

INTRODUCTION

La reconstitution des cytostatiques injectables est centralisée à la pharmacie des HUG depuis plusieurs années. Elle a lieu dans des isolateurs à pression négative situés dans des locaux de classe C (fig 1). L'aptitude des opérateurs de production à travailler de façon aseptique est évaluée annuellement à l'aide d'une validation par « media fill » (simulation de différentes préparations à l'aide de milieux de culture). Nous ne disposons en revanche pas de test permettant de démontrer l'absence de contaminants chimiques tels que des cytostatiques sur les préparations délivrées aux unités de soins ou sur les gants.



Fig 1: isolateur

OBJECTIF

- ❖ Développer une méthode simple pour évaluer le degré de contamination externe lors d'une simulation de reconstitution de cytostatique
- ❖ D'après une revue de la littérature ^{1,2,3}, les principaux marqueurs utilisés dans ce type d'étude sont soit des cytostatiques (cyclophosphamide, 5-fluorouracile, méthotrexate), soit des substances radioactives (technetium), soit des composés fluorescents (fluorescéine sodique)

METHODES

- ❖ Recherche d'un marqueur non cytotoxique, non radioactif, aisément dosable (par exemple par UV, colorimétrie, fluorimétrie, absorption atomique) et ne nécessitant pas de séparation chromatographique préalable
- ❖ Développement et validation d'une méthode de dosage du marqueur
- ❖ Développement d'une méthode d'extraction du marqueur à partir des gants et poches de perfusion
- ❖ Rédaction d'un protocole pour la réalisation d'un test de simulation de reconstitution avec le marqueur choisi
- ❖ Réalisation du test de simulation par les opérateurs de production

RESULTATS

- ❖ Essais préalables sur 2 marqueurs dosables de façon sensible et spécifique par fluorimétrie: dichlorure de quinine et fluorescéine sodique
- La fluorescéine sodique est visible à l'œil nu et doit être dosée en milieu basique (NaOH dilué)
- La quinine diHCl est incolore et peut être dosée en milieu neutre (eau)

⇒ Marqueur choisi : quinine

DEVELOPPEMENT ET VALIDATION DE LA METHODE ANALYTIQUE

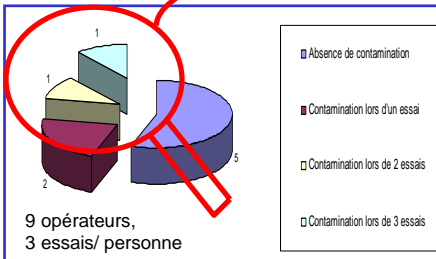
Paramètres	Résultats
Longueurs d'onde de dosage	$\lambda_{exc}=330 \text{ nm}$; $\lambda_{emi}=380 \text{ nm}$
Linéarité	Entre 10^{-7} et 10^{-6} M
Fidélité intermédiaire à 3 niveaux de concentration: bas, moyen et élevé	CV = 4.2% à 6.9% ⇒ bon niveau de précision
Limites de détection et quantification (méthode du CV cible)	LOD = $0.3 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ ⇒ détection d'une projection de 0.15 μl LOQ = $1.0 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ ⇒ quantification d'une projection de 0.5 μl

DEVELOPPEMENT DE LA METHODE D'EXTRACTION

- ❖ L'utilisation de lingettes comme proposé par d'autres auteurs n'a pas abouti à des résultats concluants
- ❖ L'immersion des gants ou de la poche de perfusion dans 500 ml d'eau a donné d'excellents résultats avec un rendement d'extraction supérieur à 95%



REALISATION ET RESULTATS DU TEST DE SIMULATION



Opérateur	Essai n°1	Essai n°2	Essai n°3
N°1	-	2.8 μl → gants 5.1 μl → poche	-
N°2	-	-	4.6 μl → gants 0.8 μl → poche
N°3	0.5 μl → gants	2.7 μl → gants 1.3 μl → poche	-
N°4	2.1 μl → gants 0.6 μl → poche	0.8 μl → gants	1.2 μl → gants

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

- ❖ Les résultats de notre test de simulation, utilisant comme marqueur le dichlorure de quinine et réalisé par 9 opérateurs convergent avec ceux d'autres études et montrent qu'une absence totale de contamination est quasi impossible
- ❖ L'intérêt de notre test est qu'il met en évidence des contaminations survenant lors du processus de reconstitution, alors que les méthodes procédant par dosage d'un agent cytotoxique ne permettent pas de distinguer les contaminants présents a priori sur les emballages livrés par le fabricant des contaminants qui résultent de la reconstitution à la pharmacie
- ❖ Dans le futur, notre étude devra être reproduite régulièrement pour constituer une réelle validation des opérateurs
- ❖ On doit envisager de comparer plusieurs méthodes et types de préparations, par exemple utilisation d'un cytosafe®, d'un transfert-set®, de PhaSeal®, remplissage d'un perfuseur mécanique, ou encore préparation d'une seringue