



35<sup>ème</sup> CONGRÈS  
DE MÉDECINE  
ET SANTÉ  
AU TRAVAIL

5 AU 8 JUIN 2018

PALAIS DES CONGRÈS CHANOT

MARSEILLE

## *La surveillance biologique de l'exposition professionnelle au 5-fluoro-uracile*

### *Dosage de l' $\alpha$ -fluoro- $\beta$ -alanine urinaire par une méthode analytique de très haute sensibilité*

A Dhersin<sup>1,2</sup>, B Atge<sup>1,2,3</sup>, A Villa<sup>4</sup>, B Martinez<sup>1</sup>, Y Goujon<sup>3</sup>, M Sidatt Cheikh El Moustaph<sup>5</sup>, C Verdun-Esquer<sup>1,2</sup>, M Molimard<sup>1,2</sup>, M Canal-Raffin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Inserm U1219, Université de Bordeaux

<sup>2</sup> CHU de Bordeaux

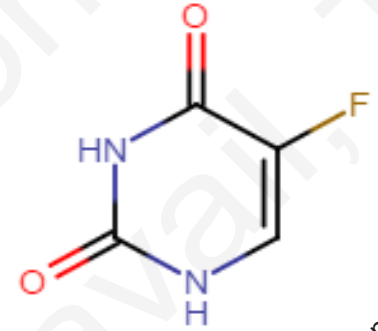
<sup>3</sup> AHI 33, Bordeaux

<sup>4</sup> Hôpital Fernand Widal, Paris

<sup>5</sup> CNO, Nouakchott, Mauritanie

## Le 5 Fluoro-uracile

- Médicament anticancéreux
  - classe des antimétabolites
    - analogue des bases pyrimidiques (pyrimidine)
- subit un métabolisme intracellulaire → 3 métabolites actifs



### 5-dUMP

- inhibe la thymidylate synthétase
- blocage de la synthèse de l'ADN
- ralentissement la prolifération cellulaire

### 5-FUTP

Incorporation  
dans

ARN

Erreur de codage génétique

synthèse  
protéique

### 5-FdUTP

ADN

Blocage

réplication  
de l'ADN

## Le Danger du 5FU

- **Classement européen (ECHA)**
  - les médicaments sont **hors champ du règlement CLP**
- **Classement NIOSH (2004, réactualisé en 2016)**
  - 5-FU classé **dangereux à la manipulation**
- **Classement FDA**
  - catégorie D « **préoccupant pour la grossesse** »
    - données animales (souris, hamster, rat ; dose infra ou thérapeutique)
      - mort embryonnaire
      - tératogène : fente palatine, anomalie squelettique
      - retard de croissance
      - avortement, baisse poids foetal (singé, dose thérapeutique)
- **Classement CIRC (1987)**
  - groupe 3 « non classable pour effets cancérogènes chez l'homme » en raison de données animales et humaines insuffisantes



## L'exposition professionnelle au 5FU

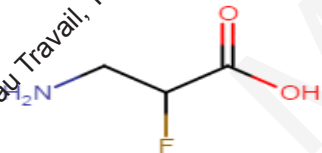
- largement prescrit en milieu de soins
- indiqué dans le traitement des cancers
  - ovariens, du sein
  - colorectaux, oesophagiens

- Nombreux professionnels exposés
- Services de gynécologie et hépato gastroentérologie

### - Outil de choix pour évaluer une potentielle contamination : SBEP

### - Quel Indicateur Biologique de l'Exposition ?

- $\alpha$ -fluoro- $\beta$ -alanine (FBAL)
  - métabolite urinaire principal : 60-95 % dose 5FU éliminé en 24h
  - $\frac{1}{2}$  vie : 33h



### - Méthodes publiées (limite de quantification)

- 40 ng/L par GC-MS (Yoshida et al., 2013)
- 1000 ng/L par HPLC-MS/MS (Ndaw et al., 2010)

## Objectif

Développer et valider **un outil analytique de haute sensibilité** par UHPLC-MS/MS pour le dosage de l' **$\alpha$ -fluoro- $\beta$ -alanine**

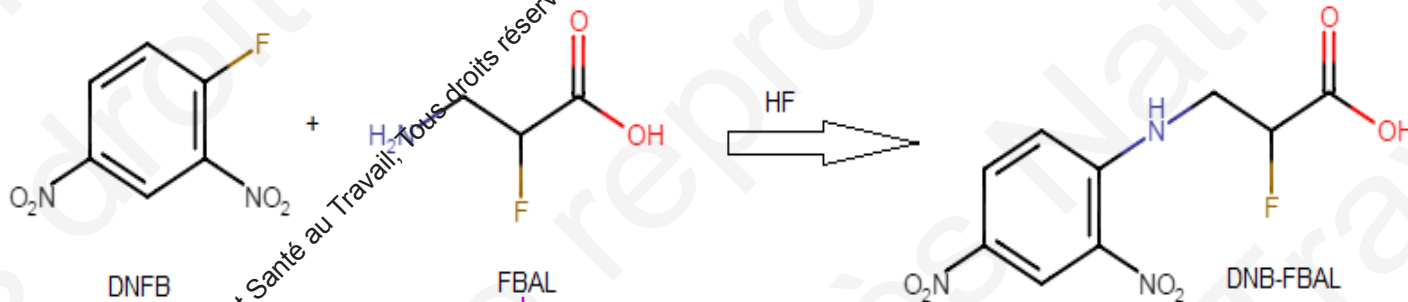


Outil disponible en France  
au laboratoire de Pharmacologie et de Toxicologie  
(CHU de Bordeaux)  
pour la SBEP au 5FU en routine.



Exemples d'application en santé au travail  
dans plusieurs établissements de santé

# 1. Etape de dérivatisation (1h à + 80 °C)



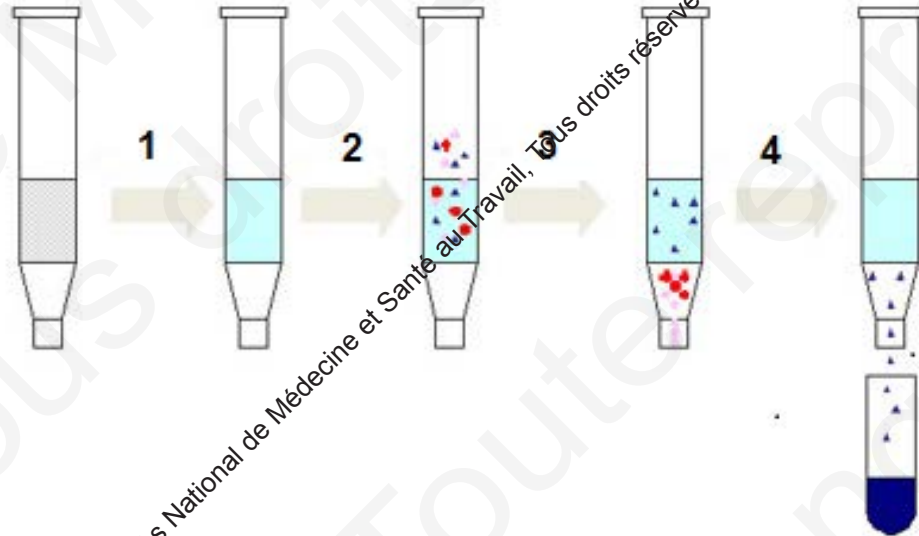
petit poids moléculaire et très polaire

~~difficilement~~

analysable par spectrométrie de masse en tandem

extractible à partir des urines

## 2. Etape d'extraction : en phase solide-liquide



### *Etape indispensable pour*

- purifier → spécificité
  - concentrer → bonne sensibilité
- l'échantillon**

### Etapes d'extraction SPE

### Conditions

1 : Le conditionnement

- 2 ml acétonitrile
- 2 ml tampon  $H_3PO_4$  (15 mM)
- 2 ml Méthanol

2 : Le chargement de l'échantillon

- 1 ml d'urine dérivatisée

3 : Le lavage de l'adsorbant

- 2 ml  $H_3PO_4$  (15mM)/ Méthanol (90/10)

4 : L'élution

- 2ml acétonitrile

### 3. Etape d'injection de l'échantillon dérivatisé et extrait

- chaîne de chromatographie en phase liquide à ultra haute performance (Shimadzu)
- couplée à deux spectromètres de masse en tandem de haute sensibilité (5500 QTRAP, Sciex)



**UHPLC-MS/MS**

- Temps d'analyse : 10 minutes / échantillon

#### Paramètres de la spectrométrie de masse en tandem

Molécule	Transitions (m/z)
DNB-FBAL-1	de quantification 272.0 -> 181.8
DNB-FBAL-2	de confirmation 272.0 -> 251.8
FBAL-d4	276 -> 182.8



## Application de la méthode : interventions de santé au travail

- entre 2015 et 2017
- dans 8 établissements de soins (dont 1 en Mauritanie)
- auprès de différentes professions
  - *Infirmières, aide-soignantes, ASH, préparateurs en pharmacie*

### Recueil d'échantillonnage

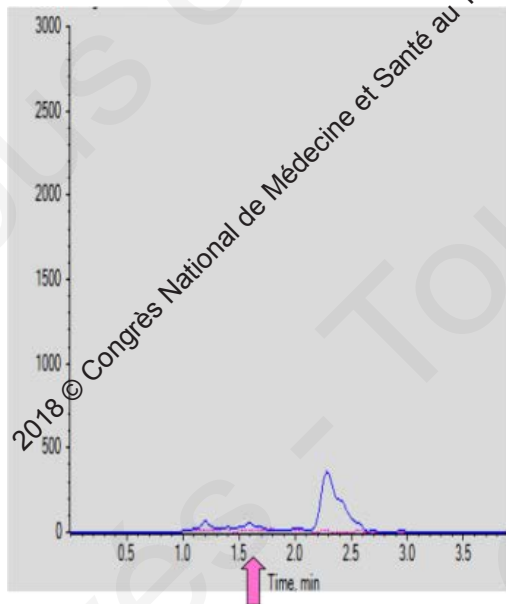
- un prélèvement urinaire entre 6 et 10h après la fin de poste
- pour certains également en début de poste.
- 2ml d'urine minimum
- conservation des échantillons à +4°C pendant 48h, puis à -20°C (3 mois)
- dosage de la FBAL urinaire et de la créatinine urinaire

### Interprétation des résultats

« sujet dit contaminé » dès lors que la FBAL est présente à une concentration urinaire  $\geq$  à la limite de quantification (LQ) de la méthode.

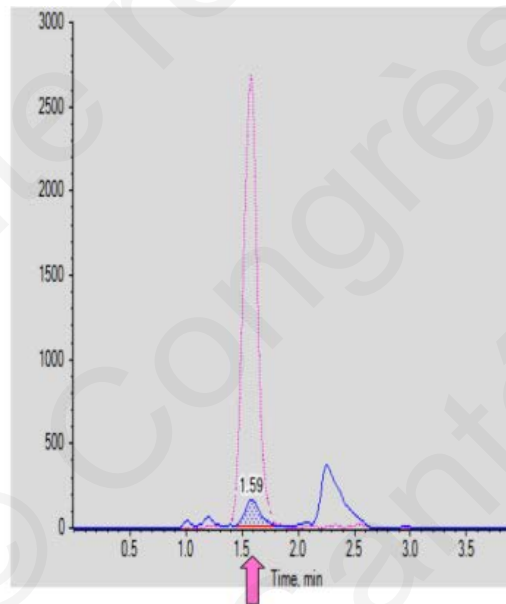
- Technique **UHPLC-MS MS** : spécifique
- **Méthode validée** (répétable et reproductible)

## Sensibilité +++



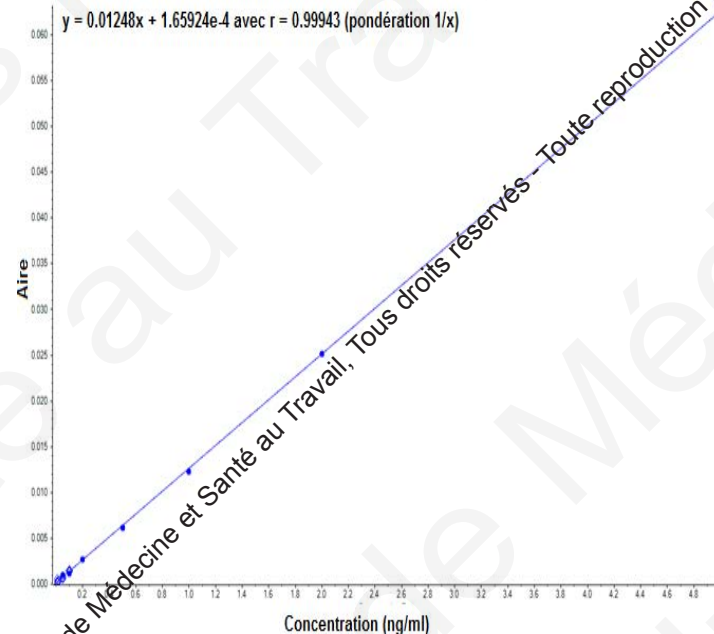
**Exemples de chromatogrammes d'urine**

- **Sujet non exposé**



- **urine dopée en FBAL à la LQ (20 ng/L)**

## Quantification



## Courbe de calibration

Intervalle de concentration de 20 à 1000 ng/L

## Applications en santé au travail

- 73 professionnels exposés au 5FU (selon les données des FRMP)
  - dont 12 de Mauritanie
- 90 échantillons analysés (17 = prélèvements de début de poste)

## Résultats de la contamination

- prélèvements urinaires : 7/90
  - présence de FBAL avec une concentration  $\geq$  LQ ( $\geq$  20 ng/L)
  - prélèvements de début de poste : tous  $<$  LQ

professionnels exposés : **9,6%** (n=7/73)

- 5/48 IDE, 1/7 AS et 1/15 ASH
- pas de contamination chez les 3 préparateurs en pharmacie
- **33,3%** (n=4/12) dans l'hôpital mauritanien (et poster SFMT)
- **4,9 %** (n=3/61) des établissements français

# Applications en santé au travail

## Résultats (suite)

- **Niveaux de concentrations urinaires de FBAL**
  - 25 à 301 ng/L (médiane à 44 ng/L; 48,3 ng/g créatinine urinaire)
    - 44-301 ng/L Mauritanie
    - 25-35 ng/L France (concentrations faibles, proches LQ : 20 ng/L)

## Avantages

- recherche du métabolite urinaire (FBAL)
  - ***pas de possibilité de contamination externe de l'échantillon***
- haute sensibilité (LQ : 20ng/L) / méthodes publiées (40 ng/L par GC-MS; 1000 ng/L par LC-MS/MS)

Méthode adaptée au contexte d'exposition à de faibles traces de 5FU

- avec les méthodes publiées : les 3 travailleurs français (25-35 ng/L) auraient été considérés comme "non contaminés" au 5FU

## Inconvénient

- pas de valeur biologique d'interprétation (VBI) pour la FBAL (*comme tous les autres médicaments anticancéreux*)
  - > pas d'interprétation individuelle / risque pour la santé

*Résultats des patients à comparer aux LQ des méthodes analytiques.*

*--> d'où l'importance de choisir des méthodes avec des LQ les plus basses possibles*

*pour réduire le nombre de cas de contamination faussement négatif*

## - Interprétation collective au sein d'un GEH +++

- défaut de protections collectives et / individuelles
- et/ou probable contamination de l'environnement des postes de travail (surfaces, ...)
- --> *besoin d'action de formation et de sensibilisation*

## Méthode de dosage

- spécifique et très sensible (*en cours de publication dans Analyst*)
- disponible en routine au CHU de Bordeaux pour la SBEP au 5FU
  - **référéncée** dans la base de données **Biotox (INRS)**
  - Coût : 40 euros / échantillon (FBAL + créatinine urinaire)

Cette SBEP au 5FU peut être complétée par de la **métrologie de surface**



Méthode disponible au CHU de Bordeaux pour la détection du 5FU et 14 autres médicaments anticancéreux simultanément

**cf communication affichée, salle des posters**





35<sup>ème</sup> CONGRÈS  
DE MÉDECINE  
ET SANTÉ  
AU TRAVAIL

5 AU 8 JUIN 2018

PALAIS DES CONGRÈS CHANOT

MARSEILLE

## La surveillance biologique de l'exposition professionnelle au 5-fluoro-uracile

*dosage de l'  $\alpha$ -fluoro- $\beta$ -alanine urinaire par une méthode analytique de très haute sensibilité*

A Dhersin<sup>1,2</sup>, B Atge<sup>1,2,3</sup>, A Villa<sup>4</sup>, B Martinez<sup>1</sup>, Y Goujon<sup>3</sup>, M Sidatt Cheikh El Moustaph<sup>5</sup>, C Verdun-Esquer<sup>1,2</sup>, M Molimard<sup>1,2</sup>, M Canal Raffin<sup>1,2</sup>,

**Merci de votre attention !**

[mireille.canal-raffin@u-bordeaux.fr](mailto:mireille.canal-raffin@u-bordeaux.fr)

<sup>1</sup> Inserm U1219, Université de Bordeaux

<sup>2</sup> CHU de Bordeaux