

Exposition aux cytostatiques

Risque toxicologique en milieu hospitalier

Cet article est la synthèse d'un mémoire de DEA effectué en 2005 par O. Roussel, pharmacien du département Toxicologie de l'Institut de recherche criminelle de la Gendarmerie nationale. Il fait le point sur l'évaluation du risque toxicologique lié à l'exposition aux cytostatiques pour le personnel hospitalier de santé. Construit en trois grandes parties, il aborde tout d'abord la description du matériel et de la méthode utilisés, puis les résultats des dosages effectués et enfin la discussion. L'annexe propose un protocole de prévention mis en place au Centre hospitalier de Pontoise.

En résumé

L'emploi des médicaments cytostatiques à l'hôpital expose les professionnels de santé qui les manipulent à leur contamination. Afin d'appréhender la réalité de cette exposition, une étude portant sur la recherche de cytostatiques (cyclophosphamide, doxorubicine, épirubicine, cisplatine, carboplatine et oxaliplatine) excrétés dans les urines du personnel de cinq services de l'hôpital de Pontoise (trois groupes: infirmiers et aides soignants; médecins et secrétaires; témoins) a été menée selon deux méthodologies éprouvées (chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse, torche à plasma couplée à la spectrométrie de masse). En parallèle, les capacités de défense antiradicalaire de leur sang (sang total, érythrocytes et plasma) et de leurs urines ont été déterminées par un test KRL. Les premières méthodes ont montré la contamination de deux personnes (cyclophosphamide entre 1 et 5 ng/mL d'urine, platine à 33,5 ng/g de créatinine). Le potentiel antiradicalaire érythrocytaire et l'efficacité antiradicalaire des urines des infirmiers et aides soignants sont corrélés à leur âge et/ou à leur ancienneté dans l'emploi. Cette dernière observation devra être confirmée par une étude incluant plus de personnes.

Mais ces règles ne sont pas toujours respectées pour des raisons de méconnaissance des risques (en particulier ceux liés aux excréta et aux déchets), d'inadéquation des structures ou des équipements et d'accoutumance à des dangers « invisibles et contradictoires » avec la notion de médicaments [5, 6]. Or les actes techniques de reconstitution génèrent des projections et des contaminations dont il faut se prémunir [7].

Le décret interministériel n° 2001-97 du 1^{er} février 2001 sur les substances cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction stipule la nécessité du renforcement du suivi des agents en contact avec ces substances par le médecin du travail. Dans ce contexte établi, les médecins du travail en milieu hospitalier sont amenés à évaluer les risques générés par la manipulation des cytostatiques pour mieux en prévenir les éventuelles conséquences, devant la multitude des effets toxiques décrits dans la littérature :

- effets tératogènes (avortements spontanés, malformations) [1, 4];
- effets locaux (manifestations allergiques pulmonaires et/ou cutanées) [1, 8];
- effets généraux (vertiges, sensations ébrieuses, nausées, céphalées, pertes de cheveux, vomissements, malaises, atteintes hépatiques, etc.) [1, 8].

La mise en évidence d'une corrélation, voire d'un lien de causalité, entre l'exposition aux cytostatiques et les signes d'intoxication est difficile et l'interprétation des résultats se complique. De plus, le professionnel de santé s'expose à de faibles doses de cytostatiques sur de longues périodes.

Cet état des lieux sur l'emploi des cytostatiques à l'hôpital [6] met en évidence la nécessité de disposer d'une surveillance biométriologique. Plusieurs méthodes sont proposées :

- étude du pouvoir mutagène des urines (test d'Ames) [1, 4, 8, 9];

ROUSSEL O*, GUIBAL A**,
BELHADJ-TAHAR H***,
SADEG N****.

* Département Toxicologie, Institut de recherche criminelle de la Gendarmerie nationale, Rosny sous Bois.

**Service de Médecine du Travail, Centre hospitalier René Dubos, Pontoise.

***Groupe Santé Recherche, Toulouse.

****Laboratoire de Biologie, Centre hospitalier René Dubos, Pontoise.

Bien qu'employés comme traitements, les cytostatiques possèdent des propriétés cancérigènes, tératogènes et mutagènes préjudiciables, pour le personnel de santé les manipulant [1]. Ainsi, des effets toxiques ont été observés chez des professionnels de santé maniant, sans précaution, ces produits et ont été rapportés dans la littérature médicale depuis les années 1980. Le Code du travail en régleme l'usage et les services concernés ont, depuis plusieurs années, élaboré des procédures strictes de reconstitution [2, 3, 4].

- test des comètes;
- test d'échange de chromatides sœurs [4, 8, 9];
- test de recherche des aberrations chromosomiques [4, 8, 9];
- test de numération des micronoyaux [4, 8, 9];
- dosage urinaire des thioéthers [8];
- détection et identification des adduits aux acides nucléiques ou aux protéines [4, 8, 9].

Ces tests manquent de spécificité car d'autres toxiques (ou facteurs) peuvent les positiver. Ils n'évaluent qu'une partie du risque toxique et sont difficiles à mettre en œuvre en routine. En revanche, la recherche des cytostatiques excrétés dans les urines [1, 4, 8, 10] est spécifique d'une exposition récente et d'une éventuelle contamination. Mais ces résultats ne se traduisent pas en risque toxique et le coût des équipements et des dosages en freine le développement. Préconisé par les médecins [4, 8, 10, 11], cet outil biométriologique peut être couplé à une méthode de surveillance directe ou indirecte de la cytotoxicité comme la détermination des capacités antiradicalaires.

L'objet de ce travail est d'évaluer l'exposition aux cytostatiques des personnels de santé les manipulant au centre hospitalier de Pontoise. Les méthodes mises en œuvre pourront à terme être proposées en routine au

laboratoire de biochimie - toxicologie pour le suivi du personnel exposé.

Matériel et méthodes

Il a été proposé que l'ensemble du personnel des services manipulant des anticancéreux soit dépisté car les expositions aux cytostatiques sont :

- directes lors de la reconstitution des médicaments;
- indirectes par contacts avec les excréta des patients ou lors des phases de nettoyage des zones de reconstitution des cytostatiques (pièce, hotte, déchets, etc.).

Le consentement a été recueilli auprès des volontaires (*Annexe*). Lors de ce recueil, quelques informations ont été demandées, à savoir :

- la fonction: selon trois classes (infirmiers et adjoints de soins hospitaliers; médecins et secrétaires médicales; témoins) devant refléter trois niveaux d'exposition différents;
- le service d'appartenance: les risques d'exposition, l'expérience du personnel et la prise en considération de la dangerosité de ces produits pouvant différer d'un service à l'autre. Les échantillons proviennent des services d'oncologie, de rhumatologie, de pneumologie et de pédiatrie, cette information a été codée pour la suite de l'étude;
 - le sexe;
 - le tabagisme (le tabac est pris en compte en raison de sa consommation radicalaire [cf. test d'évaluation de la consommation radicalaire]);
 - l'âge;
 - l'ancienneté dans l'emploi.

Seuls les médicaments les plus employés à l'hôpital de Pontoise [6] et classés par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) font l'objet d'une recherche urinaire, à savoir: les dérivés du platine (cisplatine, carboplatine, oxaliplatine classés groupe 2A: *probablement cancérigènes pour l'homme*), le cyclophosphamide (classé groupe 1: *cancérigène pour l'homme*) et deux inhibiteurs des topoisomérases (la doxorubicine et l'épirubicine classés 2B: *peut être cancérigène pour l'homme*).

Pour cette étude, les cytostatiques ont été recherchés dans les urines des personnes exposées, cette matrice biologique étant préférée en médecine du travail. Les urines sont recueillies, après au moins deux jours consécutifs de travail, avant de quitter l'hôpital, dans des flacons standards individualisés puis transférées dans des tubes Urine-Monovette®.

ENCADRÉ 1

Réactifs et consommables

- Acide nitrique pureté supérieure à 69,5 % pour analyse de traces (Fluka®)
- Argon (Messer®)
- Butanol-1 pureté supérieure à 99,5 % (Riedel-de Haën®)
- Carboplatine (Teva®) 50 mg/5 ml
- Cisplatine (Merck®) 10 mg/10 ml
- Cônes de 200 µl (Greiner Bio-one®)
- Cônes de 5 ml (Greiner Bio-one®)
- Eau purifiée sur système Millipore® gradient A10 équipé de cartouches Q Gard I et Quantum EX et d'un filtre Millipark 0,22 µm
- Etalon interne ICP-MS-59N-1 10g/l (Techlab®)
- Solution multiélémentaire: ICP-MS Calibration Standard 3 (10 éléments) 10 mg/l dans 10 % d'acide chlorhydrique, lot n° B4085028 (Techlab®)
- Solution multiélémentaire: ICP-MS Quality Control Sample 2 (25 éléments) 10 mg/l dans 5 % d'acide nitrique, lot n° B3025100 (Techlab®)
- Triton X100 solution pour biologie moléculaire (Fluka®)
- Tubes en polystyrène de 15 ml (Sarstedt®)
- Tubes pour prélèvement d'urine Urine-Monovette (Sarstedt®)
- Urine certifiée, Standard Reference Material® 2670a: Toxic Elements in Urine (Freeze-Dried) (National Institute of Standards & Technology)
- Urine de personne non exposée aux cytostatiques

Le potentiel de défense antiradicalaire du sang et des érythrocytes et l'efficacité antiradicalaire du plasma et des urines ont été déterminés à partir de prélèvements sanguins veineux sur acide éthylène-diamino-tétra-acétique (EDTA) et des urines contenues dans les tubes Urine-Monovette®.

Tous les appareils de pesée et de mesure de volume sont contrôlés régulièrement selon les règles en vigueur par le service de métrologie de l'Institut de recherche criminelle de la Gendarmerie nationale, les matériels utilisés étaient conformes à ces exigences lors de leur emploi.

RECHERCHE ET DOSAGE DU PLATINE URINAIRE [12, 13]

La contamination éventuelle par les dérivés de platine est appréciée par le dosage de la platine urinaire, ce type de dosage a déjà été mené dans des études de pharmacocinétiques [14] ou de surveillance de personnel hospitalier [15, 16].

Instrumentation (photo 1)

Les échantillons ont été analysés (trois mesures distinctes par analyse) avec une torche à plasma couplée à un spectromètre de masse ThermoElectron Série X modèle X7/CCT (ICP-MS). L'appareil est équipé d'une torche en quartz de 1,5 mm, d'un nébuliseur concentrique en verre borosilicaté de 1 ml, d'une chambre de nébulisation en quartz munie d'un refroidisseur à effet Peltier⁽¹⁾ régulant sa température à 3°C, d'un passeur d'échantillons de type CETAC ASX-510 et d'un autodiluteur ID100. Les paramètres d'analyse sont décrits dans le [tableau I](#). L'ensemble des données a été enregistré et exploité sur une station informatique dotée du logiciel d'analyse PlasmaLab® version 2.2 sous Windows 2000®.

Les réactifs et consommables qui ont été utilisés sont listés dans l'[encadré I](#).

Vérification de la validité de la méthode

La méthode a été optimisée et validée par l'équipe de J.P. Goullé [12, 13]. Sa validation, pour cette étude, a été réduite à son strict minimum : exploration de la linéarité, confirmation de l'exactitude et estimation des limites de détection et de quantification.

En préambule à cette validation, des essais menés sur des urines exemptes de cytostatiques, avant et après surcharge en cisplatine et en carboplatine, ont permis de prouver l'augmentation du taux de platine

Paramètres instrumentaux de l'ICP-MS.

Puissance de la torche		1 200 W
Débits d'argon	Plasmagène	14,0 l/min
	Nébuliseur	0,77 l/min
	Auxiliaire	0,90 l/min
Interface	Cônes échantillonneurs et écorceur en nickel de type Xi	
	Vide au niveau de l'interface	2,4 mbar
	Vide au niveau du quadripôle	$6,4 \cdot 10^{-7}$ mbar



© O. Roussel

Photo 1

urinaire mesuré ($p < 1.10^{-12}$: Analyse de variance [ANOVA] à un facteur par bloc complet, trois modalités et cinq répétitions par modalités, homoscedasticité⁽²⁾ vérifiée par un test de COCHRAN).

De façon exploratoire, des urines de patients traités par chimiothérapie ont été analysées. Les résultats se sont répartis entre 106 et 204 ng de platine par gramme de créatinine urinaire et ont semblé supérieurs à ceux des sujets de l'étude (médiane à 0,7 ng de platine par gramme de créatinine urinaire) mais un manque de puissance lié au très faible nombre de ces urines ($n = 2$) n'a pas permis de mettre en évidence cette différence ($p \approx 10\%$).

La linéarité a été explorée par l'analyse de gammes de calibration établies par ajouts dosés de platine dans des urines exemptes de cytostatiques de 12,5 ng/l à 19,61 µg/l. Le modèle mathématique approprié est du type: $y = ax + b$, le coefficient de corrélation calculé est supérieur à 0,999.

L'exactitude de la méthode a été confirmée par l'analyse d'une urine certifiée diluée précisément au centième et au millième et pour laquelle, les résultats de chaque type de dilution sont conformes aux attentes.

En raison de la spécificité et de la grande sensibilité de la méthode pour le platine, la limite de détection a été déterminée à 1 ng/l, concentration à laquelle les coefficients de variations des 3 mesures n'excèdent pas

TABLEAU I

(1) L'effet Peltier consiste en un effet thermo-électronique qui se manifeste en fonction du sens du courant traversant une jonction constituée par deux métaux conducteurs soit par absorption, soit par dégagement de chaleur.

(2) L'homoscedasticité consiste en l'homogénéité des variances

50 %, la limite de quantification est alors fixée à cette même concentration.

Préparation des gammes d'étalonnage

Les gammes d'étalonnage ont été réalisées à partir d'urines exemptes de cytostatiques surchargées par une solution de platine. Les concentrations finales correspondaient à la concentration des urines ajoutée respectivement pour les neuf solutions d'étalonnage de : 0; 12,5; 24,9; 49,7; 9,99; 249,4; 497,5; 990,1; 1960,7 ng/l. Celles-ci ont ensuite été traitées comme les échantillons.

Préparation des échantillons

Dans un tube de 15 ml en polystyrène, 2 ml de chaque échantillon urinaire (et de chaque solution de gamme) sont dilués au 5^e dans une solution d'acide nitrique 0,216 mol/l à 0,5 % de butanol (v/v⁽³⁾) et 0,01 % de triton X100 (v/v). Les tubes ont ensuite été agités puis isolés en chambre froide pendant au moins 12 heures. À l'issue, leur contenu a été filtré vers un nouveau tube de 15 ml en polystyrène puis analysé par ICP-MS (cf. instrumentation).

(3) v/v = volume à volume

RECHERCHE DU CYCLOPHOSPHAMIDE, DE LA DOXORUBICINE ET DE L'ÉPIRUBICINE URINAIRES

La contamination éventuelle par le cyclophosphamide, la doxorubicine et l'épirubicine a été appréciée

TABLEAU II

Paramètres de gradient d'élution.

Temps en minutes	Tampon acétate d'ammonium à	Acétonitrile pour HPLC-MS
0	95 %	5 %
25	60 %	40 %
30	2 %	98 %
35	2 %	98 %
40	95 %	5 %
45	95 %	5 %

TABLEAU III

Paramètres de la chambre de nébulisation.

Gaz rideau	Température	300 °C
	Débit	8 l/min
Gaz de nébulisation		166,667 kPa
Haute tension	Polarité positive	4 500 V
	Polarité négative	3 500 V



© O. Roussel

Photo 2

par leur recherche (sous forme inchangée) dans les urines; ce type d'analyse a déjà été mené dans des études de pharmacocinétiques [17, 18, 19, 20] ou de surveillance de personnel hospitalier [15].

Instrumentation (photo 2)

Après séparation par chromatographie liquide haute pression, les échantillons ont été analysés par spectrométrie de masse en mode single ion monitoring (SIM), par spectrophotométrie ultraviolet (UV) de 190 à 400 nm et visible de 400 à 800 nm et par spectrofluorimétrie visible après excitation à 490 nm, lecture à 590 nm [21] et acquisition d'un spectre de 520 nm à 800 nm.

Le chromatographe Agilent série 1100 est composé d'un dégazeur G1322A, d'une pompe binaire G1312A, d'un passeur d'échantillon G1313A, d'un bloc colonne G1316A, d'un détecteur UV-Visible à barrette de diodes G1315B, d'un spectrofluorimètre G1321A et d'un spectromètre de masse G1946D. L'ensemble des données a été enregistré et exploité sur une station informatique dotée du logiciel d'analyse LC/MSD Chem Station® Rev. A.09.01 sous Windows NT®.

Les composés sont séparés sur une colonne XTerra® MS C18 (particules de 3,5 µm, diamètre 3 mm, longueur 150 mm) thermostatée à 30°C. En sortie de colonne, le flux de phase mobile est scindé par un diviseur de flux à vis millimétrique. L'élution est organisée en gradient de phase avec un débit constant de 0,6 ml/min selon la programmation présentée au *tableau II*.

Les spectres UV-Visible sont acquis de 190 nm à 800 nm avec un pas de 2 nm. L'analyse spectrofluorimétrique est menée après une excitation à 490 nm par une mesure spécifique à 590 nm et l'acquisition d'un spectre de 520 nm à 800 nm avec un pas de 2 nm et un gain de 15.

La chambre de nébulisation est réglée selon les indications du *tableau III*. Les paramètres d'acquisition



en mode SIM sont récapitulés dans le *tableau IV*, aucune tension de fragmentation n'est employée.

Les réactifs et consommables utilisés sont listés dans l'*encadré 2*.

Vérification de la validité de la méthode

La méthode mise en œuvre doit permettre la détection de traces résiduelles de doxorubicine, d'épirubicine et de cyclophosphamide éventuellement présentes dans les urines des personnes exposées. Sa validation a consisté en une détermination des seuils de détection mais l'hypothétique gradation des concentrations rencontrées a incité à en explorer les qualités de quantification, sans aucune idée d'optimisation du dosage.

En préambule à cette validation, des essais menés sur des urines de patients traités par chimiothérapie ont permis de confirmer la présence de cyclophosphamide sous forme inchangée dans les urines à des taux largement supérieurs au domaine de linéarité envisagé.

Les concentrations en cytostatiques, objets de cette étude, ont été estimées à partir des signaux en masse des ions pseudomoléculaires 261 pour le cyclophosphamide, 544 pour la doxorubicine et l'épirubicine et 207 pour l'étalon interne de recouvrement (la simazine pentadéutérée) et à partir des signaux de fluorescence à 590 nm pour la doxorubicine et l'épirubicine (récapitulatif des données au *tableau V*). Des essais avec un étalon interne d'extraction (tertbutylazine pentadéutérée) ont été menés mais la linéarité et l'exactitude sans celui-ci suffisent aux exigences, son emploi a été abandonné.

La linéarité du modèle mathématique de réponse a été testée à partir de deux gammes constituées chacune de six solutions d'urines surchargées à 0 ; 1 ; 5 ; 10 ;

Paramètres d'acquisition du détecteur de masse.

Temps en minutes	Molécule recherchée	Ion en masse/charge	Polarité
16 à 19	Cyclophosphamide	261	Positive
		263	
		265	
16 à 19	Adduit Cyclophosphamide-Acétate	319	Négative
		321	
		323	
19 à 27	Simazine Pentadéutérée	207	Positive
		209	
19 à 25	Soxorubicine et Epirubicine	544	Positive
		545	
		546	
19 à 25	Doxorubicine et Epirubicine	542	Négative
		543	
		544	
27 à 35	Tertbutylazine pentadéutérée	235	Positive
		237	

TABLEAU IV

Récapitulatif des signaux exploités.

Molécule	Dosage en masse	Dosage en fluorescence
Cyclophosphamide	-	
Doxorubicine	-	Aire du pic à 590 nm
Epirubicine	-	

TABLEAU V

30 et 50 ng/ml. Pour l'ensemble des molécules et des modes de détecteurs testés :

- les variances étaient homogènes (tests de Cochran) ;

- les tests d'existence de la pente étaient tous significatifs (analyse de régression linéaire simple), il existait une dépendance linéaire entre les concentrations testées et les signaux observés ;

Réactifs et consommables

- Acétate d'ammonium (Prolabo®) ou acétate d'ammonium pour HPLC (Fluka®) ;
- Acétonitrile gradient grade pour chromatographie en phase liquide - Lichrosolv. (Merck®) ou acétonitrile pour HPLC/MS - Chromasolv. (Riedel-de Haën®)
- Acide acétique Normapur (Prolabo®) ou acide acétique pureté > 99% (Fluka®)
- Cônes 200 µl et cônes 1 ml (Greiner Bio-one®)
- Cônes 5 ml Finntip (Thermoelectron®)
- Cônes pour Multipette (Eppendorf®)
- Cyclophosphamide, Endoxan® 500 mg (Baxter®)
- Dichlorométhane pour analyses de résidus organiques (J.T.Baker®)
- Doxorubicine (Dakota Pharm®) 10 mg

- Eau purifiée sur système Millipore® gradient A10 équipé de cartouches Q Gard I et Quantum EX et d'un filtre Millipark 0,22 µm
- Epirubicine, Farmorubicine® (Pharmacia®) 50 mg/25 ml
- Hydrogénophosphate de di-potassium (Carlo Erba®)
- Méthanol pour HPLC/MS - Chromasolv (Riedel-de Haën®)
- Propanol-2 pour analyses de résidus organiques (J.T.Baker®) ou propanol-2 pour chromatographie en phase gazeuse - Suprasolv. (Merck®)
- Simazine pentadéutérée (Dr Ehrenstorfer GmbH®)
- Tertbutylazine pentadéutérée (Dr Ehrenstorfer GmbH®)
- Tubes en polypropylène de 15 ml (Greiner Bio-one®)
- Tubes en polypropylène de 50 ml (Greiner Bio-one®)
- Tubes pour prélèvement d'urine Urine-Monovette (Sarstedt®)
- Urines de personne non exposée aux cytostatiques

ENCADRÉ 2



■ les tests de validité des ajustements n'étaient pas significatifs (analyse de régression linéaire simple), l'ajustement linéaire était valide;

■ tous les modèles mathématiques validés étaient du type $y = ax + b$;

■ le domaine de linéarité s'étendait de 0 à 50 ng/ml.

Par la suite, les gammes d'étalonnage produites pour chaque série d'échantillons ou de validation ont été constituées à partir de deux urines exemptes de molécules d'intérêts surchargées avec une solution mixte de cytostatiques (doxorubicine, épirubicine, cyclophosphamide, cisplatine et carboplatine, tous à 500 µg/l) à 0; 5 et 25 ng/ml, soit six solutions de gammes.

L'exactitude de la méthode a été approchée par l'analyse répétée (quatre répétitions) de sept solutions d'urine surchargée, en absence de solution certifiée commercialisée. Les concentrations testées s'échelonnent de 1 à 50 ng/ml. Pour l'ensemble des molécules et des modes de détections testés:

■ les variances étaient homogènes (tests de Cochran);

■ le test de comparaison des erreurs intragroupe (même solution analysée quatre fois) et intergroupe (moyenne des sept solutions différentes) n'était pas significatif, les erreurs observées étaient dues aux erreurs expérimentales et aux fluctuations d'échantillonnage;

■ les recouvrements moyens avaient des intervalles de confiance compris entre 96 et 114 % des valeurs théoriques, ces limites sont acceptables;

■ le domaine d'exactitude s'étendait de 1 à 50 ng/ml.

La fidélité et la robustesse de la méthode ont été testées simultanément dans un souci d'économie de moyens lors de l'exploration des qualités d'une méthode qualitative. L'étude a porté sur trois urines différentes surchargées respectivement à 10; 12,5 et 50 ng/ml et analysées six fois chacune selon les modalités fixées suite à l'étude d'exactitude. Chaque urine a été analysée à un jour différent, avec une gamme d'étalonnage différente et des réactifs différents (différentes sources de solvants, d'acétate d'ammonium, d'acide acétique, de capsules à sertir, etc.). Pour l'ensemble des molécules et des modes de détections testés, la méthode développée pour ces cytostatiques a permis d'estimer convenablement (incertitude maximale inférieure à 50 %) leurs concentrations urinaires.

Préparation des gammes d'étalonnage

Les gammes d'étalonnage ont été réalisées à partir d'urines de personnel du laboratoire surchargées par une solution mixte de cytostatiques (doxorubicine,

épirubicine, cyclophosphamide, cisplatine et carboplatine) à 500 µg/l. Les concentrations finales correspondaient à 0; 5 et 25 ng/ml. Les solutions de gammes obtenues ont ensuite été traitées comme les échantillons.

Préparations des échantillons

Dans un tube de 15 ml en polypropylène, 5 ml de chaque échantillon (et de chaque solution de gamme) ont été dilués au demi par une solution d'hydrogénophosphate de di-potassium à 1 mol/l. Cette phase aqueuse a alors été extraite par 5 ml d'un mélange de dichlorométhane et de propanol-2 à 90/10 v/v. Les tubes ont été agités pendant au moins 30 minutes. La phase organique a été recueillie dans des tubes à hémolyse en verre borosilicaté puis évaporée à sec sous flux d'air. Le résidu sec a été repris par 10 µl de la solution méthanolique de simazine pentadeutéree et 100 µl de la phase mobile (solution d'acétate d'ammonium à 5 mmol/l et d'acide acétique à 1 % v/v), la solution a été homogénéisée par ultrasons pendant au moins 10 minutes puis centrifugée. Les surnageants ont été placés en flacons de 2 ml avec réducteur et 50 µl ont été analysés en chromatographie liquide haute performance selon les modalités définies.

TEST D'ÉVALUATION DE LA CONSOMMATION DES DÉFENSES ANTIRADICALAIRES⁽⁴⁾

Les professionnels de santé, objet de cette étude, s'exposent à des substances aux nombreux mécanismes toxiques. Ces molécules ont en commun la capacité d'induire, directement ou indirectement (le cyclophosphamide par l'intermédiaire de son métabolite: l'acroléine), la formation des espèces réactives de l'oxygène telles que le radical superoxyde ou le peroxyde d'oxygène (cette propriété est abondamment documentée, entre autres [22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29]). Les tests KRL, qui apprécient la consommation des défenses antiradicalaires, ont été proposés afin d'observer l'éventuelle réduction de ces capacités liée à la détoxification des cytostatiques. Il s'agit donc d'une méthode de mesure indirecte de l'exposition aux cytostatiques.

Les capacités sanguines et urinaires de défense antiradicalaire ont donc été déterminées par ce test [30, 31, 32]. Il consiste à déterminer le temps de demi-hémolyse des hématies, présentes dans la prise d'essai, exposées à un agent radicalaire. Ce temps de demi-hémolyse reflète directement les capacités antiradicalaires des échantillons, toute diminution étant associée à une baisse des capacités et inversement. L'hémolyse

(4) Ce test a été développé sous le nom de test KRL par les laboratoires SPIRAL S.A à Dijon.

est appréciée par la mesure dynamique de la décroissance de la densité optique à 620 nm.

Les prélèvements sanguins et les fractions érythrocytaires ont été dilués au 25^e dans une solution saline isotonique. Un aliquote de chacune des solutions obtenues, déposé dans un puit de microplaque, a été exposé au radical produit par la décomposition thermique à 37°C de dihydrochlorure de 2,2'-azobis(2-amidino-propane) en solution à 27 mmol/l. La mesure dynamique à 620 nm a été effectuée par photomètre pour plaque « 96 puits ». Le temps de demi-hémolyse ($T_{1/2}$) est exprimé en minute. La mesure des $T_{1/2}$ est très reproductible, le coefficient de variation est de 4 %.

Le $T_{1/2}$ sanguin, ou potentiel antiradicalaire sanguin, est déterminé sur l'échantillon sanguin total, le $T_{1/2}$ érythrocytaire, ou potentiel antiradicalaire érythrocytaire, est déterminé sur les hématies isolées à partir du prélèvement. L'efficacité antiradicalaire plasmatique est déterminée par le calcul suivant et exprimée en pourcentage.

$$\text{Efficacité plasmatique} = \frac{T_{1/2} \text{ Sang} - T_{1/2} \text{ Erythrocytes}}{T_{1/2} \text{ Sang}}$$

L'efficacité antiradicalaire urinaire est déterminée, après analyse d'un sang témoin en présence ou non de l'urine testée, par le calcul suivant et exprimée en pourcentage.

$$\text{Efficacité urinaire} = \frac{T_{1/2} (\text{Sang témoin} + \text{urine}) - T_{1/2} \text{ Sang témoin}}{T_{1/2} \text{ Sang}}$$

Résultats

Pour tous les tests statistiques mis en œuvre ci-après, le risque de première espèce (α) a été choisi à 5 %. Les tests non significatifs sont désignés N.S., les tests significatifs sont désignés par la probabilité calculée.

PLATINE URINAIRE

Le platine urinaire a été recherché et dosé dans 77 échantillons provenant du personnel de trois services prescrivants et préparant des chimiothérapies (service 1: 26 échantillons, service 2: 19 échantillons, service 3: 21 échantillons) et du personnel volontaire du service de biochimie (11 échantillons), tous travaillent au centre hospitalier de Pontoise.

Les prélèvements ont été analysés dans l'ordre de leur arrivée au laboratoire en quatre séries. Leur répartition au sein des séries n'était pas homogène mais la superposition des quatre gammes d'étalonnage (coefficient de corrélation > 0,99) et l'exactitude des mesures des urines certifiées de contrôle (coefficient de variation \approx 3 %) ont permis de considérer les résultats dans leur ensemble.

La répartition de ces résultats est schématisée en *figure 1* (les échelles des concentrations et des intensités sont tronquées pour une meilleure lecture). Ce schéma présente en comparaison une répartition normale ayant la même moyenne et la même variance que l'échantillon. Lors des études statistiques, toutes les

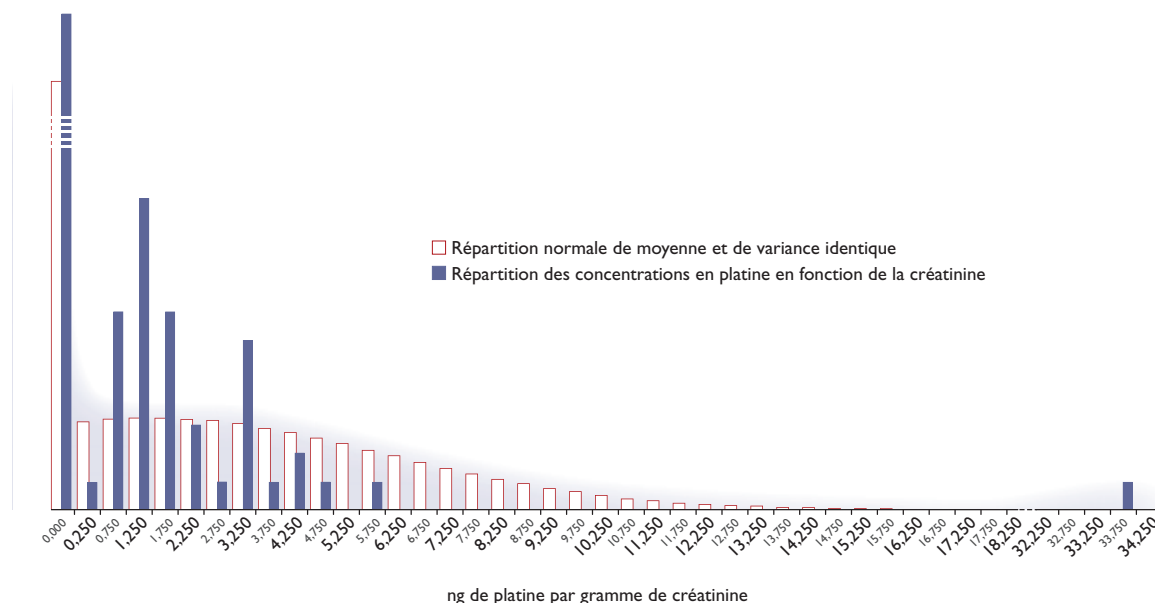


Fig. 1 : Répartition des concentrations urinaires de platine en fonction de la créatinine urinaire.

concentrations inférieures à la limite de détection ont reçu comme résultat 0 ng de platine par gramme de créatinine, la première classe des résultats est alors constituée de ces résultats, la première classe de la répartition normale est constituée par la somme des probabilités des valeurs négatives que le modèle statistique engendre.

La répartition de l'échantillon a été testée contre une répartition normale et s'est avérée être différente de celle-ci (test Khi^2 : $p < 1\%$).

La fonction au sein du service a été considérée comme le facteur principal de l'étude statistique, comme déjà précisé, ce facteur a trois modalités:

- infirmière ou adjointe de soins hospitaliers (Inf/ASH): classe qui regroupe les personnes potentiellement les plus exposées;
- médecin ou secrétaire médicale (Med/Sec): classe intermédiaire, ces personnes ne manipulent pas directement les cytostatiques mais évoluent dans un environnement potentiellement contaminant;
- témoin (Tem): classe de personnes non exposées.

La répartition des résultats selon chacune de ces modalités a été comparée à une répartition normale selon un test Khi^2 quand cela a été possible (Inf/ASH, test Khi^2 : $p < 1\%$). Comme les résultats ne suivaient pas une loi normale, les tests statistiques mis en œuvre étaient des tests non paramétriques.

Les trois échantillons (Inf/ASH; Med/Sec et Tem) ont été comparés entre eux selon un test de Kruskal-Wallis (KW). Toutes les séries avaient des effectifs supérieurs à dix, les conditions d'applications étaient vérifiées. Aucune différence entre les moyennes des trois échantillons n'a pu être mise en évidence (test KW: N.S.).

Pour la population la plus exposée (Inf/ASH), un facteur secondaire a été proposé: le service hospitalier d'emploi. En effet, les équipements et les infrastructures diffèrent entre ces services et peuvent engendrer des expositions diverses. La comparaison des échantillons d'infirmiers a été menée selon un test KW, aucune différence n'a pu être mise en évidence (test KW N.S.).

Les précédents tests n'ayant pas mis en évidence de différences entre les échantillons selon les facteurs les plus évidents *a priori*, sur le même principe et à partir des données collectées, des différences, selon l'ancienneté, le tabagisme, le service, le sexe, l'âge et la série de mesurage, ont été testées. À chaque fois l'hypothèse d'égalité des moyennes n'a pu être rejetée (tests KW N.S.). L'égalité des moyennes selon la série de mesurage a confirmé l'idée formulée *a priori* sur la comparabilité des résultats.

Un résultat observé chez une personne du groupe Inf/ASH (33,5 ng de platine par gramme de créatinine) s'est distingué franchement de la population observée.

CYCLOPHOSPHAMIDE, DOXORUBICINE ET ÉPIRUBICINE URINAIRE

Le cyclophosphamide, la doxorubicine et l'épirubicine ont été recherchés dans les urines de 80 personnes travaillant soit dans l'un des quatre services prescrivant et préparant des chimiothérapies (service 1: 27 échantillons, service 2: 19 échantillons, service 3: 21 échantillons, service 4: 2 échantillons) soit dans le service de biochimie (11 échantillons) du centre hospitalier de Pontoise.

La doxorubicine et l'épirubicine n'ont jamais été détectées (concentration inférieure à la limite de détection à 1 ng/ml), le cyclophosphamide n'a été décelé que chez une personne du groupe Inf/ASH à une concentration comprise entre 1 et 5 ng/ml.

TEST D'ÉVALUATION DE LA CONSOMMATION DES DÉFENSES ANTIRADICALAIRES

Potentiel antiradicalaire sanguin et érythrocytaire, efficacité antiradicalaire plasmatique

Les potentiels antiradicalaires du sang et des érythrocytes ont été déterminés sur 90 prélèvements sanguins provenant du personnel des quatre services prescrivant et préparant des chimiothérapies (service 1: 27 échantillons, service 2: 20 échantillons, service 3: 28 échantillons, service 4: 4 échantillons) et le personnel volontaire du service de biochimie (11 échantillons).

Les répartitions de ces résultats sanguins et érythrocytaires sont schématisées en *figure 2* et *3*. Comme précédemment, ces schémas présentent en comparaison une répartition normale ayant la même moyenne et la même variance que l'échantillon. Les répartitions des résultats sanguins et érythrocytaires ont été testées contre une répartition normale et ne s'en écartent pas (tests Khi^2 tous deux N.S.).

La fonction au sein du service est toujours considérée comme le facteur principal de l'étude statistique. La répartition des résultats selon chacune de ces modalités a été comparée à une répartition normale soit selon un test Khi^2 quand cela a été possible (Inf/ASH, Khi^2 tous deux N.S.).

Les résultats ont semblé se répartir selon une loi normale, les tests statistiques mis en œuvre sont des tests paramétriques.

Pour le sang et les érythrocytes, les trois échantillons (Inf/ASH; Med/Sec et Tem) ont été comparés entre eux selon une analyse de variance (ANOVA). En raison de la différence de taille des échantillons, l'homos-

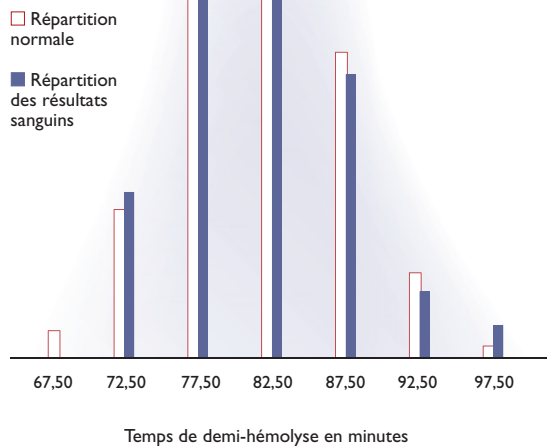


Fig. 2: Répartition totale des potentiels antiradicaux sanguins.

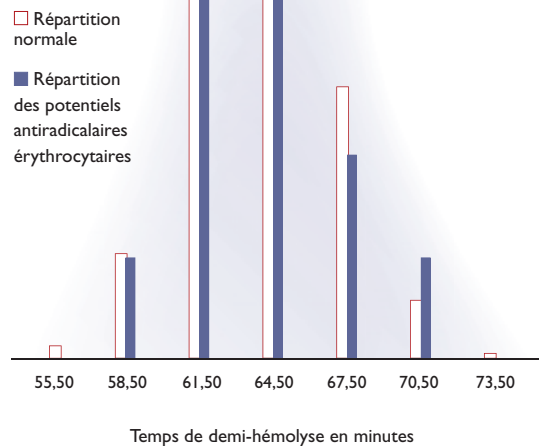


Fig. 3: Répartition totale des potentiels antiradicaux érythrocytaires.

célasticité a été vérifiée soit par un test de Bartlett (N.S.), soit par un test de Levene (N.S.). Les conditions d'applications ont été vérifiées. Aucune différence entre les moyennes des trois échantillons n'a pu être mise en évidence (ANOVA tous deux N.S.).

Sur le même principe que pour le dosage du platine urinaire, une éventuelle différence liée au service d'emploi des infirmiers est recherchée. La comparaison des échantillons d'infirmiers a été menée par ANOVA, après avoir vérifié l'homogénéité des variances (Bartlett, tous deux N.S.). Aucune différence n'a pu être mise en évidence (ANOVA tous deux N.S.).

Les précédents tests n'ont pas mis en évidence de différences entre les échantillons selon les facteurs les plus évidents *a priori*. D'autres facteurs exploitables ont alors été envisagés à partir des données collectées, les corrélations ont été testées, leurs résultats sont portés dans le [tableau VI](#).

Enfin, les précédents tests n'ayant pas mis en évidence de différences entre les échantillons, sur le même principe et à partir des données collectées et après avoir vérifié l'homogénéité des variances par des tests de Bartlett (tous les six N.S.), des différences de potentiel antiradicalaire sanguin ou érythrocytaire selon le tabagisme, le service et le sexe ont été testées. À chaque fois l'hypothèse d'égalité des moyennes n'a pu être rejetée (ANOVA tous les six N.S.).

L'efficacité antiradicalaire plasmatique, obtenue par calcul à partir des potentiels sanguins et érythrocytaires, est fortement corrélée à l'activité sanguine (Test du coefficient de corrélation $t^{(0.05; 88 \text{ ddl})} p < 1.10^{-10}$), il n'est donc pas envisagé d'en étudier le comportement.

Tests de corrélation des potentiels antiradicaux.

Potentiel antiradicalaire sanguin			
Paramètre	Inf/ASH	Med/Sec	Tem
Ancienneté	N.S.	N.S.	N.S.
Âge	N.S.	N.S.	N.S.
Potentiel antiradicalaire érythrocytaire			
Paramètre	Inf/ASH	Med/Sec	Tem
Ancienneté	$r^{(0.05; 44)} p < 5 \%$	N.S.	N.S.
Âge	$r^{(0.05; 44)} p < 2 \%$	N.S.	N.S.

Efficacité antiradicalaire urinaire

L'efficacité antiradicalaire urinaire a été évaluée sur 76 urines issues des personnes des quatre services (service 1: 27 échantillons, service 2: 17 échantillons, service 3: 19 échantillons, service 4: 2 échantillons) et du service de biochimie (11 échantillons). L'efficacité urinaire déterminée lors des analyses a été rapportée à la créatinine urinaire afin de tenir compte de l'état de la fonction urinaire.

La répartition de ces résultats urinaires est schématisée en [figure 4](#) (page suivante). Comme précédemment, ces schémas présentent en comparaison une répartition normale ayant la même moyenne et la même variance que l'échantillon. La répartition des résultats urinaires a été testée contre une répartition normale et ne semble pas suivre une loi normale (test $\text{Khi}^2 p < 1.10^{-25}$).

La répartition des résultats selon chacune des trois classes (Inf/ASH, Med/Sec et Tem) a été ensuite comparée à une répartition normale, quand cela a été

TABLEAU VI

possible, selon un test Khi^2 (Inf/ASH, $\text{Khi}^2 p < 2.10^{-3}$). Les résultats ne se répartissaient pas selon une loi normale, les tests statistiques mis en œuvre étaient des tests non paramétriques.

Comme pour le dosage de platine urinaire, les trois échantillons (Inf/ASH; Med/Sec et Tem) sont comparés entre eux selon un test KW. Toutes les séries avaient des effectifs supérieurs à 10, les conditions d'applications sont vérifiées. Aucune différence entre les moyennes des trois échantillons n'a pu être mise en évidence (test KW: N.S.).

Les résultats des infirmiers ont ensuite été comparés selon le service d'emploi. Les effectifs étaient supérieurs à 10, les conditions de validation étaient vérifiées. La comparaison a été menée selon un test KW, aucune différence n'a pu être mise en évidence (N.S.). Enfin, comme précédemment, des différences selon l'ancienneté, le tabagisme, le service, le sexe, l'âge et la série de mesurage ont été testées. Exceptions faites de l'ancienneté ($p < 1 \%$) et de l'âge ($p < 3 \%$), les hypothèses d'égalité des moyennes n'ont pu être rejetées (tests KW N.S., conditions d'application vérifiées). Un test de corrélation des rangs selon Spearman a été mené pour l'ancienneté ($p < 0,02$) et pour l'âge (N.S.).

Discussion

La recherche de cytotostatiques urinaires, méthode de grande spécificité, infirme ou confirme la présence de ces molécules dans les urines de malades traités ou de personnes exposées [17, 18, 19, 20]. Le dosage du platine urinaire, de spécificité intermédiaire, renseigne sur les quantités de platine excrété. Toute exposition contaminante à ce métal ou à ses dérivés peut potentiellement augmenter son élimination urinaire. Mais, le platine étant un élément rare, l'hypothèse la plus probable, déjà retenue lors d'autres études [15, 16], est que chez les personnels, manipulant les cytotostatiques dérivés du platine, la contamination provient des médicaments. Les patients traités par ces molécules ont d'ailleurs des concentrations urinaires en platine hautement augmentées.

Si ces deux premières méthodes renseignent sur l'éventuelle contamination d'un individu, elles ne sont plus associées à des effets toxiques dès que les concentrations deviennent infratoxiques ou infrathérapeutiques. Et dans l'hypothèse d'une intoxication à de faibles doses pendant une longue période de temps (plusieurs années voire quelques décennies), elles doivent être complétées par des méthodes moins spécifiques qui expriment directement ou indirectement un mécanisme toxique.

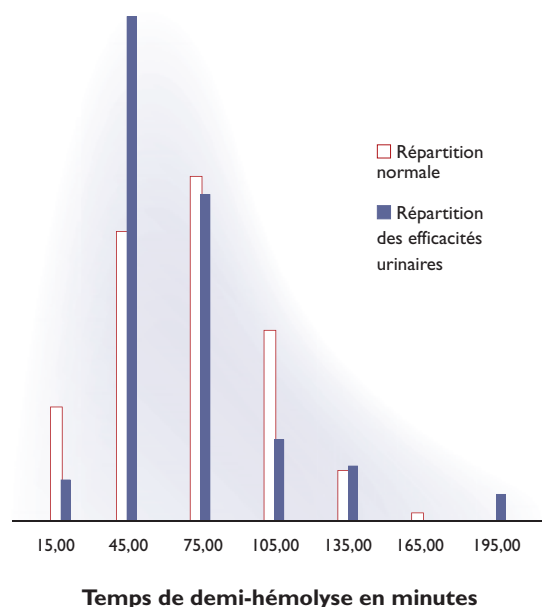


Fig. 4: Répartition totale des efficacités antiradicalaires urinaires.

Pour cette étude, l'exploration des capacités antiradicalaires de l'urine, du sang et de ses fractions par un test KRL [31, 32] a été choisie. Cette méthode détermine les capacités de résistance des érythrocytes présents dans la prise d'essai à une attaque radicalaire maîtrisée. Exploité dans ces différentes combinaisons, ce test renseigne sur les capacités antiradicalaires d'un individu, c'est-à-dire sur l'état de tous les systèmes de défense antiradicalaire. En cas de consommation de ces capacités de défense, par des phénomènes toxiques ou pathologiques, le temps de lyse des hématies est réduit, à l'inverse en cas d'apport exogène en substances antioxydantes ou en leurs précurseurs par exemple, le temps de lyse des hématies est augmenté [28, 33]. Le test KRL complète les premières méthodes par son approche globale de la toxicité, que les substances toxiques interagissent directement par des mécanismes radicalaires ou indirectement par des mécanismes oxydatifs. Ce test n'étant pas spécifique des cytotostatiques, il convient de rechercher une éventuelle corrélation entre les résultats obtenus et les facteurs choisis.

Le choix *a priori* de classer les échantillons en fonction de leur risque potentiel (Inf/ASH, Med/Sec, Tem) est arbitraire mais reflète la réalité des expositions. Les risques d'exposition aux cytotostatiques sont plus importants lors des reconstitutions de traitements, lors de leur administration parentérale et lors des soins des patients. Plus vraisemblablement, les médecins et les secrétaires médicales travaillent dans des lieux

jouxtant les salles de préparations ou au chevet des patients mais ne sont pas en contact direct avec les substances, ils s'exposent à un risque intermédiaire. Les témoins négatifs choisis travaillent à l'hôpital, afin de minimiser l'influence des facteurs secondaires non envisagés, comme l'environnement global de travail et de vie, le stress à l'emploi, le rythme de travail, la zone géographique d'habitation, etc.

Le déséquilibre entre les échantillons de population réduit la puissance des tests statistiques employés mais il n'a pas été possible d'accéder à plus de prélèvements de patients (groupe de témoins positifs, ils n'ont pas pu être recrutés dans les délais impartis pour cette étude), de témoins négatifs, de médecins et de secrétaires (le personnel du service de biochimie et les médecins et secrétaires des services étant moins nombreux que les infirmiers et les ASH des quatre services médicaux concernés). L'étude sur un seul hôpital souffre d'un déséquilibre de répartition des populations.

Par ailleurs, le recrutement était basé sur le volontariat avec consentement, il n'a pas toujours été possible de disposer de tous les prélèvements ou de toutes les informations pour chaque individu. L'exclusion des recueils incomplets aurait accru les différences de taille entre les populations, c'est pourquoi les analyses ont été réalisées à partir du maximum de données exploitables.

Ces manquements réduisent la portée de l'étude mais celle-ci garde un intérêt exploratoire évident, les informations obtenues, orientant de futurs travaux, doivent être confirmées par une étude de plus grande envergure, regroupant plusieurs hôpitaux ou les groupes pourraient être recrutés en quantité adéquate.

Ainsi, après la recherche de cyostatiques ou du platine urinaires et à l'exception de deux résultats, les échantillons n'ont pas permis d'identifier de population surexposée. Les résultats offrent des possibilités réduites d'étude statistique mais accréditent l'hypothèse d'une faible contamination des personnes par les cyostatiques. Si les méthodes employées sont déjà hautement spécifiques et sensibles, il reste envisageable, analytiquement, d'en améliorer la sensibilité. Ces optimisations augmenteraient le coût des analyses sans forcément apporter au médecin de nouvelle information sur le risque encouru. En revanche, ces résultats s'associent à des résultats au test KRL cohérents. Les tests semblent avoir une bonne valeur prédictive négative, qu'il conviendra de confirmer.

Lors de la recherche d'un facteur concomitant, accessible par les réponses au questionnaire, l'ancienneté et l'âge du groupe Inf/ASH apparaissent corrélés au potentiel antiradicalaire des érythrocytes et associés à une augmentation de l'efficacité antiradicalaire urinaire. En complément de cette observation, il est

important de remarquer que les efficacités urinaires déterminées à partir des urines des patients traités sont du même ordre de grandeur que ceux des Inf/ASH les plus anciens. Tout concourt à penser que les mécanismes et les substances participant à la protection contre les radicaux libres sont mobilisés (ou induits) dans les érythrocytes et éliminés dans les urines.

Si ces tests s'avéraient être augmentés dans un groupe de témoins positifs et comme l'ancienneté de l'exposition des personnes leur est corrélée, les médecins du travail pourraient trouver dans ces tests, de nouveaux outils de suivi de l'exposition au long court du personnel exposé à de très faibles doses. Bien entendu, ces résultats doivent être confirmés et nécessitent de nouvelles investigations.

Enfin, lors de la recherche des cyostatiques urinaires et du dosage du platine urinaire, deux résultats se distinguent: l'un par 1 à 5 ng/l de cyclophosphamide urinaire, l'autre par 33,5 ng de platine par gramme de créatinine. Le premier est à rapprocher des résultats trouvés chez deux personnes d'une unité de reconstitution de cyostatiques lors d'une étude publiée en 1997 [15].

Le second est sujet à discussion, en effet, dans son étude [13], J.P. Goullé fixe, pour sa population témoin, le 95^e percentile à 36 ng de platine par gramme de créatinine. Pour A.S. Ensslin [15, 16], qui a trouvé des taux de 22, 28 et 35 ng de platine par gramme de créatinine chez des sujets exposés, ceux-ci se distinguent de son groupe témoin de personnes non exposées. Selon la littérature, la valeur trouvée est soit normale, soit augmentée or il est impossible de tester l'appartenance de celle-ci à l'ensemble de la population (médiane à 0,7 ng de platine par gramme de créatinine et 95^e percentile à 4,2 ng de platine par gramme de créatinine) mais tout incite à penser qu'il faille la considérer comme le signe d'une contamination par un dérivé de platine. Si ces deux résultats signent la contamination de deux personnes par les cyostatiques, la distinction entre une contamination chronique ou accidentelle est impossible.

Les deux personnes pour qui la recherche de cyostatiques dans les urines s'est avérée positive ont été convoquées à une consultation approfondie afin de documenter l'origine de ces contaminations. Aucun lien entre une exposition accidentelle et la contamination n'a pas pu être mis en évidence.

Par la suite, toute personne pour lequel le test KRL montrera une diminution importante des défenses antiradicalaires sera vue en consultation par le médecin du travail qui évaluera la réalité d'un effet toxique. La réalisation annuelle d'un test KRL pourra permettre une meilleure appréciation de la diminution des défenses antiradicalaires.

Les protocoles de prévention mis en œuvre au centre hospitalier de Pontoise se trouvent en annexe.

Conclusion

L'évaluation du risque toxique lors d'exposition des professionnels de santé aux cytostatiques est une tâche ardue. La population des infirmiers, des adjoints de soins hospitaliers (groupe Inf/ASH le plus exposé), des médecins et des secrétaires (groupe Med/Sec à l'exposition intermédiaire) de quatre services où des chimiothérapies anticancéreuses sont reconstituées, a été dépistée selon deux méthodologies différentes : recherche de cytostatiques urinaires et exploration des capacités antiradicalaires sanguine et urinaire. Les résultats de ces populations ont été confrontés à ceux d'un groupe de témoins négatifs. Au terme de cette étude et en dehors de deux cas isolés, les résultats des trois classes n'ont pas pu être distingués. La spécificité et sensibilité élevées des méthodes de recherche de cytostatiques urinaires ont permis de dépister deux contaminations parmi les Inf/ASH mais leur origine reste à discuter avec le médecin du travail. La recherche de cytostatiques urinaires ne permet pas la surveillance de la population exposée en dehors de contamination franche. D'un coût élevé, son intérêt reste réduit pour un médecin du travail ou de prévention. Les résultats négatifs des recherches de cytostatiques urinaires sont concordantes aux résultats KRL sanguins, ces derniers ont une bonne valeur prédictive négative. Si aucune différence de capacité antiradicalaire érythrocytaire ou urinaire entre les populations

n'a pu être observée, au sein du groupe Inf/ASH, l'ancienneté dans l'emploi (durée de l'exposition) et l'âge sont corrélés à l'augmentation de ces capacités. Cette variation n'est pas retrouvée dans les autres groupes mais les valeurs d'efficacité urinaire observées chez deux patients traités ou chez l'Inf/ASH contaminée aux dérivés de platine sont du même ordre de grandeur que celles atteintes pour les Inf/ASH les plus anciennes. Les défenses antiradicalaires urinaires et érythrocytaires croissent significativement lors de l'exposition aux cytostatiques. L'hypothèse proposée est que les défenses radicalaires mobilisées sont exagérément éliminées dans les urines. Les mécanismes à l'origine de ces phénomènes font appel aux notions de régulation de ces défenses (stockage, libération ou élimination des réserves), ils ne peuvent être abordés dans ce travail et nécessitent une étude de plus grande ampleur.

Vérifiée, cette hypothèse permettrait au médecin et au biologiste d'approcher les risques toxiques liés à l'exposition aux cytostatiques par l'exploration des capacités antiradicalaires, méthode simple, rapide et facilement adaptable au laboratoire hospitalier.

Concernant les différentes mesures de prévention techniques, organisationnelles [34, 35] ou les recommandations liées à la manipulation des cytostatiques, des documents publiés par l'INRS et l'AISS sont disponibles sur leurs sites Internet respectifs : www.inrs.fr et health.prevention.issa.int

Points à retenir

L'évaluation de l'exposition aux cytostatiques peut se faire par différentes méthodes mais reste difficile.

Dans cette étude, le platine urinaire a été dosé, le cyclophosphamide, la doxorubicine et l'épirubicine urinaire ont été recherchés. Ces recherches ont été complétées par l'évaluation de la consommation des défenses antiradicalaires par test KRL.

La recherche de cytostatiques urinaires ne permet pas de surveiller la population exposée en dehors de contaminations franches.

Le test de consommation des défenses antiradicalaire a une bonne valeur prédictive lorsqu'il est négatif et pourrait sous réserve d'une étude à plus grande échelle être utile pour le médecin du travail dans le cadre de la surveillance des salariés exposés aux cytostatiques.

Bibliographie

- [1] ROUSSELIN X, STÜCKER I - Les médicaments cytostatiques en milieu de soins. I. Toxicité et risques professionnels. Fiche médico-technique TC 33. *Doc Méd Trav*. 1990 ; 43, 3^e trimestre 1990 : 215-25.
- [2] BASTERI MJ, DANI J, FITY S - Mise en place d'une unité centralisée de préparation des cytotoxiques sous hotte à flux laminaire. Expérience de deux centres hospitaliers du sud-est (centres hospitaliers de Bastia et de Brignoles). 2002 : 34 p (www.wadiph.org/guide-cytotoxiques.pdf)
- [3] FALCY M, BOSSARD L - Manipulation des chimiothérapies anticancéreuses. Enquête dans les services hospitaliers. Etudes et enquêtes TF 70. *Doc Méd Trav*. 1996 ; 68, 4^e trimestre 1996 : 329-34.
- [4] STÜCKER I, DUMONT D, HÉMON D - Risques liés à la manipulation des médicaments cytostatiques. Encyclopédie médico-chirurgicale. Toxicologie, pathologie professionnelle 16-545-A-05. Paris : Editions scientifiques et médicales Elsevier ; 1990 : 3 p.
- [5] ANSELME F - Exposition du personnel soignant aux produits à risque cytotoxique : enquête descriptive au centre hospitalier universitaire de Rouen. Mémoire de DES de Médecine du travail, 2001.
- [6] GUIBAL A - Enquête auprès du personnel soignant d'un service d'oncologie en contact avec les médicaments cytostatiques dans un centre hospitalier général francilien. Mémoire de formation en médecine du travail, 2003, 67 p.
- [7] FAVIER B, LATOUR JF, ARDIET C, VOLOCH A - Evaluation de la contamination des gants et des mains du personnel infirmier avant et après formation à la manipulation des anticancéreux. *Arch Mal Prof*. 2002 ; 63 (1) : 20-24.
- [8] DESCHAMPS FJ, MARINUTTI-LIBERGE V - Risques liés à l'exposition aux cytostatiques pour le personnel soignant. *Presse Méd*. 2001 ; 30 (32) : 1596-600.
- [9] PILLIÈRE F, FALCY M - Exposition aux produits chimiques génotoxiques. Marqueurs biologiques pour la surveillance des salariés. Fiche médico-technique TC 39. *Doc Méd Trav*. 1991 ; 48, 4^e trimestre 1991 : 329-36.
- [10] CAILLAUD V, BENEGAS-BERNARD M, CREPPY E, SANCHEZ D ET AL. - Exposition du personnel de soins aux cytostatiques. L'expérience des centres hospitaliers de Dax et de Bayonne. Etudes et enquêtes TF 112. *Doc Méd Trav*. 2002 ; 89, 1^{er} trimestre 2002 : 51-64.
- [11] ROUSSELIN X - Les médicaments cytostatiques en milieu de soins. 2. Recommandations pour la prévention des risques professionnels. Fiche médico-technique TC 36. *Doc Méd Trav*. 1991 ; 45, 1^{er} trimestre 1991 : 17-26.
- [12] GOULLÉ JF, MAHIEU L, CASTERMANT J, NEVEU N ET AL. - Validation d'une technique de dosage multi-élémentaire des métaux par ICP-MS dans les milieux biologiques. *Ann Toxicol Anal*. 2004 ; 15 (4) : 271-80. Correctif dans *Ann Toxicol Anal*. 2004 ; 16 (4) : 257-60.
- [13] GOULLÉ JF, MAHIEU L, NEVEU N, BOUIGE D ET AL. - Dosage multiélémentaire des métaux et métalloïdes dans les milieux biologiques par ICP-MS : valeurs usuelles chez 100 témoins. *Ann Toxicol Anal*. 2004 ; 16 (4) : 261-68.
- [14] DOMINICI C, PETRUCCI F, CAROLI S, ALIMONTI A ET AL. - A pharmacokinetic study of high-dose continuous infusion cisplatin in children with solid tumors. *J Clin Oncol*. 1989 ; 7 (1) : 100-07.
- [15] ENSSLIN AS, HUBER R, PETHRAN A, ROMMELT H ET AL. - Biological monitoring of hospital pharmacy personnel occupationally exposed to cytostatic drugs : urinary excretion and cytogenetics studies. *Int Arch Occup Environ Health*. 1997 ; 70 (3) : 205-08.
- [16] ENSSLIN AS, PETHRAN A, SCHIERL R, FRUHMANN G - Urinary platinum in hospital personnel occupationally exposed to platinum-containing antineoplastic drugs. *Int Arch Occup Environ Health*. 1994 ; 65 (5) : 339-42.
- [17] BAHR U, SCHULTEN HR - Isolation, identification and determination of cyclophosphamide and two of its metabolites in urine of a multiple sclerosis patient by high pressure liquid chromatography and field desorption mass spectrometry. *Biomed Mass Spectrom*. 1981 ; 8 (11) : 533-57.
- [18] BUSSE D, BUSCH FW, BOHNENSTENGEL F, EICHELBAUM M ET AL. - Dose escalation of cyclophosphamide in patients with breast cancer: consequences for pharmacokinetics and metabolism. *J Clin Oncol*. 1997 ; 15 (5) : 1885-96.
- [19] BUSSE D, BUSCH FW, SCHWEIZER E, BOHNENSTENGEL F ET AL. - Fractionated administration of high-dose cyclophosphamide: influence on dose-dependent changes in pharmacokinetics and metabolism. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1999 ; 43 (3) : 263-68.
- [20] HAUBITZ M, BOHNENSTENGEL F, BRUNKHORST R, SCHWAB M ET AL. - Cyclophosphamide pharmacokinetics and dose requirements in patients with renal insufficiency. *Kidney Int*. 2002 ; 61 (4) : 1495-501.
- [21] FANG BJ, YU ML, YANG SG, LIAO LM ET AL. - Effect of O-4-ethoxyl-butyl-berbamine in combination with pegylated liposomal doxorubicin on advanced hepatoma in mice. *World J Gastroenterol*. 2004 ; 10 (7) : 950-53.
- [22] ADAMS JD JR, KLAIDMAN LK - Acrolein-induced oxygen radical formation. *Free Radic Biol Med*. 1993 ; 15 (2) : 187-93.
- [23] BAEK SM, KWON CH, KIM JH, WOO JS ET AL. - Differential roles of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in cisplatin-induced cell death in renal proximal tubular epithelial cells. *J Lab Clin Med*. 2003 ; 142 (3) : 178-86.
- [24] BALIGA R, UEDA N, WALKER PD, SHAH SV - Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Drug Metab Rev*. 1999 ; 31 (4) : 971-97.
- [25] CUMMINGS J, WILLMOTT N, HOEY BM, MARLEY ES ET AL. - The consequences of doxorubicin quinone reduction in vivo in tumour tissue. *Biochem Pharmacol*. 1992 ; 44 (11) : 2165-74.
- [26] JOSHI S, HASAN SK, CHANDRA R, HUSAIN MM ET AL. - Scavenging action of zinc and green tea polyphenol on cisplatin and nickel induced nitric oxide generation and lipid peroxidation in rats. *Biomed Environ Sci*. 2004 ; 17 (4) : 402-09.
- [27] RAMU K, FRAISER LH, MAMIYA B, AHMED T ET AL. - Acrolein mercapturates : synthesis, characterization, and assessment of their role in the bladder toxicity of cyclophosphamide. *Chem Res Toxicol*. 1995 ; 8 (4) : 515-24.
- [28] THERON AJ, RAMAJI GJ, FELDMAN C, GRIMMER H ET AL. - Effects of platinum and palladium ions on the production and reactivity of neutrophil-derived reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med*. 2004 ; 36 (11) : 1408-17.
- [29] ZHOU S, PALMEIRA CM, WALLACE KB - Doxorubicin-induced persistent oxidative stress to cardiac myocytes. *Toxicol Lett*. 2001 ; 121 (3) : 151-57.
- [30] BLACHE D, PROST M - Free radical attack: biological test for human resistance capability. In: Ponnamperna C, Gehrke W (Eds) - Proceedings of the IX College Chemical Park Colloquium on Chemical Evolution : A Lunar-based Chemical Analysis Laboratory. Washington DC : NASA ; 1992 : 82-98, 296 p.
- [31] PROST M - Process for the determination by means of free radicals of the antioxidant properties of a living organism or potentially aggressive agents. U.S. patent n°. 51 35850. Alexandria : United States Patent and Trademark Office (USPTO) ; 1992.
- [32] PROST M - Utilisation de générateur de radicaux libres dans le domaine des dosages biologiques. Brevet français n°. 2642526. Paris : Institut national de la propriété industrielle (INPI) ; 1989.
- [33] LESGARDS JF, DURAND P, LASSARRE M, STOCKER P ET AL. - Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. *Environ Health Perspect*. 2002 ; 110 (5) : 479-86. Comment in: *Environ Health Perspect*. 2003 ; 111 (1) : A16 ; author reply : A16-17.
- [34] GROUPE DE RÉFLEXION SUR LES POSTES DE SÉCURITÉ MICROBIOLOGIQUE - Les postes de sécurité pour la manipulation des médicaments cytotoxiques. TC 63. *Doc Méd Trav*. 1997 ; 71 : 219-22.
- [35] Comité AISS - Sécurité dans la manipulation des cytostatiques. Hambourg : IVSS - Sektion Gesundheitswesen ; 1996 ; 94 p. (health.prevention.issa.int)

Annexe

LABORATOIRE CLAUDE BERNARD
CH RENÉ DUBOS – PONTOISE

NOM :
PRÉNOM :
SEXE : NOM DE J.F :
NÉ(E) LE : SERVICE :

Enquête pour l'amélioration du suivi médical en médecine du travail du personnel soignant au contact avec les médicaments cytostatiques (anti-cancéreux)

Madame, Monsieur,

Le service de Médecine du travail en collaboration avec le service de biochimie (Dr N. SADEG) étudie la possibilité de mettre en place une surveillance biomédicale plus adaptée pour les agents en contact professionnel avec les médicaments cytostatiques. Une étude comparant les techniques de recherche et de dosage urinaires des cytostatiques et un test de résistance aux radicaux libres va être réalisée, ces techniques vont être étudiées à l'IRCGN par le Dr O. ROUSSEL. Pour que cette étude soit performante et nous permette d'obtenir un résultat, il nous faut la collaboration de l'ensemble du personnel soignant en contact avec les cytostatiques, quel que soit ce contact, je vous remercie pour votre participation active et je vous prie de bien vouloir nous fournir un échantillon d'urines et de sang et **de respecter le protocole suivant** :

- Conditions de recueil : après 2 à 3 jours de travail (pas d'urines au retour de tout repos).
- Échantillon d'urines **d'après midi pour le personnel du matin, du soir pour le personnel d'après-midi** (conserver au réfrigérateur), en fin de nuit pour le personnel de nuit
 - Les urines sont à mettre dans le flacon en polypropylène fourni (**joindre une étiquette supplémentaire**).
 - Un tube de sang 5 ml (EDTA mauve)

REPLIR LA FICHE DE RENSEIGNEMENTS ET SIGNER LE CONSENTEMENT

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

Fonction : IDE AS AH ASH Médecin

Temps plein Temps partiel (%) : _____

Fumeur : oui non

Ancienneté dans le service : _____

Antécédents de contact avec les cytostatiques (avant ce service) :

Personnel : oui non

Professionnel : service : _____

Contact avec les Cytostatiques pendant votre activité professionnelle : oui non

Reconstitution :

Pose/dépose de chimiothérapie Nettoyage de la hotte Local de reconstitution

Contact avec les excréta de malade : (selles, urines, vomissures) oui non

Autres contacts (à préciser SVP) : _____

Avez-vous eu dans l'année une exposition accidentelle aux cytostatiques ? oui non

CONSENTEMENT

Je, _____, ai été informé(e) par le laboratoire Claude Bernard de la nature et des buts des examens qui vont être réalisés sur mon recueil d'urines. J'accepte volontairement ces examens. Je sais que je peux les refuser sans en indiquer les raisons.

Date : _____

Signature :

PROTECTION DU PERSONNEL MANIPULANT DES CYTOTOXIQUES INJECTABLES

PROTOCOLE

Red. : E Stievenart
Cadre FF des consultations

Ver. : Groupe de travail

Appr. : Dr A. Guibal
Médecin du travail

LISTE DE DIFFUSION : Bloc B, Bloc A, Consultations d'Urologie, Gastroentérologie, Service de santé au travail, Neurologie, Urologie

GROUPE DE TRAVAIL : Beguiot G., Benmahrouche S., Dourdan C., Guilleux C., Marin-Martinod C., Moreau P., Dr Soulie-Loze C., E. Stievenart, B. Vanland, Ferand K., Dr Lemann, Manson J., Fleurier C., Deschamps M.N., Benmarouche S., Mourrut C.

1• Objet/domaine d'application

Ce protocole a pour objet de définir les protections obligatoires à porter et les consignes à respecter par le personnel manipulant des cytotoxiques.

Il s'applique aux services non équipés de hotte.

2• Définitions

- Cytotoxiques : tout médicament ayant une action anti-cancéreuse (même s'il a une autre indication thérapeutique)
- Excrétas : urines, selles, vomissures
- Hotte : poste de sécurité microbiologique de type IIB à flux laminaire vertical

3• Documents de référence et documents associés

- 3.1. Manuel d'accréditation de l'Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé (ANAES) Septembre 2004 - Référence 3 Critère 3.c.
- 3.2. Mémoire du Docteur Alain GUIBAL « Enquête auprès du personnel soignant d'un service d'oncologie dans un centre hospitalier général francilien » - 2002-2003
- 3.3. Recommandation du Centre de coordination de lutte contre les infections nosocomiales pour la manipulation des cytostatiques (CCLIN) – 2002
- 3.4. Recommandations du laboratoire SANOFI – juin 2002
- 3.5. Dossier du Centre national hospitalier d'informations sur le médicament (CNHIM) - 2001
- 3.6. Protocole « Décontamination des surfaces exposées aux cytotoxiques »

4• Responsabilités

- Médecin administrant le produit
- Infirmière préparant et injectant le produit
- Aide soignante
- ASH
- Adjointe-hôtesse
- Cadre de santé

5• Réalisation

Procéder au lavage simple des mains avant et après chaque manipulation (lié au risque de contamination par le cytotoxique)

5.1. Phase de réception et stockage des cytotoxiques

- Réceptionner les cytotoxiques en pharmacie, dans un conteneur spécifique, identifié, exclusivement réservé à cet usage
- Se protéger avec des gants en latex épais à manchettes longues à usage unique non stériles
- Entreposer les cytotoxiques dans l'armoire à pharmacie à l'endroit spécifique fixé par le cadre de santé
- Décontaminer le chariot de transport (voir § 3.6.)

5.2. Phase de préparation

5.2.1. Local de préparation

- Afficher le logo spécifique sur toutes les portes communiquant avec le local de préparation
- Fermer ces portes
- Éviter la création de tout courant d'air
- Faire respecter l'interdiction de fumer, de manger, de boire dans ce local

Annexe (suite)

LABORATOIRE CLAUDE BERNARD
CH RENÉ DUBOS – PONTOISE

SERVICE DE SANTÉ AU TRAVAIL

PROTECTION DU PERSONNEL MANIPULANT DES CYTOTOXIQUES INJECTABLES

PROTOCOLE

Red. : E Stievenart
Cadre FF des consultations

Ver. : Groupe de travail

Appr. : Dr A. Guibal
Médecin du travail

LISTE DE DIFFUSION : Bloc B, Bloc A, Consultations d'Urologie, Gastroentérologie, Service de santé au travail, Neurologie, Urologie

GROUPE DE TRAVAIL : Beguiot G., Benmahrouche S., Dourdan C., Guilleux C., Marin-Martinod C., Moreau P., Dr Soulie-Loze C., E. Stievenart, B. Vanland, Ferand K., Dr Lemann, Manson J., Fleurier C., Deschamps M.N., Benmarouche S., Mourrut C.

5.2.2. Plan de travail

- **Dégager, décontaminer (voir § 3.6.) et recouvrir le plan de travail d'une alèse petit soin (type Méprotec)**

- Préparer un conteneur à aiguilles pour leur élimination
- Préparer un conteneur spécifique pour l'élimination des déchets de cytotoxiques
- Préparer une alèse petit soin et un plateau pour le transport du produit préparé

5.2.3. Matériel de protection pour les préparateurs

Revêtir la tenue obligatoire suivante :

- surblouse imperméable à manches longues et poignets resserrés, à usage unique
- masque type FFP2 à usage unique
- charlotte à usage unique
- lunettes enveloppantes adaptées aux lunettes de vue
- gants en nitrile à manchettes longues à usage unique non stériles

► **Tout matériel souillé de projections doit être changé**

En cas de contact avec le produit : rincer abondamment à l'eau courante

5.3. Phase de reconstitution : les bonnes pratiques

- Prendre connaissance des modalités de reconstitution du cytotoxique utilisé
- **Procéder à un lavage simple des mains avant la reconstitution**
- Préparer des seringues à verrou
- Préparer des compresses stériles pour entourer le flacon et la seringue en cas de projection (risque d'hyper-pression)
- Sortir le flacon de cytotoxique préalablement stocké dans l'armoire à pharmacie
- Identifier la seringue ou le flacon avec le nom du patient, le nom du produit et le dosage
- Porter la tenue obligatoire citée au § 5.2.3.
- Reconstituer le cytotoxique (cf protocole de préparation)
- Emballer la préparation dans une alèse petit soin et la déposer dans le plateau pour le transport
- **Décontaminer le plan de travail après préparation (voir § 3.6.)**
- Retirer la tenue de protection (gants, masque, charlotte, surblouse) et l'éliminer selon les règles définies au § 5.5.
- Rincer et décontaminer les lunettes (voir § 3.6.)
- **Procéder à un lavage simple des mains après la reconstitution**

5.4. Phase d'administration

► **Une nouvelle tenue de protection est à porter pour l'administration du cytotoxique.**

- Porter systématiquement :
 - surblouse imperméable à manches longues et poignets resserrés, à usage unique
 - masque chirurgical à usage unique
 - gants en latex épais à manchettes longues à usage unique :
 - non stériles pour les injections intraveineuses ou intramusculaires
 - stériles pour les autres injections (intratéchale, intravésicale...)
- Transporter la préparation dans un plateau
- Se munir de compresses stériles pour se protéger des risques de projection lors de l'administration
- **Le port de lunettes de protection est recommandé.**

PROTECTION DU PERSONNEL MANIPULANT DES CYTOTOXIQUES INJECTABLES

PROTOCOLE

Red. : E Stievenart
Cadre FF des consultations

Ver. : Groupe de travail

Appr. : Dr A. Guibal
Médecin du travail

LISTE DE DIFFUSION : Bloc B, Bloc A, Consultations d'Urologie, Gastroentérologie, Service de santé au travail, Neurologie, Urologie

GRUPE DE TRAVAIL : Beguiot G., Benmahrouche S., Dourdan C., Guilleux C., Marin-Martinod C., Moreau P., Dr Soulie-Loze C., E. Stievenart, B. Vanland, Ferand K., Dr Lemann, Manson J., Fleurier C., Deschamps M.N., Benmarouche S., Mourrut C.

5.5. Élimination des déchets de cytotoxiques

Pour toutes les catégories de personnel

- Porter systématiquement :
 - surblouse imperméable à manches longues et poignets resserrés, à usage unique
 - masque chirurgical à usage unique
 - gants en latex épais à manchettes longues à usage unique non stériles
- Rassembler dans le sac jaune, les déchets de préparation et d'administration ainsi que le matériel de soins utilisé auprès du patient
- Éliminer le sac jaune, après l'avoir fermé, dans le conteneur réservé à cet effet
- Identifier le conteneur avec le nom du service et la date

5.6. Élimination des excréta

Pour toutes les catégories de personnel

- S'informer du délai d'élimination du cytotoxique
- **Déterminer en conséquence, et pour chaque patient, le temps de protection nécessaire pour tout le personnel**
- Informer le personnel : consignes inscrites dans le dossier de soins et annoncées aux transmissions orales
- **Porter systématiquement :**
 - surblouse imperméable à manches longues et poignets resserrés, à usage unique
 - masque chirurgical à usage unique
 - gants en latex épais à manchettes longues à usage unique non stériles
- En consultations d'Urologie : rincer abondamment à l'eau courante tout matériel en contact avec les excréta avant nettoyage
- Dans les autres services : utiliser le lave-bassin

5.7. Élimination du linge souillé

Pour toutes les catégories de personnel

- Mettre systématiquement le linge souillé et contaminé dans un sac rouge

6• Contre-indications

Toute femme enceinte ou **allaitante** ne doit pas être exposée aux cytotoxiques.

Le cadre de santé doit mettre en place une organisation permettant d'exclure cet agent de toute exposition. L'agent doit se présenter au médecin du service santé au travail pour une information et une évaluation des risques.

7• Surveillance spécifique

La **fiche individuelle d'exposition aux cytotoxiques**, spécifique à chaque service est un outil de traçabilité, indispensable au suivi médical des personnels.

L'infirmière, l'aide soignante, l'ASH ou l'adjointe hôtelière remplit sa fiche individuelle.

Le cadre transmet les fiches au service de santé au travail en fin de mois.

Annexe (suite)

LABORATOIRE CLAUDE BERNARD
CH RENÉ DUBOS – PONTOISE

SERVICE DE SANTÉ AU TRAVAIL

DÉCONTAMINATION DES SURFACES EXPOSÉES AUX CYTOTOXIQUES

PROTOCOLE

Red. : C. Fleurier
Conseillère E.S.F.
C. Mourrut, C. Guilleux

Ver. : Groupe de travail

Appr. : Dr A. Guibal
Médecin du travail
Dr K. Ferand

LISTE DE DIFFUSION : Bloc B, Bloc A, Consultations d'Urologie, Gastroentérologie, Service de santé au travail, Neurologie, Urologie

1• Responsabilités

Médecins administrant le produit
IDE préparant et injectant le produit
Aide soignante, Adjointe hôtelière, A.S.H., cadre de santé

2• Réalisation

2.1. Techniques de décontamination du plan de travail en salle de soins non équipée de hotte

AVANT CHAQUE PREPARATION, RECONSTITUTION OU MANIPULATION DE CYTOTOXIQUE

Produits et matériels	Techniques
Pipette de détergent désinfectant sols surfaces dilué à 0,25 %	Dégager le plan de travail Assurer un bio nettoyage par essuyage humide avec un papier absorbant et une pipette de SURFANIOS
Formats d'essuyage à usage unique	Laisser sécher Évacuer le papier absorbant dans un sac jaune
Sac jaune	Renouveler la décontamination du plan de travail après la préparation ou la manipulation de cytotoxique selon la même technique

2.2. En cas d'incidents (projections, bris de flacons) contaminant le plan de travail de la salle de soins ou dans la chambre du patient

Produits et matériels	Techniques
Kit d'intervention d'urgence : double paire de gants nitriles, masque FFP2, une charlotte, des lunettes de protection, matériels absorbants (formats d'essuyage), 1 sac jaune, une surblouse imperméable	Isoler la pièce contaminée Isoler la zone contaminée Si le produit est liquide , utiliser un papier absorbant
Rassembler ce matériel dans le conteneur bleu spécifique qui servira à l'évacuation des déchets	Si le produit est en poudre , utiliser un papier absorbant humidifié
Une pipette de détergent neutre sols surfaces dilué à 0,25 %	Éponger les surfaces de l'extérieur vers le centre sans étaler Jeter immédiatement le papier imbibé dans un sac jaune
Ce kit doit être rangé dans un emplacement fixe, connu de tous et rendu visible par une signalisation appropriée	Procéder au ramassage méticuleux des particules de verre avec le papier absorbant Évacuer immédiatement Reprendre du papier absorbant mouillé avec de l'eau, pour diluer et absorber afin d'éliminer les traces de cytotoxique Jeter le papier aussitôt dans un sac jaune Renouveler cette opération autant de fois que nécessaire Sécher avec un papier absorbant sec la zone exposée Jeter le papier dans un sac jaune En fin d'opération fermer le sac jaune et le déposer dans le conteneur bleu à déchets réservé aux cytotoxiques L'identifier