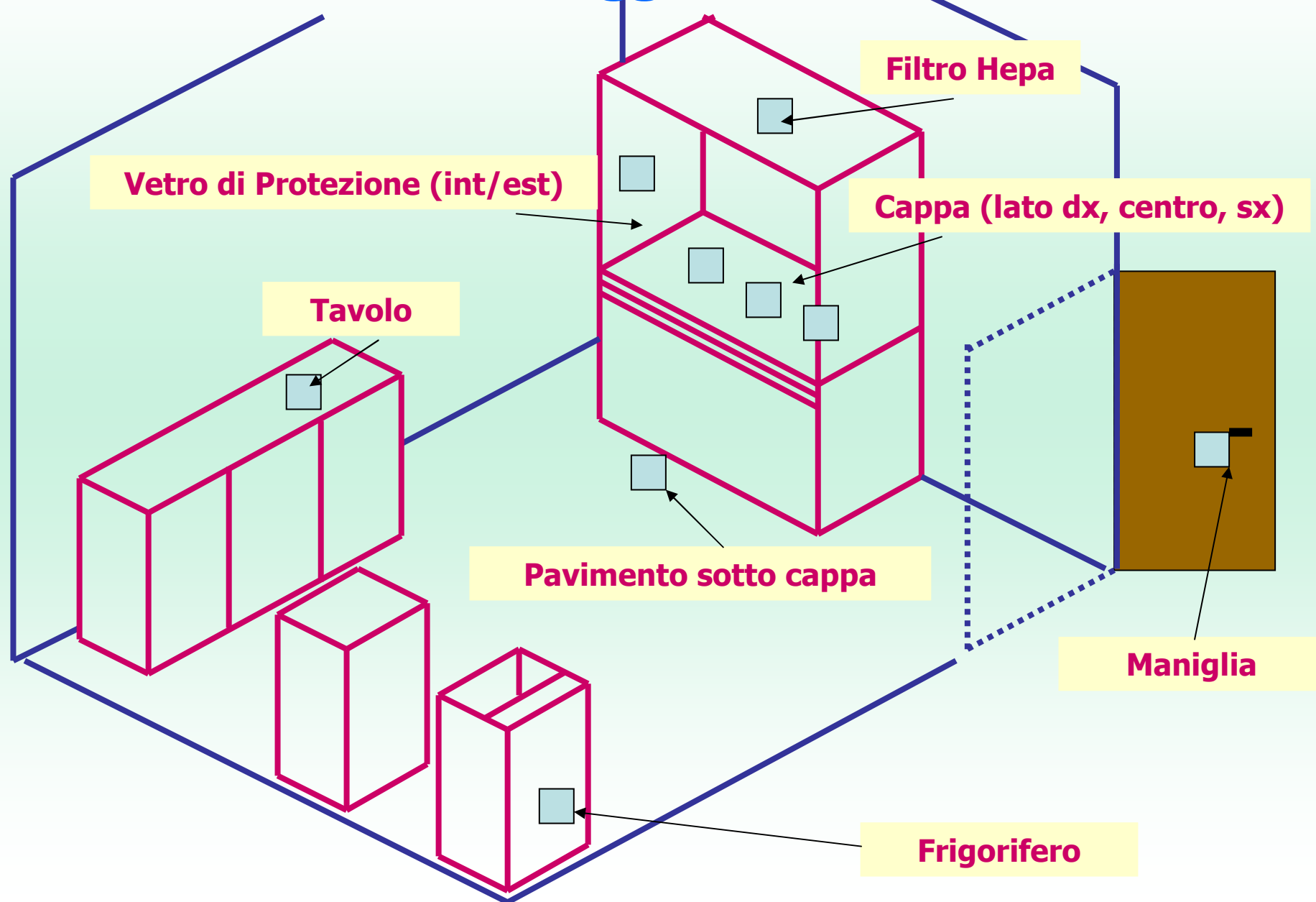
Gruppo 2B:
Sostanza possibilmente cancerogena per l'uomo

Amsacrina
Bleomicina
Bleomicina solfato
Dacarbazina
[Daunorubicina](#)
Mitomicina-C
Mitomane
Mitoxantrone bicloridrato
Streptozotocina

Gruppo 3:
Sostanza non classificabile come cancerogena per l'uomo

Dactinomicina
[5-fluorouracile](#)
Idrossiurea
[Ifosfamide](#)
Mercaptopurina
[Metotressato](#)
Prednimustina
Vinblastina solfato
Vincristina solfato

Definizione strategia di monitoraggio ambientale



Strategia di monitoraggio ambientale

Area di campionamento	Posizioni di campionamento
CAPPA	piano di lavoro (centro) piano di lavoro (sinistra) piano di lavoro (destra) filtro HEPA sopra la cappa vetro di protezione (interno) vetro di protezione (esterno)
Area di lavoro all'interno della stanza di preparazione	tavolo di lavoro pavimento sotto la cappa maniglia della porta maniglia del frigorifero
Area di lavoro all'esterno della stanza di preparazione	pavimento a 1 mt pavimento a 3,5 mt corridoio all'esterno della stanza di preparazione

Perché validare un metodo?

**CORRETTEZZA E AFFIDABILITÀ
DEL DATO ANALITICO**

UN PROTOCOLLO COMUNE

**I dati ottenuti dalle varie strutture
devono essere confrontabili tra loro**

Simultaneous determination of gemcitabine, taxol, cyclophosphamide and ifosfamide in wipe samples by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry: protocol of validation and uncertainty of measurement

Cristina Sottani^{1*}, Roberta Turci¹, Rudolf Schierl², Raffaella Gaggeri¹, Anna Barbieri³, Francesco Saverio Violante⁴ and Claudio Minoia¹

¹Laboratory for Environmental and Toxicological Testing, S. Maugeri Foundation, IRCCS, via Maugeri 10, Pavia, Italy

²Institute for Occupational and Environmental Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

³Safety, Hygiene and Occupational Medicine Service, University of Bologna, S.Orsola-Malpighi Hospital, via Palagi 9, 40138 Bologna Italy

⁴Occupational Medicine Unit, S.Orsola-Malpighi Hospital, via Palagi, 9, 40138 Bologna Italy

Received 25 October 2006; Revised 29 January 2007; Accepted 31 January 2007

Measurable levels of anticancer agents are still detected on work surfaces in health-care settings. However, application of recent guidelines for the protection of workers' safety and health has resulted in lowered contamination levels. To assess occupational exposure to antineoplastic agents, very sensitive and specific procedures for environmental sampling and analysis are therefore needed. In the present study an assay for simultaneous determination of gemcitabine, taxol, cyclophosphamide, and ifosfamide in wipe samples, using two internal standards (trofosfamide and cephalomannine), was developed and validated by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry (HPLC/MS/MS). Solid-phase extraction (SPE) was used for sample concentration and cleanup. The assay was found to be linear up to 1000 ng/wipe, with limits of quantitation of 25.0 ng/wipe for gemcitabine and taxol, and 12.5 ng/wipe for cyclophosphamide and ifosfamide. In order to investigate the effectiveness of the surface sampling, removal efficiency tests were repeated on different types of surfaces. Recovery rates of between 62 and 81% were obtained at two contamination levels (50.0 and 250 ng/100 cm²). Precision and trueness were determined on three different days. The within-day precision was found to be always less than 12.1% for all the analytes. The overall precision, expressed as relative standard deviation (RSD), was always less than 9.4%. Recoveries varying from 75.0 (gemcitabine) to 95.0% (taxol) were obtained at three levels. In order to obtain a quantitative indication of the quality of the result, the overall uncertainty of measurement (UOM) was evaluated according to the EURACHEM/CITAC guide. The relative combined uncertainty was found to be always less than 9.5%. The relative expanded uncertainty was also calculated, at three contamination levels. Copyright © 2007 John Wiley & Sons, Ltd.

I PARAMETRI TECNICI

- IDENTITÀ
- SELETTIVITÀ
- SENSIBILITÀ
- LIMITE DI RILEVABILITÀ
- LIMITE DI QUANTIFICAZIONE
- INTERVALLO DI LAVORO E INTERVALLO DI LINEARITÀ
- PRECISIONE (RIPETIBILITÀ E RIPRODUCIBILITÀ)
- ACCURATEZZA
- ROBUSTEZZA
- RECUPERO
- INCERTEZZA

Calcolo dell'Incertezza di Misura

- 1. Definizione dei misurandi;**
- 2. Identificazione delle sorgenti di incertezza;**
- 3. Quantificazione delle sorgenti di incertezza;**
- 4. Quantificazione dei componenti all'incertezza;**
- 5. Calcolo dell'incertezza composta;**
- 6. Calcolo dell'incertezza estesa.**

Calcolo dell'Incertezza di Misura

Referenze	Strumento	Procedura di purificazione	Intervallo di Concentrazione	Incertezza Estesa	Accuratezza (RE %)	Precisione %RSD	Recupero (%)
C. Sottani et al. RCM, 21 (2007) 1289	PE-Sciex API 300	SPE OASIS HLB (0.2 g; 6mL)	12.5-1000 (ng/wipe)	40.0±3.9 ng/wipe	1.9 %RE	8.8%	85±8.2%
				312.5±20.1 ng/wipe	-8.6%RE	8.0%	83±7.9%
				625.0±36.1 ng/wipe	-7.4%RE	6.7%	88±8.5%
		Hypersil BDS C8 stationary phase 150x4.6 mm	LOD e LLOQ 12.5 ng/wipe 6.25 ng/wipe				

Risultati delle analisi mediante HPLC-MS/MS in campioni ambientali (esempio CP)

	Anno di monitoraggio	Media Geometrica	Percentili Selezionati			Percentuale sopra il LOD	
			50th	75th	95th	n	
CAPPA	1998-99	775 (50-11200)	1575	2800	7996	12	100
	2000-01	662 (115-9800)	465	2175	6775	12	100
	2002-03	383 (80-1700)	400	725	1205	12	100
	2004-05	31 (58-180)	70	109	180	12	67
	2006-07	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	12	0
Area di lavoro all'interno della stanza di preparazione	1998-99	235 (50-1250)	320	356	954	8	100
	2000-01	122 (25-1800)	123	233	1265	8	100
	2002-03	24 (30-60)	43	53	63	8	75
	2004-05	11 (25-80)	14	45	78	8	50
	2006-07	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	8	0
Area di lavoro all'esterno della stanza di preparazione	1998-99	95 (30-2100)	70	675	1793	6	84
	2000-01	64 (55-270)	100	145	243	6	84
	2002-03	9 (50-130)	<LOD	39	110	6	33
	2004-05	5 (20-45)	<LOD	16	39	6	33
	2006-07	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	6	0

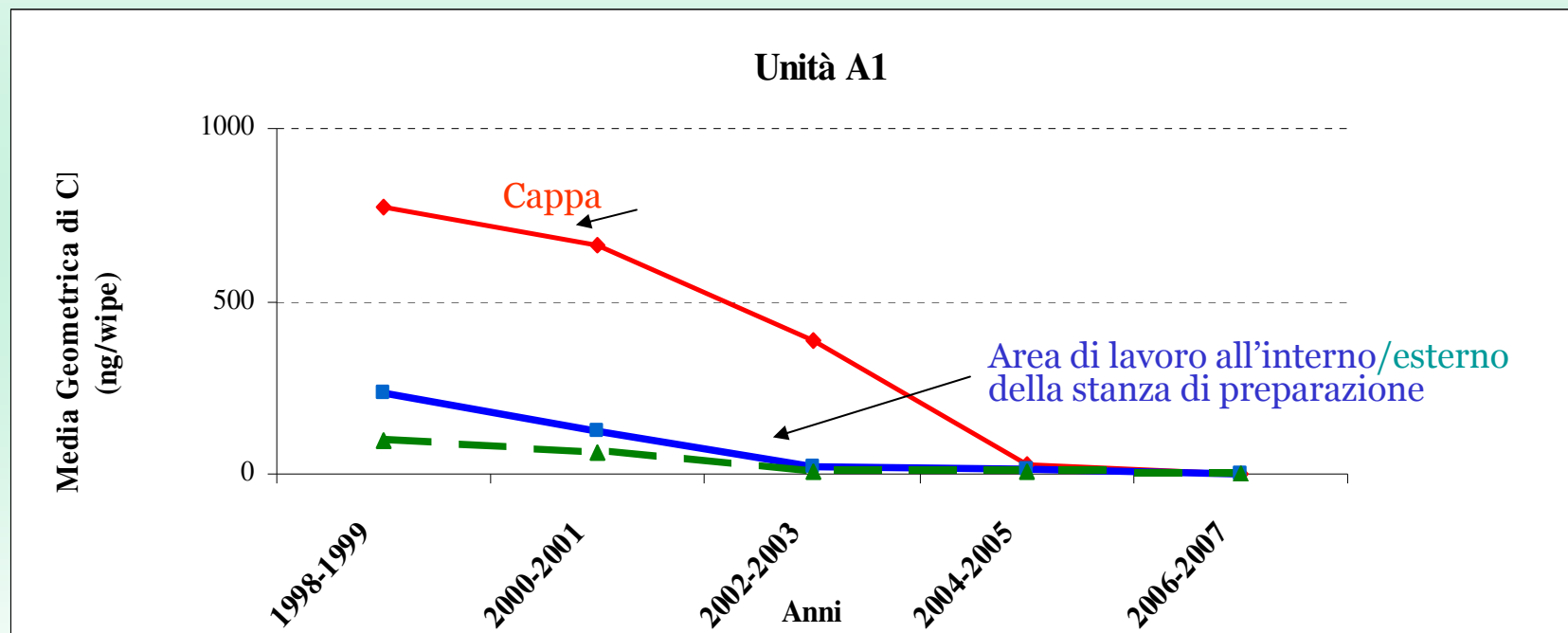
Risultati delle analisi mediante HPLC-MS/MS in campioni ambientali (esempio CP)

	Anno di monitoraggio	Media Geometrica	Percentili Selezionati			n	Percentuale sopra il LOD
			50th	75th	95th		
CAPPA	1998-99	605 (99-8120)	575	1012	6745	12	100
	2000-01	664 (70-6700)	716	1318	4610	12	100
	2002-03	131 (41-550)	108	196	440	12	100
	2004-05	18 (17-120)	22	39	76	12	75
	2006-07	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	12	0
Area di lavoro all'interno della stanza di preparazione	1998-99	202 (30-420)	265	338	410	8	100
	2000-01	150 (45-280)	184	203	256	8	100
	2002-03	44 (21-222)	72	117	191	8	87
	2004-05	21 (15-90)	37	43	76	8	75
	2006-07	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	8	0
Area di lavoro all'esterno della stanza di preparazione	1998-99	110 (41-730)	240	523	689	6	84
	2000-01	144 (49-231)	177	231	290	6	100
	2002-03	16 (15-90)	16	58	85	6	33
	2004-05	8 (15-32)	23	23	30	6	50
	2006-07	4 (22)	<LOD	<LOD	18	6	16

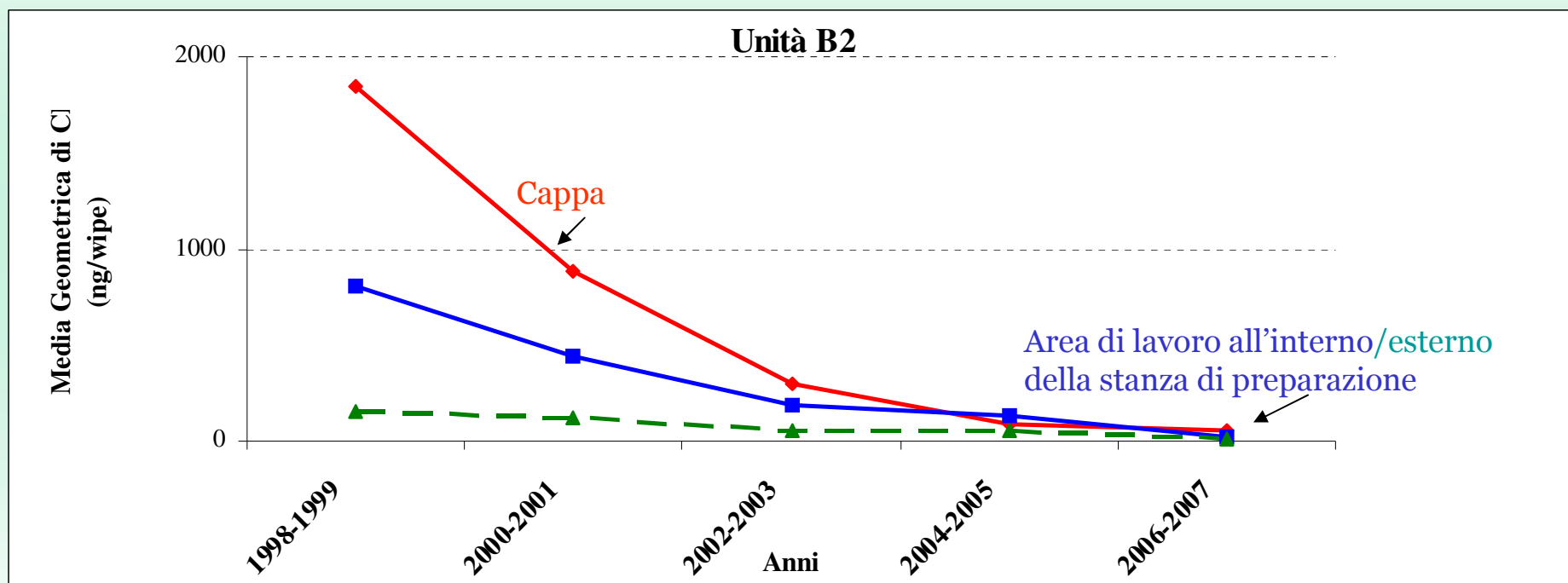
Risultati delle analisi mediante HPLC-MS/MS in campioni ambientali (esempio CP)

	Anno di monitoraggio	Media Geometrica	Percentili Selezionati			Percentuale sopra il LOD	
			50th	75th	95th	n	
CAPPA	1998-99	3905 (170-69000)	2670	14157	59694	12	100
	2000-01	1550 (110-9700)	2238	3850	7335	12	100
	2002-03	384 (89-2150)	360	1056	19152	12	100
	2004-05	22 (55-120)	61	100	124	12	58
	2006-07	18 (29-105)	32	88	104	12	58
	1998-99	294 (70-1650)	360	825	1598	8	100
Area di lavoro all'interno della stanza di preparazione	2000-01	505 (239-1233)	480	687	1125	8	100
	2002-03	105 (38-550)	170	348	528	8	87
	2004-05	14 (130-240)	<LOD	150	230	8	37
	2006-07	4 (19)	<LOD	<LOD	13	8	12
	1998-99	152 (30-870)	102	681	902	6	100
Area di lavoro all'esterno della stanza di preparazione	2000-01	8 (23-30)	10	22	28	6	50
	2002-03	10 (23-45)	13	39	45	6	50
	2004-05	26 (44-110)	61	85	104	6	66
	2006-07	8 (19-29)	11	22	28	6	50

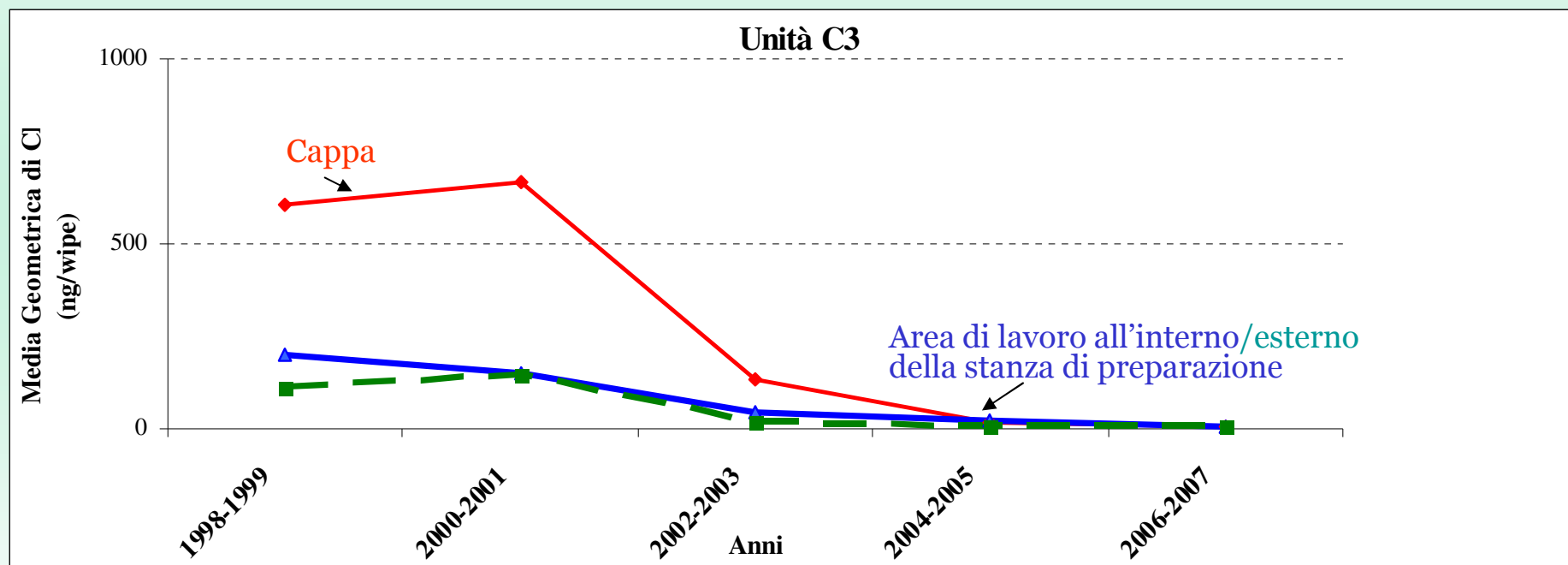
Andamento nel Tempo della concentrazione media di CP nelle aree di lavoro



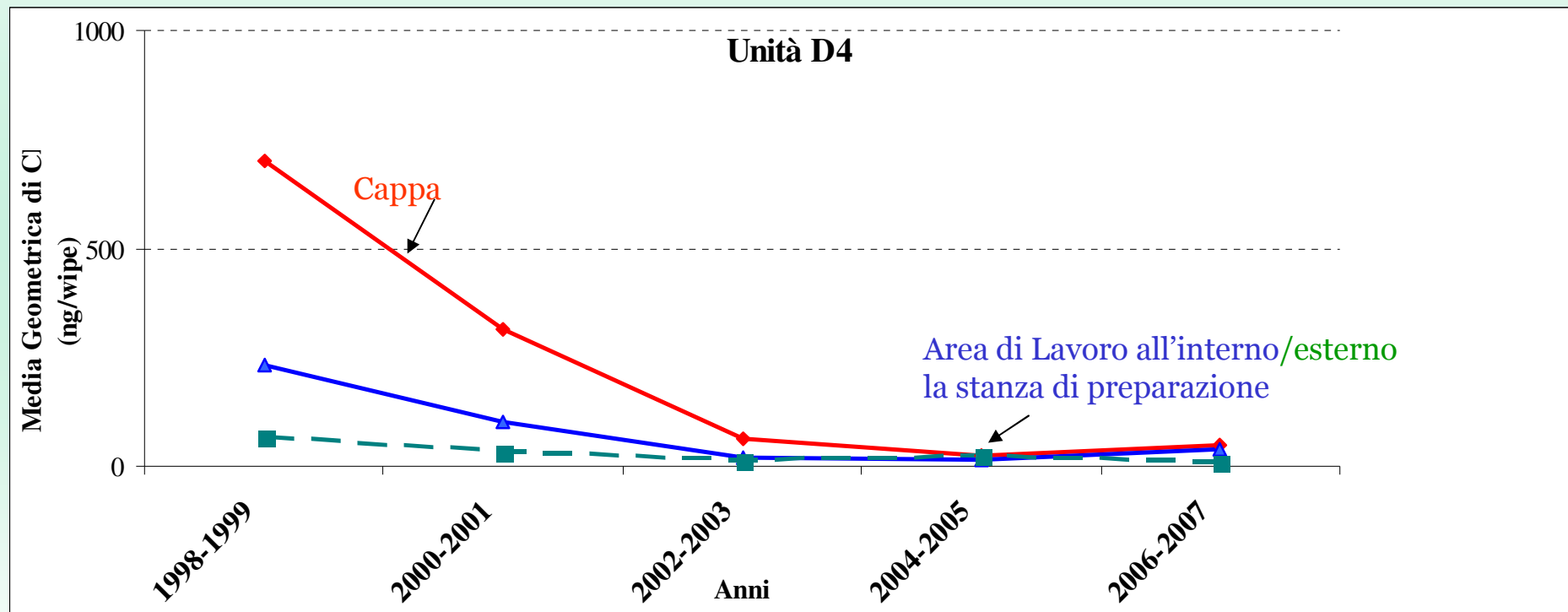
Andamento nel Tempo della concentrazione media di CP nelle aree di lavoro



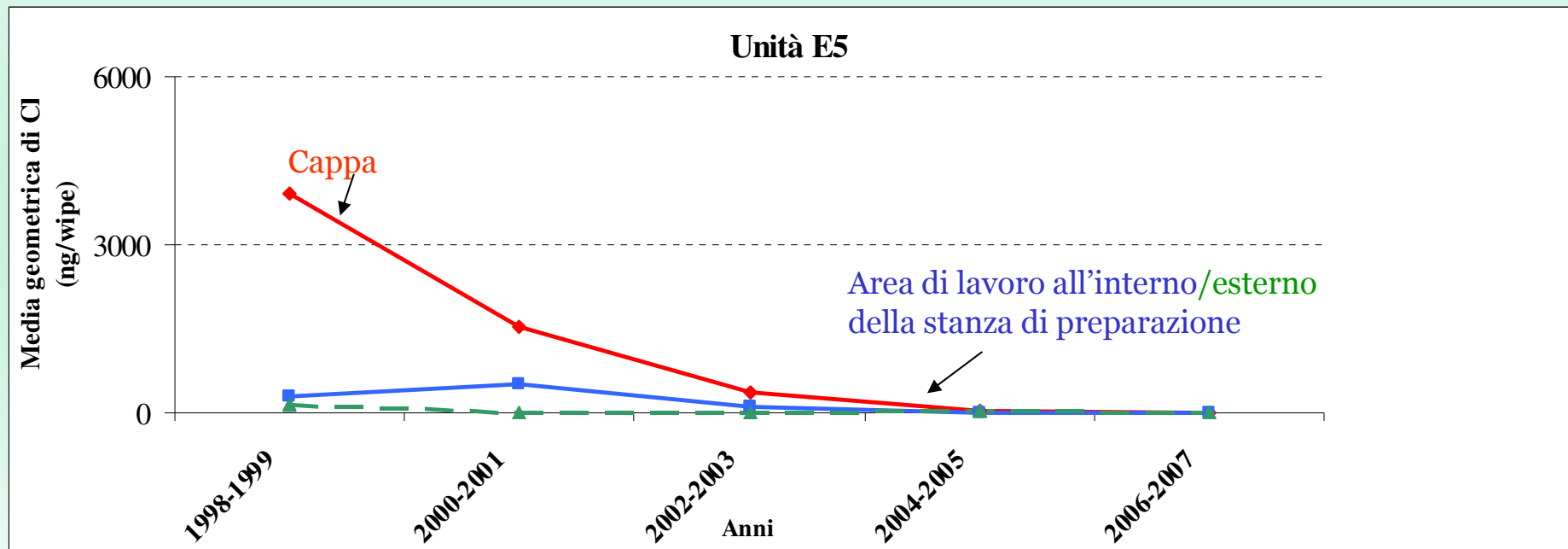
Andamento nel Tempo della concentrazione media di CP nelle aree di lavoro



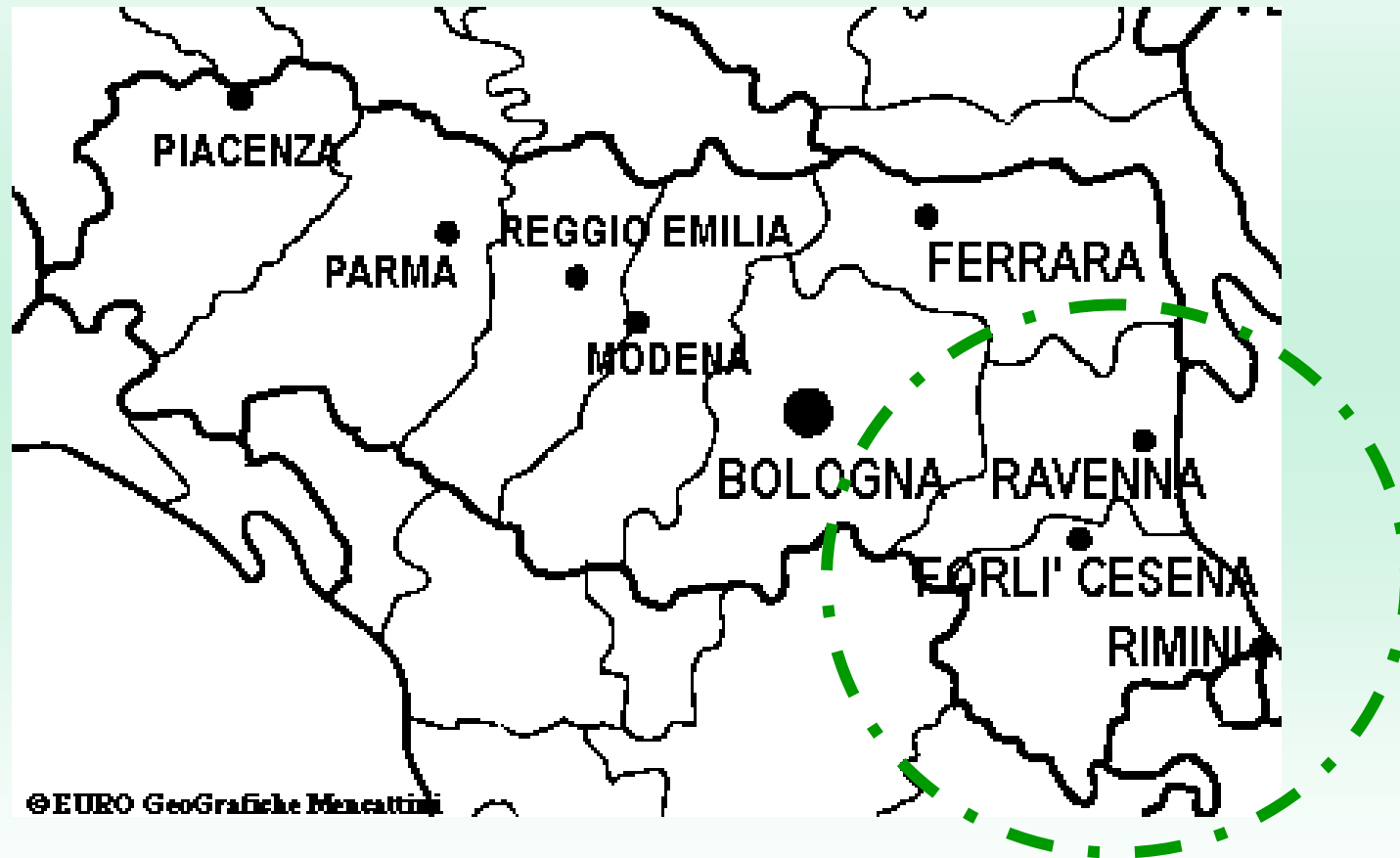
Andamento nel Tempo della concentrazione media di CP nelle aree di lavoro



Andamento nel Tempo della concentrazione media di CP nelle aree di lavoro



VALUTAZIONE del RISCHIO ESPOSITIVO a CHEMIOTERAPICI ANTIBLASTICI (CA) (un secondo studio)



Metodi Analitici

Composto	Tecnica analitica
Ciclofosfamide	HPLC-MS/MS analisi in campioni ambientali e urine
Ifosfamide	HPLC-MS/MS analisi in campioni ambientali e urine
Taxolo	HPLC-MS/MS analisi in campioni ambientali e urine e plasma
Classe delle Antraciline	HPLC-MS/MS e HPLC-FL analisi in campioni ambientali e urine
Gemcitabina e metabolita (2-dFdU)	HPLC-MS/MS analisi in campioni ambientali e urine
5-Fluorouracile e metabolita	HPLC-UV analisi in campioni ambientali e urine
Metotressate	HPLC-MS/MS analisi in campioni ambientali e urine
Composti del Pt	ICP-MS analisi in campioni ambientali e urine

Table 1.
Analytical methods validated including uncertainty of measurement.

Drug	Instrumental technique	CV%	Trueness	LoQ	Relative combined Uncertainty (conc.)	Reference
CP (biol.)	HPLC-MS/MS	<15%	98% - 108%	20 ng/L	<25% (25 ng/L)	Sottani et al., 2005 (12)
GCA (biol.)	HPLC-MS/MS	<7%	92,4%	0.20 µg/L	< 15% (2 µg/L)	Sottani et al., 2004 (10)
2dFdU		<8%	93,6%	1.0 µg/L	<30% (2 µg/L)	
DOXO (biol.)	HPLC-MS/MS	<15%	86% - 99%	0.10 µg/L	<20% (0.2 µg/L)	Sottani et al., 2004 (11)
DAUNO (biol.)				0.03 µg/L	<10% (0.2 µg/L)	
IDA (biol.)				0.03 µg/L	<10% (0.2 µg/L)	
EPI (biol.)				0.10 µg/L	<20% (0.2 µg/L)	
Pt (biol.)	ICP-MS (Q-DRC)	<5%	99,3-101,7%	0.40 ng/L	0.094% (1.5 ng/L)	Spezia et al., 2005 (13)
CP(environm.)	HPLC-MS/MS	<13%	90%-102%	12.5 ng/wipe	4,4% (40 ng/wipe)	Sottani et al., 2007 (14)
IF (environm.)				12.5 ng/wipe	9,4% (40 ng/wipe)	
TAX (environm.)				25 ng/wipe	5,9% (40 ng/wipe)	
GCA (environm.)				25 ng/wipe	4,2% (40 ng/wipe)	
CP (biol.)	HPLC-MS/MS	17,9%	118,0%	0.20 µg/L	6,9% (1.0 µg/L)	Sottani et al., 2008 (15)
IF (biol.)		17,0%	115,0%	0.20 µg/L	10,2% (1.0 µg/L)	
DOXO (biol.)		13,9%	118,0%	0.30 µg/L	13,4% (1.0 µg/L)	
DAUNO (biol.)		15,2%	116,0%	0.15 µg/L	13,3% (0.5 µg/L)	
EPI (biol.)		12,4%	110,0%	0.20 µg/L	3,8% (1.0 µg/L)	

CP = cyclophosphamide; IF = ifosfamide; GCA = gemcitabine;
 2dFdU = 2',2'-difluorodeoxyuridine; TAX = taxolo; Pt = platinum
 DOXO = doxorubicin; EPI = epirubicin; DAUNO = daunorubicin; IDA = idarubicin;
 HPLC-MS/MS = high performance liquid chromatographic - tandem mass spectrometry;
 ICP-MS (Q-DRC) = inductively coupled plasma-mass spectrometry (quadrupole with dynamic reaction cell); LoQ = limit of quantitation

Risultati

HOSPITAL	YEAR	Samples	Preparation room		Administration room	
			No. of positive samples/ No. of total samples (%)	Range (LOQ)	No. of positive samples/ No. of total samples (%)	Range (LOQ)
RAVENNA	2003	Wipe samples	2/8 (25%)	0.114-0.450 µg	0/8	(<0.001 µg)
		Pads	1/5 (20%)	0.024 µg	0/15	(<0.001 µg)
		Air samples	0/2	(<1.0 ng/mg ³)	-	-
RAVENNA	2004	Wipe samples	1/3 (33.3%)	0.009 µg	1/2 (50%)	0.331 µg
		Pads	0/3	0.001 µg	1/5 (20%)	0.002 µg
RAVENNA	2005	Wipe samples	1/4 (25%)	0.112 µg	0/2	(<0.001 µg)
		Pads	0/6	(<0.001 µg)	0/21	(<0.001 µg)
FAENZA	2003	Wipe samples	2/8 (25%)	0.010-0.072 µg	0/3	(<0.001 µg)
		Pads	0/5	(<0.001 µg)	0/6	(<0.001 µg)
		Air samples	0/2	(<1.0 ng/mg ³)	-	-
FAENZA	2004	Wipe samples	0/2	(<0.001 µg)	1/1 (100%)	0.014 µg
		Pads	0/3	(<0.001 µg)	0/12	(<0.001 µg)
FAENZA	2005	Wipe samples	0/2	(<0.001 µg)	-	-
		Pads	2/3	0.058-0.092 µg	0/6	(<0.001 µg)
LUGO	2003	Wipe samples	1/8 (12.5%)	0.055 µg	0/3	(<0.001 µg)
		Pads	1/5 (20%)	0.008 µg	0/9	(<0.001 µg)
		Air samples	0/2	(<1.0 ng/m ³)	-	-
LUGO	2004	Wipe samples	1/3 (33.3%)	0.021 µg	1/1 (100%)	0.006 µg
		Pads	0/3	(<0.001 µg)	4/9 (44.4%)	0.002-0.039 µg
LUGO	2005	Wipe samples	0/3	(<0.001 µg)	0/1	(<0.001 µg)
		Pads	0/3	(<0.001 µg)	1/6 (16.7%)	0.015 µg

Risultati

Table 3. continued

HOSPITAL	YEAR	Samples	Preparation room		Administration room		
			No. of positive samples/ No. of total samples (%)	Range (LOQ)	No. of positive samples/ No. of total samples (%)	Range (LOQ)	
RIMINI	2004	Oncology out.	Wipe samples	0/10	<0.10 µg	-	-
			Pads	2/5 (40%)	0.10-0.25 µg	7/10 (70%)	0.10-0.15 µg
			Air samples	0/2	<43 ng/m ³	-	-
		Oncology	Wipe samples	0/10	<0.10 µg	-	-
			Pads	4/5 (80%)	0.10-0.16 µg	-	-
			Air samples	0/2	<85 ng/m ³	-	-
RIMINI	2005	Oncology out.	Wipe samples	1/10 (10%)	0.12 µg	-	-
			Pads	1/5 (20%)	0.12 µg	2/10 (20%)	0.10-0.11 µg
			Air samples	0/2	<125 ng/m ³	-	-
		Oncology	Wipe samples	1/10 (10%)	0.20 µg	-	-
			Pads	0/5	<0.10 µg	-	-
			Air samples	0/2	<125 ng/m ³	-	-
RIMINI	2006	Oncology out.	Wipe samples	2/10 (20%)	0.17-0.20 µg	-	-
			Pads	4/5 (80%)	0.11-0.33 µg	1/10 (10%)	0.16 µg
			Air samples	0/2	<65.2 ng/m ³	-	-
		Oncology	Wipe samples	0/10	<0.10 µg	-	-
			Pads	0/5	<0.10 µg	-	-
			Air samples	0/2	<83.3 ng/m ³	-	-
RIMINI	2007	Oncology out.	Wipe samples	1/10 (10%)	0.70 µg	-	-
			Pads	0/5	<0.10 µg	2/10 (20%)	0.11-0.15 µg
			Air samples	0/2	<57.7 ng/m ³	-	-
		Oncology	Wipe samples	5/10 (50%)	0.10-0.15 µg	-	-
			Pads	0/5	<0.10 µg	-	-
			Air samples	0/2	<150 ng/m ³	-	-

Conclusioni

- Significativa e progressiva riduzione dei livelli espositivi CA in matrici ambientali
- Drastica riduzione dei livelli di CA e loro metaboliti in urina
- Ampliamento spettro analiti, introduzione continua di nuovi farmaci antineoplastici
- Monitoraggio ambientale e procedure di sicurezza
- Definizione di procedure d'urgenza (eventi accidentali quali sversamenti, rottura di flaconi ecc)
- Preparatori, somministratori e...
- Esiste un problema ambientale esterno?