

**65° Congresso Nazionale SIMLII
CUTE E LAVORO**

**RUOLO DEL MEDICO DEL LAVORO NELLA PREVENZIONE DEGLI INFORTUNI
PROFILASSI DEL RISCHIO BIOLOGICO IN AMBIENTI DI LAVORO**

Messina, 11-14 settembre 2002

a cura di Domenico Germanò

Pagina 180
Bianca

**1^a Sessione
CUTE E LAVORO**

Pagina 182
Bianca

Relazioni

D. Germanò¹, B. Guarneri²

Cute e noxae professionali: dall'infiammazione alla carcinogenesi

Dipartimento di Medicina Sociale del Territorio, Università degli Studi di Messina

¹ Sezione di Medicina del Lavoro

² Sezione di Dermatologia

Membrana fibroso-elastica, la cute, comprensiva di epidermide e derma, rappresenta il vero organo di contatto fra l'entità biologica individuale ed il mondo esterno, e come tale non vi è dubbio che efficienti ed adatti debbano essere i meccanismi di difesa ed utilizzazione verso ciò che rappresenta un mondo estraneo.

La cute infatti, oltre ad una funzione protettiva a carattere prevalentemente meccanico, dimostra soprattutto efficienti meccanismi di difesa rispetto a tutti quegli stimoli o contatti che dal mondo esteriore continuamente cimentano l'individuo. A questo ordine di processi di natura difensiva vanno attribuite l'alta capacità e specializzazione che la cute esercita anche di fronte a manifestazioni di tipo particolare o di natura ancora in gran parte oscura, come le neoplasie cutanee. Se è vero che stimoli oncogeni possono a lungo andare e, attraverso fasi difensive lunghissime, lentamente arrivare a provocare neoplasie maligne, è altrettanto vero che le stesse, per il fatto che sono in sede primitivamente cutanea, mostrano una relativa benignità di decorso ed in ogni modo, solo dopo tempo, superano la barriera difensiva locale arrivando alla metastatizzazione ed alla invasione generale.

La cute rappresenta inoltre un territorio estremo rispetto all'entità biologica individuale per cui sulla cute ed alla cute arrivano, attraverso la fine distribuzione vascolare e secrezioni ghiandolari cutanee, tutti i prodotti del ricambio, siano essi di natura fisiologica o patologica.

Alla difesa di carattere meccanico si associa intimamente una difesa di carattere fisico-chimico, legata alle secrezioni sebacee e sudoripare, in grado di rendere l'ambiente cutaneo inadatto alla penetrazione di tutte le sostanze che si possono trovare nel mondo esterno.

Esistono ancora una serie di meccanismi assai più complicati che hanno le loro basi fondamentali nella complessa differenziazione strutturale dell'apparato cutaneo.

Basta infatti osservare la distribuzione capillare dell'apparato circolatorio arterioso e venoso nella cute per comprendere come quest'ultima faccia parte, con fisionomia specifica, di alta importanza, dell'apparato circolatorio in genere. Uno degli elementi fondamentali della termoregolazione è infatti strettamente legato all'integrità anatomica e funzionale cutanea e, attraverso i meccanismi di vasodilatazione, vasocostrizione, sudorazione e perspirazione insensibile, si assiste al gioco silenzioso e incessante della termoregolazione "momento essenziale della vita biologica".

Anche in questo senso dunque la cute, sempre soggetta a sollecitazioni ed aggressioni ambientali, risulta particolarmente impegnata nella regolazione e mantenimento della omeostasi. Ma la cute non è solo una barriera inerte: essa svolge la sua funzione protettiva anche attraverso meccanismi di difesa attiva, mirati all'eliminazione di agenti potenzialmente dannosi. Tali meccanismi richiedono l'intervento di numerose proteine, che agiscono in maniera diretta (enzimi litici) o come parte di processi metabolici intra-ed intercellulari che consentono alle cellule di realizzare attività complesse (fagocitosi).

La cute inoltre, come tutte le interfacce biologiche, acquisisce informazioni relative all'ambiente esterno, utili all'organismo per la messa in atto di opportune reazioni. A tal fine, le cellule cutanee sono in grado di produrre proteine adatte alla ricezione, elaborazione e trasduzione di "segnali" di varia natura. L'ininterrotto scambio di segnali biochimici, che avviene tra le cellule cutanee e il sistema immunitario, sia in condizioni fisiologiche sia in caso di alterazioni della funzione di barriera, gioca infatti un ruolo fondamentale nella omeostasi dei sistemi di difesa dell'organismo: le vie metaboliche che rendono possibile tale processo vedono spesso proteine di derivazione cutanea quali elementi critici. La presentazione dell'antigene, richiede notoriamente la sintesi di proteine deputate alla cattura degli antigeni (recettori di membrana, proteine coinvolte nei processi di fagocitosi), quindi di proteine per la frammentazione degli antigeni stessi (enzimi litici), ed infine di proteine per attivare la corretta risposta delle cellule immunocompetenti (complesso MHC e altre differenti molecole di membrana esposte in associazione).

Recenti acquisizioni clinico-sperimentali hanno confermato l'esistenza a livello della cute di una via privilegiata di controllo omeostatico costituita dalla componente vascolare e nervosa: queste, integrandosi strutturalmente tra loro, costituiscono una vera e propria unità morfofunzionale in grado di modulare, attraverso il rilascio di sostanze biologicamente attive, che hanno proprio nella cute l'ultimo effetto, l'equilibrio delle componenti dermoepidermiche.

Appare dunque evidente come l'alterazione dell'omeostasi neurovasale possa essere alla base di patologie infiammatorie che interessano la cute.

La compromissione del microcircolo, delle fibre nervose sensitive ed il conseguente rilascio di neuropeptidi e

citochine sono elementi comuni in numerosi stati infiammatori di primario interesse in dermatologia.

Il concetto di omeostasi richiama naturalmente quello di patostasi, da cui deriva quello di stato patologico o di malattia, e la patologia dermatologica generale e quella speciale riferita alle tecnopatie cutanee danno chiare esemplificazioni nello studio di tutti i processi patologici. La cute pertanto è ad un tempo organo di confine, organo di periferia, organo di relazione, organo spia di patologie internistiche, organo sensoriale e, non ultimo, organo immunologico: ed è in questo ordine di idee che affronteremo le possibili derivate del rapporto cute-lavoro, o meglio cute-ambiente di lavoro, se si tiene conto che a turbare l'omeostasi cutanea hanno notevole importanza non solo gli strumenti e le macchine o i vari fattori fisici, chimici, biologici propri del lavoro specifico ma anche tutto ciò che più in generale è parte integrante dell'atmosfera di lavoro quali temperatura, umidità relativa, ventilazione, sostanze tossiche o allergiche presenti nell'aria.

Queste possibili cause di danno possono realizzare la loro potenzialità in un tempo più o meno lungo e comunque con un'azione lenta, subdola e continua, e sfociano in espressività cliniche molteplici e multiformi, di tipo squisitamente infiammatorio e/o neoplastico.

Si definiscono pertanto dermatosi occupazionali tutte le condizioni patologiche a carico della cute per le quali l'esposizione lavorativa rappresenta il principale fattore causale o concausale.

Riconoscendo i potenziali pericolosi dell'esposizione cutanea, l'Istituto Nazionale della Sicurezza Professionale e della Salute (NIOSH) ha identificato nelle affezioni cutanee una delle cause di malattia dovuta a motivi professionali maggiormente diffuse negli Stati Uniti.

Nel 1982 il NIOSH, sulla base della frequenza, della gravità e della possibile prevenzione, ha collocato le affezioni cutanee tra le prime dieci malattie dovute a motivi professionali. Inoltre, i dati dell'Ufficio di Statistica del Lavoro indicano che le affezioni cutanee, attribuite ad esposizione sul luogo di lavoro, rappresentano più del 30% di tutte le malattie dovute a motivi professionali.

I dati relativi all'incidenza delle affezioni cutanee ottenuti dal 1990, indicano un rapporto di 7,9 casi su 10.000 esposti traducibili in 61.000 nuovi casi all'anno. La maggior parte delle affezioni si manifestava nel personale delle industrie agricole e manifatturiere, con un'incidenza pari a 86 e 41/10.000 casi rispettivamente.

In molte Nazioni Europee ed Extraeuropee l'incidenza annuale di dermatosi occupazionali varia da 0,5 all'1⁰/₁₀₀ tra i lavoratori impiegati a tempo pieno.

La valutazione dell'incidenza delle affezioni cutanee professionali è sottostimata poiché tali affezioni spesso non vengono diagnosticate, non sono seguite da assenza dal lavoro e spesso non vengono denunciate.

In letteratura inoltre sono presenti pochi studi epidemiologici condotti su larga scala, difficilmente confrontabili tra loro a causa della mancanza di metodi standardizzati riguardo la definizione dei criteri diagnostici e di valutazione.

Nell'ultimo decennio, in seguito all'introduzione di moderni processi lavorativi e all'impiego di nuovi mate-

riali, sono emersi diversi fattori di rischio e sono state identificate nuove sostanze responsabili dell'insorgenza di dermatosi occupazionali.

Le attività emergenti maggiormente a rischio di sviluppare tali patologie sono: l'attività di ristorazione, di decorazione nell'industria dolciaria e le attività di produzione ed assemblaggio nell'ambito dell'industria elettronica.

Tra le sostanze ed i materiali negli ultimi anni identificati si ricordano: antiossidanti della gomma (6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline), principi attivi farmacologici (propacetamol, biperiden, oloquinox etc.), pesticidi (fluazinam), sostanze plastiche ed acriliche, pitture a base d'acqua, sostanze utilizzate nella lavorazione dei metalli (oli solubili), tessuti semisintetici utilizzati principalmente nella produzione di indumenti da lavoro.

Queste sostanze possono alterare l'integrità del mantello cutaneo attraverso uno o più meccanismi quali denaturazione della cheratina e di altre proteine epidermiche, rimozione dei lipidi di superficie, trasporto di surfactanti negli strati profondi dell'epidermide, danneggiamento delle membrane cellulari, citotossicità diretta.

In questo contesto ci proponiamo di fornire, nella maniera più completa possibile:

- lo stato dell'arte di alcune proteine coinvolte nelle principali funzioni biologiche delle cellule (adesione, proliferazione, differenziazione, immunoregolazione);
- un quadro aggiornato delle molteplici proteine e vie metaboliche coinvolte nell'interazione cellula-matrice (laminine, fibronectina e relativi recettori citoscheletrici, incluse integrine e proteine associate all'actina), estendendo le osservazioni alla progressione e proliferazione dei tumori cutanei.

Infiammazione e patologia cutanea

La reazione infiammatoria rappresenta, in fisiopatologia cutanea, un importante processo protettivo nei confronti di agenti infettivi, allergeni o autoantigeni ed è caratterizzata da accumulo ed attivazione di leucociti nei siti interessati.

Relativamente all'agente etiologico e/o a fattori legati all'ospite, tale fenomeno può risolversi o automantenersi in un complesso processo che vede coinvolti numerosi elementi cellulari (APC, linfociti, cheratinociti, cellule endoteliali) ed un intricato pool di mediatori (citochine, chemochine, ossido nitrico). Il network di interazioni immunologiche, con vari circuiti di soppressione ed attivazione, sarebbe, infine, ulteriormente modulato dai neuropeptidi liberati dalle terminazioni nervose sensitive in seguito all'azione di fattori di varia natura. I neuropeptidi sono infatti in grado di modulare le reazioni vasomotorie cutanee e l'attività delle cellule coinvolte nella risposta immune. Il confine tra i meccanismi coinvolti nella flogosi cutanea, sia essa su base allergica o autoimmune, non è ben definito: esistono infatti importanti differenze ma certamente numerose sovrapposizioni nell'induzione e modulazione della risposta infiammatoria in grado di determinare e condizionare l'espressione delle singole malattie.

Esisterebbe una mutua relazione tra mast cells, cellule di Langerhans e cheratinociti, modulata dall'azione dei neuropeptidi e mediata dall'ossido nitrico. È noto, infatti, che basse concentrazioni di questo mediatore (prodotto dalla e-NOS) regolano l'omeostasi cutanea, mentre alte concentrazioni (prodotto dalla i-NOS) sono citotossiche; concentrazioni intermedie di ossido nitrico influenzano, invece, l'espressione genica delle citochine e modulano l'equilibrio di Th1/Th2 a favore delle risposte Th2 (NO sopprime IL-2 e IFN gamma, e favorisce la produzione di IL-4, IL-12, PGE2). L'ossido nitrico possiede, infatti, a queste concentrazioni, proprietà citoprotettive e può dunque limitare il danno tissutale durante l'infiammazione, anche indipendentemente dall'attenuazione della risposta Th1-mediata.

Radiazioni ultraviolette e patologia cutanea

La luce solare comprende radiazioni ultraviolette con lunghezza d'onda differenti, che vanno da 100 a 700nm, rappresentate rispettivamente da: a) raggi UVC (100-280 nm), ad elevato contenuto energetico, normalmente assorbiti dai gas atmosferici (ozono ed ossigeno); b) UVA (280-320 nm); c) UVA (320-400 nm); d) luce visibile, (400-700 nm); oltre i 700 e fino ai 1000 nm c'è l'infrarosso (IR) in grado, unitamente alla rarefazione della fascia di ozono, di indurre danni, immediati o tardivi, quali fototossicità, fotoallergie, fotoinvecchiamento e tumori cutanei. Il danno da radiazioni ultraviolette è alla base della maggior parte delle neoplasie cutanee ed in particolare dei carcinomi basocellulari e spinocellulari. Quando i raggi UV colpiscono la cute si verifica un danno a carico del DNA con conseguenti mutazioni cellulari. Le cellule possono rispondere o riparando il DNA frammentato o trasformandosi in cellule neoplastiche o, come avviene nella maggior parte dei casi, eliminando le cellule mutate attraverso fenomeni di apoptosi. Recenti studi suggeriscono che p-53 influenza questi diversi pathways: in particolare le cellule che esprimono p-53 non mutato in associazione a FasL sono in grado di proteggere dal cancro, mandandole incontro a morte cellulare, al contrario le cellule che hanno una forma mutata di p-53, come gran parte delle cellule tumorali, non possono essere eliminate per apoptosi. Gli ultravioletti influenzano, inoltre, con meccanismi spesso mediati da stress ossidativo. La funzione delle cellule di Langerhans, linfociti T, natural killer, mutazioni a carico del DNA, sintesi di citochine proinfiammatorie, in un complesso, e ancora non perfettamente chiarito, intreccio patogenetico mediato dal NO. Gli UV sono anche in grado di indurre apoptosi e quindi prevenire la carcinogenesi fotoindotta, attraverso la dinamica opposizione dei geni p-53 e bcl-2, tali funzioni sembrano strettamente influenzate dall'azione del NO. L'NO, infatti, sembra possedere in vitro attività pro/anti apoptosi. In particolare se da un lato in linee cellulari di melanoma murino favorisce l'apoptosi, sopprime la carcinogenesi e la diffusione metastatica, dall'altra protegge i cheratinociti e le cellule endoteliali dal danno e dalla morte cellulare UV indotta in stretta correlazione con l'aumentata espressione di bcl-2.

Recenti studi hanno dimostrato un ruolo analogo per l'NGF. Sembra possibile ipotizzare l'esistenza di un sistema di sorveglianza autocrino NO/NGF mediato in grado di indurre l'espansione dei cheratinociti mutati e promuovere la carcinogenesi mantenendo costanti i livelli di bcl-2 e bcl-xl e prevenendo l'attività PARS/PARP (poli-ADP-ribose-sintetasi).

Interazione cellula-matrice e patologia cutanea

La capacità di sintesi della matrice extracellulare rappresenta una pietra miliare nell'evoluzione delle prime forme di vita multicellulare. La sintesi e la degradazione della matrice extracellulare sono fattori critici non solo per un adeguato sviluppo embrionale e postnatale, ma anche nell'età adulta. L'alterazione delle comunicazioni fra le cellule e la matrice circostante, d'altra parte, può dar luogo ad un vasto numero di malattie.

Il termine "interazione" ("signaling") comprende tutte le forme di comunicazione cellula-cellula e cellula-matrice, che produce una vasta gamma di risposte cellulari, incluse adesione, migrazione, invasione, proliferazione, arresto della crescita e apoptosi. Negli ultimi anni molto si è scoperto relativamente alla struttura e funzione dei recettori della matrice extracellulare. Il numero delle classi dei recettori della matrice descritti ha subito un continuo incremento e con il passare del tempo, si accumulano sempre più evidenze che dimostrano come le interazioni tra recettori e ligandi della matrice extracellulare non sono reazioni fra singole molecole indipendenti, ma piuttosto fra complessi di ligandi e di recettori interagenti l'uno con l'altro. Le risposte cellulari specifiche sono, dunque, il risultato della ricezione di molteplici segnali.

Le integrine sono recettori essenziali per l'adesione cellulare a una grande varietà di proteine della matrice extracellulare, quali: vitronectina, fibrinogeno, fibronectina, collagene, laminine, tenascine e trombospodine, e a recettori cellulari come VCAM1 e ICAM. Sono inoltre mediatori dell'adesione, migrazione, invasione e proliferazione cellulare, hanno un vasto numero di effetti intracellulari sull'organizzazione del citoscheletro contenente actina e giocano un ruolo anche in molti processi di "signaling".

Una complessa catena di passaggi metabolici porta dalle iniziali interazioni delle integrine con un ligando extracellulare agli effetti transmembrana su localizzazione delle molecole del citoscheletro e molecole di comunicazione, fino all'attivazione di vie di "signaling" ed eventualmente regolazione dell'espressione genica.

Appare evidente come alterazioni quantitative e/o qualitative delle vie metaboliche coinvolte nella comunicazione cellula-matrice e/o della loro regolazione possa costituire la base di patologie cutanee caratterizzate da disturbi della proliferazione e della immunoregolazione.

Estendendo questi concetti alla progressione e proliferazione dei tumori cutanei, si può ipotizzare l'esistenza di un deficit funzionale, probabilmente geneticamente trasmesso, in grado di influenzare la sintesi e/o la secrezione di alcune proteine della matrice extracellulare (catena α 1 della laminina nel carcinoma a basocellulare e squamocel-

lulare, catena $\alpha 2$ nel melanoma). Tale deficit spiegherebbe la perdita di adesione alla membrana basale e le alterazioni della distribuzione polarizzata di integrine e proteine associate all'actina, con conseguente iperproliferazione, disturbo della differenziazione cellulare, progressione del tumore e sua diffusione. La variabile distribuzione dei recettori delle integrine probabilmente riflette un'alterata interazione tumore-matrice, e potrebbe essere correlata ad un fenotipo più maligno.

In conclusione, l'approccio morfofunzionale costituisce un punto di osservazione privilegiato dei fini meccanismi molecolari alla base delle varie condizioni iperproliferative oltre che nei disordini dell'immunoregolazione della cute.

È chiaro che soltanto l'integrazione di tutti i dati della ricerca clinica, farmacologica e di base potranno condurci alla comprensione di quegli aspetti ancora oscuri e l'adozione di interventi preventivi sanitari e ambientali costituiscono certamente la chiave di volta per un reale e utile limite al rischio di patologie cutanee di natura occupazionale. Di fondamentale importanza appare pertanto l'attuazione di programmi di educazione sanitaria sin dalla fase di avviamento al lavoro, l'etichettatura dei contenitori di sostanze pericolose per la cute, la visione da parte dei lavoratori dei "data sheet" informativi e, non ultimo, l'uso di creme barriera.

Bibliografia

Bellinghieri G, Magaudda L, Santoro D, Esposito M, Pergolizzi S, Vaccaro M, Savica V. Extracellular Matrix Abnormality may be responsi-

- ble for Cyst Development. KARGER, Contributions to Nephrology 1997; 122: 38.
- Bruch-Gerharz, Ruzicka T, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide in human skin: current status and future prospects. J Invest Dermatol 1998; 110: 1.
- Fenga C, Loreto C, Caltabiano C, Germanò D. Heat shock protein 27 is overexpressed in the skin of bitumen workers. Early observations. Journal of Biological Research 2000 vol. LXXVI.
- Fenga C, Loreto C, Spatari G, Guarneri F, Barbaro M, Caltabiano C, Germanò D. Modificazioni istopatologiche cutanee in lavoratori addetti alla movimentazione di prodotti petroliferi. Med Lav 2001; 92, 1: 25.
- Guarneri B, Vaccaro M, Guarneri F. Epidermal & Dermal protein and enzymes what's new. J Appl Cosmetol 2002; 20: 3.
- Koh D and Goh FCL. Occupational Dermatology. Clin Dermatol 1998; 16: 113-118.
- Kolb H, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide in autoimmune disease: cytotoxic or regulatory mediator? Immunol Today 1998; 19: 556.
- Lushniak BD. Occupational skin diseases. Prim Care 2000 Dec; 27(4): 895-916.
- Passacantando A, Petrucci C, Tonietti G. Inflammation: similarities and differences between autoimmune and allergic diseases. Ital J Allergy Immunol 1998; 8: 483.
- Pergolizzi S, Vaccaro M, Magaudda L, Mondello MR, Arco A, Bramanti P, Cannavò SP, Guarneri B. Immunohistochemical study of epidermal nerve fibers in involved and uninvolved psoriatic skin using confocal laser scanning microscopy. Arch Dermatol Res 1998; 290: 483.
- Scholzen T, Armstrong CA, Bunnet NW, Luger TA, Olerud JE, Ansel JC. Neuropeptides in the skin: interactions between the neuroendocrine and the skin immune systems. Exp Dermatol 1998; 7: 81.
- Vaccaro M, Guarneri F. Ruolo dell'ossido nitrico nelle dermatosi da alterata immunoregolazione. In "Modelli di infiammazione cutanea. Prospettive di interazioni terapeutiche" pagg. 109-113. UTET 2001.
- Vaccaro M, Magaudda L, Cutroneo G, Trimarchi F, Barbuzza O, Guarneri F, Guarneri B. Changes in the distribution of laminin a 1 chain in psoriatic skin. Immunohistochemical study using confocal laser scanning microscopy. Br J Dermatol 2002; 146: 392.
- Weller R. Nitric oxide, skin growth and differentiation: more questions than answers. Exp Dermatol 1999; 24: 388.

P. Apostoli¹, C. Fenga², M. Sarnico¹, D. Germanò²

Cute, suoi annessi e secreti come matrici per il monitoraggio biologico di elementi tossici

¹ Medicina del Lavoro e Igiene Industriale, Dipartimento di Medicina Sperimentale ed Applicata, Università degli Studi di Brescia

² Sezione di Medicina del Lavoro, Dipartimento di Medicina Sociale del Territorio, Università degli Studi di Messina

Premessa

Da tempo gli annessi cutanei sono impiegati nel monitoraggio biologico di xenobiotici ambientali ed occupazionali. Meno noto è se, parti superficiali della cute, come lo strato corneo, o suoi prodotti di secrezione, come sudore, sebo e cerume siano in qualche modo utilizzabili come matrici nel monitoraggio biologico.

Scopo del contributo è l'aggiornamento sulle informazioni riguardanti l'impiego di tali matrici nel monitoraggio biologico di elementi tossici

Origine degli elementi negli annessi e nei secreti cutanei

Annessi

La deposizione dei metalli nei capelli avviene attraverso il circolo ematico, le ghiandole sebacee e sudoripare eccrine. I vari elementi vengono trasportati dal flusso sanguigno e linfatico all'interno della matrice del capello attraverso la papilla con un meccanismo che non è stato chiarito.

I metalli una volta incorporati, si legano ai gruppi sulfidrilici e disolfidi delle proteine del capello.

Gli elementi, si possono riscontrare anche nelle unghie, dove giungono attraverso il flusso sanguigno del derma sottoungueale.

Sia per i capelli che per le unghie deve essere tuttavia valutata la possibilità di contaminazione esogena degli elementi.

Secreti

Gli elementi tossici riscontrabili nel sudore e nel cerume originano da due meccanismi fondamentali:

- da un processo di ultrafiltrazione del siero;
- da un meccanismo locale di assorbimento-escrezione cutanea, indipendente dalla quota di tossico circolante e che pertanto non modifica i livelli dello stesso nelle altre matrici biologiche (Stauber and Florence 1988). La fase di assorbimento cutaneo avviene attraverso le cellule dell'epidermide, attraverso le ghiandole sudoripare e i follicoli piliferi. In particolare l'assorbimento dai dotti sudoripari è elevato nei primi 5 minuti, poi gradualmente si riduce per dare spazio ad un assorbimento

attraverso lo strato corneo che quindi prevale in un secondo tempo.

Tecniche di campionamento

Annessi

Capelli: devono essere prelevati dalla zona nucale con una lunghezza di almeno 4 cm. È importante che non siano tinti e che non abbiano subito trattamenti di tipo cosmetico. Una volta prelevati, i capelli vanno lavati con solventi e con acqua distillata, essiccati a 70°C per 70 minuti e quindi sottoposti a digestione acida (Azhari FMA, Arif HE 1990).

Unghie: devono essere prelevate dal maggior numero di dita possibili una volta raggiunta una crescita di almeno 1 settimana per le mani e di almeno 4 settimane per i piedi. Le unghie, allorché prelevate, vanno accuratamente lavate con solventi (come l'acetone) che hanno la funzione di asportare eventuali sostanze oleose e con surfactanti. Quindi segue il risciacquo con acqua distillata per 10 minuti. Vengono poi asciugate per 24 ore a 40°C o essiccate a 85°C per 4 ore, messe in una muffola a 500°C per 24 ore. Vengono infine trattate con acido nitrico concentrato iperpuro (Kurt P 1991).

Sudore

Il sudore può essere raccolto in un foglio di materiale sintetico applicato sull'avambraccio: ha il vantaggio che la zona può essere completamente sigillata, eliminando quindi qualsiasi forma di contaminazione di origine ambientale.

La produzione di sudore eccrino può essere stimolata in particolare con farmaci come la pilocarpina che viene sospinta nelle ghiandole sudoripare da una lieve corrente elettrica per 2 minuti.

Lavaggio: altre tecniche consistono nel lavare la cute di una parte del corpo con opportuno solvente al termine dell'esposizione, viene generalmente impiegato solo per le mani.

Esistono 2 tecniche di lavaggio:
bag method: si fissa una sacca di polietilene contenente 200 ml di solvente (etanolo, toluene, diclorometano) al polso dell'operatore e si fa agitare vigorosamente; l'operazione viene ripetuta 1-2 volte.

pouring method: il solvente (250 ml) viene versato direttamente su una mano per volta o su entrambe mentre il liquido viene raccolto in un apposito contenitore (Brouwer DH 2000).

Il principale limite della tecnica sta nell'efficienza della rimozione, tanto minore quanto più tempo passa tra l'esposizione e il campionamento; il test andrebbe effettuato immediatamente dopo l'esposizione.

Wipe tests: Il test si avvale di un campionamento estemporaneo, di solito alla fine del turno di lavoro, che viene effettuato strofinando con cura, mediante un adeguato supporto in tessuto o carta, un'area cutanea predeterminata. Il supporto può essere umidificato con un solvente, quale ad esempio acqua distillata e etanolo. Gli wipe tests hanno due limitazioni: la prima è legata al fatto che non esiste la certezza di aver rimosso in toto gli inquinanti presenti, la seconda riguarda il fatto che durante il turno di lavoro le sostanze inquinanti vengono in parte assorbite dalla cute (anche a causa della frizione della stessa) (Brouwer DH 2000).

Analisi di elementi su annessi e secreti

ALLUMINIO: In alcuni studi è stata dimostrata l'associazione tra patologie neuropsicologiche e alti livelli di alluminio nei capelli (Seifert 2000); non sono reperibili studi di tossicologia occupazionale. I valori di riferimento disponibili per soggetti adulti variano nel range di 2.5-4.5 µg/g (Paschal DC 1989; Wilhelm M 1989).

ARSENICO: L'arsenico inorganico trivalente ha una elevata affinità per i capelli (Kollmer WE 1992). Nello studio di Karagas (2000) è stato dimostrato che la concentrazione di arsenico nelle unghie dei piedi si può considerare un indice quantitativo della dose interna totale; i risultati dello studio hanno messo in evidenza una concentrazione variabile tra 0,01 e 0,81 µg/g.

La concentrazione di arsenico nei capelli degli uomini è più elevata rispetto a quella delle donne (Wolfsperger M 1994); nessuna relazione è stata dimostrata per quanto riguarda l'età (De Peyster A 1995).

I valori di riferimento variano nel range di 0,01 e 0,17 µg/g (Paschal DC 1989; Senofonte O 1989).

CADMIO: il cadmio nei capelli non è un buon indicatore della quota di origine endogena, mentre lo è per l'esposizione ambientale (Chatt A 1988), infatti la sua concentrazione nei capelli dipende da numerose variabili: età, sesso, abitudine tabagica, dieta (Horiguchi 1983). Nello stesso studio di Horiguchi non è stato dimostrato un accumulo di cadmio nelle unghie con l'avanzare dell'età e questo suggerisce che le unghie non funzionano da tessuto di deposito in normali condizioni di esposizione ambientale.

Per i valori di riferimento si può citare il lavoro di Frery et al nel 1993 in cui è stata valutata la concentrazione di cadmio nei capelli di un gruppo di fumatori maschi, messi a confronto con un gruppo di non fumatori e uno di ex-fumatori; i risultati hanno dimostrato una correlazione positiva tra il numero di sigarette fumate x gli anni e la concentrazione di cadmio nei capelli; in particolare range di concentrazione di cadmio compresi tra 4 e 210 µg/g nei

fumatori, 4-76 µg/g nei non fumatori e 3-188 µg/g negli ex-fumatori.

PIOMBO: Sheils (1954) ha messo in evidenza per la prima volta l'eliminazione di piombo nel sudore in lavoratori esposti.

Omokhodion (1991) in due studi ha valutato l'escrezione di piombo nel sudore. Nel primo studio i risultati hanno dimostrato una correlazione tra la concentrazione di Piombo nel sangue e quella nel sudore. Il secondo studio, effettuato su lavoratori esposti a piombo e abitanti ai tropici, ha dimostrato che la concentrazione di piombo nel sudore di alcuni soggetti era più elevata rispetto a quella riscontrata nel sangue e nelle urine degli stessi. Ciò indica un possibile assorbimento transcutaneo del metallo.

Un'esposizione cronica a piombo si riflette in elevati livelli del metallo nei capelli ed è stata inoltre dimostrata una correlazione tra la concentrazione di piombo nei capelli e quella nel sangue (Chatt A 1988, Wilhelm M 1996);

Tuttavia la concentrazione di piombo nei capelli è influenzata da diversi fattori: stagione, sesso, alcool, età (Seifert B 2000, Wilhelm M 1989).

La determinazione del piombo nei capelli sul singolo individuo va comunque sempre avvalorata da un riscontro nel sangue.

Cavalleri (1980) ha valutato la concentrazione di piombo nei capelli di soggetti professionalmente esposti: i risultati hanno evidenziato un contenuto di piombo variabile tra valori di 3 e 362 µg/g, e i livelli ematici di piombo sono risultati statisticamente correlati con il logaritmo del contenuto di piombo nei capelli.

MERCURIO: è nota la stretta correlazione tra la concentrazione di mercurio nei capelli e il consumo di pesce (Airey D 1983, WHO 1990, Suzuki T 1989). I valori di riferimento per il mercurio in popolazione con consumo di pesce inferiore ad una volta/settimana, variano da 0,1 a 4,5 µg/g (Sky-Peck HH 1990; WHO 1990; Wilhelm M 1995). Più recentemente studi tedeschi hanno riportato, per popolazioni non esposte, valori medi inferiori a 0,5 µg/g (Wilhelm M 1995). In popolazioni con elevato consumo di pesce i livelli aumentano ad un valore medio pari a 5 - 16 µg/g (Lopez-Artiguez M 1994).

NICHEL: Kurt P (1991) ha valutato la concentrazione di nichel nelle unghie delle mani di lavoratori esposti: il nichel presente nelle unghie, era in parte fornito dal flusso sanguigno durante la crescita dell'unghia e in parte assorbito dal contatto diretto con oggetti contenenti nichel. Anche in questo caso le unghie dei piedi hanno mostrato una concentrazione di nichel di gran lunga inferiore rispetto alle unghie delle mani e pertanto si è considerato che il contributo di origine esogena sia predominante. È stato proposto che la concentrazione di nichel inferiore a 1 µg/g non è indice di esposizione professionale, mentre si ritiene che valori superiori a 8 µg/g siano indicativi di esposizione professionale a nichel.

ANALISI MULTIELEMENTALE: Cohn (1978) ha condotto uno studio sull'eliminazione di Zn, Cu, Fe, Ni, Cd, Pb, Mn, Na e Cl nel sudore in un gruppo di uomini e donne: i risultati hanno evidenziato che il sudore è un'importante via di eliminazione per lo Zn e il Cu; il Ni e il Cd sono più elevati nel sudore che nelle urine, mentre il Pb si

trova a concentrazioni eguali nei 2 secreti. Stauber e Florence (1987) hanno valutato la concentrazione di zinco, cadmio, piombo e rame nel sudore, trovando rispettivamente valori pari a 720, <3, 15 e 80 µg/L; inoltre il rame nel sudore delle donne risultava più basso (23µg/L). Ancora Stauber e Florence nel 1988 hanno visto che, mentre le concentrazioni di piombo e cadmio erano eguali sia nel siero che nel sudore, (rispettivamente <5-87 e <0,5-18 µg/L), diverse erano le concentrazioni di zinco e rame, in particolare specie per quest'ultimi raggiungevano concentrazioni più basse nel sudore, probabilmente dovuta al fatto che la maggior parte del rame risulta legata alla ceruloplasmina e lo zinco ad un α_2 macroglobulina, quindi quote non mobilizzabili ed eliminabili col sudore.

Nowak B (1996) ha valutato i fattori di variabilità in gioco nel condizionare le diverse concentrazioni di metalli ed elementi essenziali in matrici quali unghie e capelli: nel caso dei capelli sono stati presi in considerazione fattori quali l'età, il sesso, la dieta e il colore dei capelli; per le unghie, l'età, il sesso e se il campione origina dalle mani o dai piedi. In particolare si è visto che nei capelli il sesso, l'età e l'interazione sesso-età può avere una certa influenza: nel sesso maschile e all'avanzare dell'età, aumenta la concentrazione dei vari elementi; nelle unghie, solo per alcuni elementi si è dimostrata una dipendenza dal sesso: in particolare, Cd, Zn, Fe e Pb che risultano tutti aumentati nel sesso maschile.

È disponibile un unico studio multielementale sul cerume (Krishnan 1992): gli elementi riscontrati alla concentrazione di mg/g sono stati in ordine decrescente K, 5,7-19; S, 3,8-13; Na, 3,6-8,8; Ca, 0,69-2,2; Mg, 0,54-1,1; e As, 0,15-0,22 mg/g. Alla concentrazione di µg/g sono stati rilevati metalli quali il Cd, 0,67-1,6 e il Pb, 13-14 µg/g, da qui l'interesse dell'utilizzo di questa matrice per un possibile monitoraggio biologico.

Discussione

Nonostante le numerose critiche all'utilizzo di annessi e secreti cutanei come matrici nel monitoraggio biologico, la loro analisi continua a suscitare interesse e ricerche attive malgrado la mancanza di metodi standardizzati per l'analisi e l'elevata variabilità dei dati a questa legata (Steindel SJ, Howanitz PJ 2001).

La determinazione di elementi in traccia negli annessi attraverso tecniche non invasive, presenta vantaggi rispetto al prelievo di campioni ematici in quanto, gli annessi ed i secreti sono un mezzo chimicamente omogeneo ed inerte, e che può essere conservato per un lungo periodo di tempo senza particolari trattamenti.

È opportuno rivedere alcuni aspetti sui fattori di variabilità biologica.

Sudore: l'età con l'aumentare dell'età variano le concentrazioni di elementi nelle matrici biologiche, è stato dimostrato che il cromo diminuisce nel siero, nei capelli e nel sudore con l'età (Davies 1997); il sesso, le donne infatti tendono a sudare meno degli uomini. L'assunzione di estrogeni provoca un aumento nel siero e nel sudore delle concentrazioni di rame e piombo (Stauber e

Florence 1988); inoltre le concentrazioni di zinco e ferro nel sudore sono più basse nelle donne, probabilmente per compenso alle perdite che si verificano nel ciclo mestruale, in gravidanza e durante l'allattamento (Cohn 1978); la *dieta* e l'*idratazione*, in quanto, alla quota di acqua introdotta, corrisponde una maggiore o minore diluizione del sudore e quindi degli elementi contenuti, l'*attività fisica* e l'efficienza delle ghiandole sudoripare (Robinson e Weiss 1980); le *condizioni atmosferiche*: si è visto che i livelli di piombo nel sudore in soggetti non esposti professionalmente, abitanti in zone tropicali, sono più elevati di quelli di soggetti inglesi (Omokhodion e Crockford 1991); la *zona corporea* da cui vengono prelevati i campioni: ghiandole eccrine ed apocrine secernono sudore con caratteristiche diverse, in particolare il sudore di origine apocrina ha un colore più lattescente e un contenuto inferiore di rame rispetto al sudore di origine eccrina (Stauber e Florence 1988).

Capelli: le caratteristiche degli stessi (colore, spessore e tipo), l'età e il sesso del soggetto, i trattamenti cosmetici (tinte, lacche, gel, etc.), gli hobbies, in particolare il nuoto (frequenza settimanale, acqua salata, clorata, dolce) e il giorno dell'ultimo lavaggio (Nowak 1996).

Unghie: ancora età, sesso, zona di prelievo (mani o piedi), dieta, attività lavorativa e residenza (Nowak 1996).

Per tutte le matrici andrà infine presa in considerazione l'eventualità di una contaminazione durante la fase di prelievo: un inquinamento accidentale dei campioni può manifestarsi per una dispersione di metalli nell'aria degli ambienti in cui si esegue la raccolta o per una deposizione degli stessi su cute e annessi. Una possibilità di inquinamento può derivare anche da una non corretta pulizia del punto di prelievo, dall'uso di sostanze detergenti contenenti metalli, dall'utilizzo di forbici o tagliaunghie rilascianti metalli o dalla permanenza delle diverse matrici biologiche in contenitori inquinati può influenzare il dato analitico finale.

Bibliografia

- 1) Airey D. Mercury in human hair due to environment and diet: a review. *Environ Health Perspect*, 52 (1983): 303-16.
- 2) Azhari FMA and Aarif HE. Lead and Cadmium in human hair: A comparison among four countries, *Bull Environ Contam Toxicol*, 45 (1990): 139-148.
- 3) Brouwer DH, Boeniger MF and Hemmen JV. Hand wash and manual skin wipes, *Ann Occup Hyg*, 44 (7), (2000): 501-510.
- 4) Cavalleri A, Minoia C, Colli M, D'Andrea F, Apostoli P, Collini P. Determinazione del piombo nei capelli in soggetti professionalmente esposti; Atti XLIII Congresso Nazionale Società Italiana Medicina del Lavoro e Igiene Industriale, Parma 1980.
- 5) Chatt A and Katz SA. Hair analysis. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (1988).
- 6) Cohn JR and Emmet EA. The excretion of trace metals in human sweat, *Ann Clin Lab Sci*, 8 (1978): 270-275.
- 7) Davies S, McLaren Howard J, Hunnisett A, Howard M. Age-related decreases in chromium levels in 51665 hair, sweat, and serum samples from 40872 patients. Implications for the prevention of cardiovascular disease and type II diabetes mellitus. *Metabolism*, 46 (5) (1997): 469-473.
- 8) De Peyster A and Silvers JA. Arsenic levels in hair of workers in a semiconductor fabrication facility. *Am Ind Hyg Assoc J*, 56 (1995): 377-83.

- 9) Frery N, Girard F, Moreau T, Blot P, Sahuquillo J, Hajem S, Orssaud G and Huel G. Validity of hair cadmium in detecting chronic cadmium exposure in general populations. *Bull Environ Contam Toxicol*, 50 (1993): 736-43.
- 10) Horiguchi S, Kurono T, Teramoto K. Tabulation of lead content of daily food in Japan in the early 1980's. *Sumitomo Bull Ind Health*, 20 (1983): 168-86.
- 11) Karagas MR, Tosteson TD, Blum J, Klaue B, Weiss JE, Stannard V, Spate V and Morris JS. Measurement of low levels of arsenic exposure: a comparison of water and toenail concentrations. *American Journal of Epidemiology*, 152 (1) (200): 84-90.
- 12) Kollmer WE. Arsenic in induced hair of the rat and its relation to the content in various organs during chronic exposure. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*, 6 (1992): 11-14.
- 13) Krishnan U and Que Hee SS. Ear wax: A new biological monitoring medium for metals?. *Bull Environ Contam Toxicol*, 48 (1992): 481-486.
- 14) Kurt P, Bente G, Torkil M. Nickel concentrations in fingernails as a measure of occupational exposure to nickel. *Contact dermatitis*, 25 (1991): 237-241.
- 15) Lopez-Artiguez M, Grilo A, Martinez D, Soria ML, Nunez L, Ruano A, Moreno E, Garcia Fuente F and Repetto M. Mercury and methylmercury in population risk groups on the Atlantic coast of southern Spain. *Arch Environ Contam Toxicol*, 27 (1994): 415-419.
- 16) Nowak B. Occurrence of heavy metals, sodium, calcium, and potassium in human hair, teeth and nails. *Biol Trace Elem Res*, 52 (1996): 11-22.
- 17) Omokhodion FO, Crockford GW. Lead in sweat and its relationship to salivary and urinary levels in normal healthy subjects. *Sci Total Environ* 103 (1991): 113-122.
- 18) Omokhodion FO and Howard JM. Sweat lead levels in persons with high blood lead levels: lead in sweat of lead workers in the tropics. *The Science of the Total Environment*, 103 (1991): 123-128.
- 19) Paschal DC, DiPietro ES, Phillips DL and Gunter EW. Age dependence of metals in a selected U.S. population. *Environ Res*, 48 (1989): 17-28.
- 20) Robinson JW and Weiss S. The direct determination of cadmium in urine and perspiration using a carbon bed atomizer for atomic absorption spectroscopy. *J Environ Sci Health A15* (6) (1980): 635-662.
- 21) Seifert B, Becker K, Helm D, Krause C, Schulz C and Seiwert M. The German Environmental Survey 1990/1992 (GerES II): reference concentrations of selected environmental pollutants in blood, urine, hair, house dust and indoor air. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 10 (2000): 552-565
- 22) Shiels DO. The elimination of lead in sweat, *Australas Ann Med*, 9 (1954):225-229.
- 23) Sky-Peck HH. Distribution of trace elements in human hair. *Clin Physiol Biochem*, 8 (1990): 70-80.
- 24) Stauber JL and Florence TM. The determination of trace metals in sweat by anodic stripping voltammetry, *Sci Total Environ*, 60 (1987): 263-271
- 25) Stauber JL and Florence TM. A comparative study of copper, lead, cadmium and zinc in human sweat and blood, *Sci Total Environ*, 74 (1988): 235-247.
- 26) Steindel SJ and Howanitz PJ. The uncertainty of hair analysis for trace metals. *American Medical Association*, 285 (2001): 83-85.
- 27) Suzuki T, Watanabe S and Matsuo N. Comparison of hair with nail as index media for biological monitoring of mercury, *Jpn J Ind Health*, 31 (1989): 235-238.
- 28) WHO (World Health Organisation): *Methylmercury. Environmental Health Criteria*, 101. Geneva, 1990.
- 29) Wilhelm M, Passlick J, Busch T, Szydlak M and Ohnesorge FK. Scalp hair as an indicator of aluminium exposure: comparison to bone and plasma. *Hum Toxicol*, 8 (1989): 5-9.
- 30) Wilhelm M, Lombeck I, Hafner D and Ohnesorge FK. Hair lead levels in young children from the FRG. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*, 3 (1989): 165-70.
- 31) Wilhelm M, Muller F and Idel H. Biological monitoring of mercury vapor exposure by scalp hair analysis in comparison to blood and urine. *Zbl Hyg*, 197 (1995): 47.
- 32) Wilhelm M and Idel H. Hair analysis in environmental medicine. *Zbl Hyg*, 198 (1996), 485-501.
- 33) Wolfspurger M, Hauser G, Gobler W and Schlagenhafen C. Heavy metals in human hair samples from Austria and Italy: Influence of sex and smoking habits. *Sci Total Environ*, 156 (1994): 235-42.

P. Sartorelli, L. Montomoli, A.G. Sisinni

Il rischio cutaneo da tossici occupazionali

Sezione di Medicina del Lavoro, Dipartimento di Medicina Clinica e Scienze Immunologiche, Università degli Studi di Siena

Negli ultimi 35 anni è stata dimostrata l'esistenza di un rischio cutaneo in numerose situazioni lavorative. In alcuni casi l'esposizione cutanea può risultare addirittura più rilevante di quella respiratoria. Probabilmente il caso più serio di esposizione cutanea è rappresentato dalla distribuzione dei pesticidi. Uno studio non più recente effettuato su *sprayers* valutava che l'esposizione respiratoria costituisse in media meno dell'1% dell'esposizione cutanea (10). È poi noto da tempo come spesso anche gli idrocarburi policiclici aromatici vengano prevalentemente assorbiti per via cutanea (1, 8). Esposizioni cutanee rilevanti possono avvenire in varie settori lavorativi per sostanze quali clorofenoli (industria del legno), policlorobifenili (manutenzione trasformatori), acrilamide (materie plastiche) e ciclofosfamide (trattamenti antineoplastici).

Il contributo dell'uptake cutaneo all'esposizione generale è aumentato per la riduzione dell'esposizione a tossici per via inalatoria in seguito ai miglioramenti tecnici ed alla riduzione dei limiti di concentrazione in aria. Esiste poi una maggiore comprensione dei meccanismi legati all'assorbimento transcutaneo delle sostanze chimiche per effetto della notevole esperienza accumulata nel campo del passaggio dei farmaci dai sistemi di cessione transcutanea. L'interesse per l'esposizione cutanea professionale è aumentato negli ultimi anni, tanto da indurre il NIOSH ad organizzare a Washington la Conferenza Internazionale "Occupational and Environmental Exposures of Skin to Chemicals: Science and Policy" nel mese di Settembre 2002. Dal canto suo la Comunità Europea (CE) ha finanziato nell'ambito del 5° Programma Quadro due grandi programmi di ricerca denominati RISKOFDERM e EDETOX rivolti alla validazione rispettivamente di modelli predittivi dell'esposizione cutanea e di metodi in vitro per la produzione di dati di assorbimento percutaneo utilizzabili nel processo risk assessment.

Attualmente esistono esigenze normative precise in relazione al controllo dell'esposizione cutanea per alcuni tipi di composti quali i pesticidi. La CE ha riconosciuto l'importanza del risk assessment dell'esposizione cutanea sin dal 1996 con la costituzione del Dermal Exposure Network (1997-1999), mentre la Direttiva 97/42/EC ha stabilito per alcuni cancerogeni l'obbligo di considerare la via di assorbimento cutanea.

Misurazione dell'esposizione cutanea

La misurazione dell'esposizione cutanea gioca un ruolo importante nella stima del rischio, permettendo di quantificare l'estensione ed il grado di contaminazione dermica e di caratterizzare le diverse fonti di esposizione, nonché l'influenza dei diversi comportamenti dei lavoratori. Le misure di contaminazione ed assorbimento cutanei vengono impiegate solamente per la previsione degli eventuali effetti tossici sistemici attribuibili all'esposizione attraverso tale via, mentre per le indagini sul potere irritativo e sensibilizzante dei composti si utilizzano test di laboratorio sull'uomo o sugli animali.

Un ostacolo nella stima del rischio di assorbimento transcutaneo deriva dalle difficoltà che si incontrano nel misurare l'esposizione cutanea (2). Il risultato è che spesso, in situazioni nelle quali è prevedibile la presenza di un rischio cutaneo, ci si affida al solo monitoraggio biologico. Quest'ultimo, rappresentando la stima della dose totale assorbita attraverso le varie vie, dovrebbe invece essere utilizzato in modo complementare alla valutazione dell'esposizione respiratoria e cutanea.

Per quanto riguarda la mancanza di metodi di misura della contaminazione cutanea validati, in realtà già da alcuni anni esistono strategie di campionamento in grado di fornire dati di esposizione cutanea con sufficiente accuratezza e precisione. Ciò che sembra maggiormente necessario allo stato attuale è la standardizzazione delle metodiche ostacolata in parte dalla mancanza di modelli concettuali e di una terminologia appropriata e generalmente accettata.

Generalmente l'esposizione cutanea può avvenire per immersione, deposizione e contatto.

L'immersione si realizza quando la cute del lavoratore entra in contatto con una fase liquida della sostanza e può quindi essere prevenuta tramite l'adozione dei guanti. La migliore valutazione dell'esposizione per immersione, quando possibile, consiste nell'effettuazione del monitoraggio biologico. La deposizione risulta dall'impatto di un vapore, delle particelle di un aerosol o di un liquido (*splashing*) con la cute. L'esposizione per contatto avviene per trasferimento del tossico dalle superfici contaminate presenti sul luogo di lavoro direttamente alla cute. In tal caso la contaminazione cutanea (*skin loading*) dipende dalla concentrazione della sostanza presente sulle superfici con-

taminate, dalla frequenza e durata dei contatti e dalla trasferibilità del composto stesso. Il contatto cutaneo rappresenta un'importante modalità di esposizione in molte situazioni lavorative quali le operazioni di manutenzione ed il lavoro agricolo (in particolare durante i rientri in coltura).

Le **tecniche di campionamento** in questo campo sono raggruppabili in quattro categorie:

- raccolta mediante campionatori costituiti da surrogati di cute quali pads o indumenti realizzati a tale scopo;
- rimozione del composto dalla cute ad esempio mediante lavaggi mani;
- utilizzazione di traccianti fluorescenti;
- studio della contaminazione delle superfici presenti nei luoghi di lavoro.

Quando si sceglie una **strategia di campionamento** bisogna tener conto che le esposizioni cutanee variano notevolmente nel tempo e nei diversi individui. Il campionamento deve essere rappresentativo. Per fare ciò si deve identificare e monitorare le regioni potenzialmente esposte, nonché stabilire la durata del campionamento in funzione della tecnica scelta (le tecniche di rimozione devono essere messe in atto immediatamente dopo l'esposizione, se si usano indumenti bisogna evitare la loro saturazione, ecc.)

La stima dell'esposizione cutanea

La procedura utilizzata nel processo di risk assessment consiste nel confrontare i livelli di esposizione con la più alta dose della sostanza che non è in grado di dare effetti sistemici (*No Observed Adverse Effect Level* - NOAEL) che è solitamente ottenuto estrapolando i dati di tossicità sugli animali. Comunemente si considera che il processo di risk assessment si attui in 4 passaggi successivi:

Hazard identification: Identificazione degli effetti nocivi propri della sostanza. L'identificazione dei composti chimici pericolosi per l'uomo è basata su esperimenti sugli animali da laboratorio o su modelli predittivi.

Dose-response assessment: Consiste nella stima del rapporto tra dose o livello di esposizione alla sostanza e l'incidenza e la severità degli effetti nocivi. Studi dose-risposta sono utilizzati per stabilire il NOAEL.

Exposure assessment: Stima delle concentrazioni/dosi alle quali sono o possono essere esposte le popolazioni umane. Le esposizioni attuali sono generalmente non acute, ma cumulative croniche e a bassi livelli di tossico.

Risk characterization: Stima dell'incidenza e severità degli effetti nocivi che probabilmente accadono in una popolazione umana a causa dell'esposizione attuale o prevedibile alla sostanza. Include la stima del rischio cioè la quantificazione di questa probabilità. Il risk characterization è basato sulla valutazione combinata di hazard, dose-risposta ed esposizione.

In tale ambito sulla base del NOEL e della valutazione dell'esposizione è possibile calcolare il "margine di sicurezza" (margin of safety - MOS) come segue:

$$\text{MOS} = \text{NOEL} / \text{Esposizione sistemica attesa}$$

La grandezza del MOS indica se esiste un rischio o no. Per la popolazione generale si ritiene sufficientemente si-

curo un MOS >100 (4), ma valori inferiori sono spesso considerati accettabili per specifiche esposizioni lavorative.

In un approccio diverso dal NOAEL vengono derivati limiti di esposizione basati sugli effetti sulla salute umana. I limiti Health-Based (*Health-Based Recommended Exposure Limits* - HBREL) rappresentano la massima quantità di sostanza alla quale gli esseri umani possono essere esposti senza che siano attesi effetti negativi. Gli HBREL possono essere estrapolati dai NOAEL introducendo fattori di controllo (*assessment factors*) applicati per rendere conto delle incertezze derivanti fra l'altro dall'estrapolazione dagli animali all'uomo e da studi tossicologici effettuati con tempi di esposizione diversi da quelli reali.

Il risk assessment dell'esposizione cutanea può essere condotto attraverso gli studi tossicodinamici cutanei. Se non sono disponibili dati di tossicità cutanea adeguati si deve ricorrere all'estrapolazione tra diverse vie di assorbimento (*route-to-route extrapolation*) che viene definita come la previsione della dose equivalente che produce la stessa risposta od effetto tossico ottenuti con una data dose attraverso una via di somministrazione differente (6).

L'esposizione cutanea viene attualmente considerata un fattore di notevole confusione nella regolamentazione dell'uso dei tossici. In questo campo negli anni ottanta le organizzazioni governative americane, in mancanza di dati attendibili, stimavano pari al 100% la percentuale di assorbimento percutaneo delle sostanze chimiche. Attualmente l'atteggiamento generale è meno conservativo. In prima istanza si considera il caso peggiore (100% di assorbimento transcutaneo): solo se in tal modo viene evidenziato un pericolo per la salute dovranno essere valutati l'effettiva penetrabilità del tossico e i livelli di esposizione cutanea. È chiaro come la correzione con dati sperimentali di penetrazione cutanea possa avere un grande impatto in campo normativo, dato che praticamente nessun tossico occupazionale viene interamente assorbito attraverso la pelle. Tuttavia negli ultimi anni sono stati condotti solo pochi studi sull'uomo a causa dei rischi potenziali per la salute che comportano. D'altra parte i risultati ottenuti negli esperimenti sui roditori comunemente utilizzati in laboratorio portano ad una sovrastima dell'assorbimento percutaneo nell'uomo. Le difficoltà che si incontrano negli studi in vivo rendono i metodi in vitro con impiego di cute umana una prospettiva di studio di sicuro interesse. In tal senso si devono registrare i tentativi di fornire linee guida per gli studi in vitro da parte di organizzazioni internazionali di vario genere (FDA, OECD, COLIPA).

Nelle liste ufficiali di limiti di esposizione di molte nazioni ed agenzie governative, prima fra tutte l'ACGIH, i composti considerati un rischio cutaneo sono identificati con l'annotazione *skin* per allertare l'attenzione sul fatto che l'assorbimento cutaneo di tali sostanze può contribuire in maniera rilevante all'esposizione sistemica. Le *skin notation* dell'ACGIH sono state negli anni passati criticate per la mancanza di chiarezza sui criteri di assegnazione (3, 7). Generalmente con la *skin notation* dovrebbero venir segnalate sostanze con bassa LD₅₀ dermale (<1g/kg di peso corporeo) che rappresenta un indice di tossicità dermale acuta. Un limite perciò della *skin notation* basata sulla LD₅₀ dermale è costituito dal fatto che non tiene conto de-

gli effetti cronici. In tal modo inoltre non vengono considerate le proprietà cancerogene di sostanze assorbibili per via transcutanea.

Non esiste un criterio generalmente accettato per l'assegnazione della *skin notation*. Generalmente l'annotazione viene assegnata quando il contributo dell'assorbimento cutaneo (confrontato con la via inalatoria) al body burden di una sostanza è rilevante e/o quando può causare effetti sistemici. Le *skin notation* sono previste in vari Paesi Europei quali Gran Bretagna, Germania, Finlandia, Svezia, Danimarca, Irlanda e Svizzera. In Francia ed in Italia non esiste un sistema ufficiale di *skin notation*. In questi casi generalmente si fa riferimento all'ACGIH.

La *skin notation* ha il limite di non fornire indicazioni circa l'entità del rischio cutaneo, costituendo solo un generico richiamo ad evitare la contaminazione cutanea e, nel migliore dei casi, ad effettuare il monitoraggio biologico per la valutazione dell'esposizione. Non risulta poi evidente se la sua assenza sia da interpretare come non necessaria o possa essere dovuta alla mancanza di dati di assorbimento transcutaneo.

Utilizzando tecniche di misurazione dell'esposizione cutanea standardizzate (purtroppo ancora non disponibili) sarebbe possibile sviluppare limiti di esposizione cutanea professionale (*Dermal Occupational Exposure Limits - DOEL*) con notevoli vantaggi in campo normativo. A tutt'oggi nessun Paese ha adottato i DOEL, anche se in alcuni casi è allo studio la possibilità di una loro introduzione. Un ulteriore ostacolo che si incontra nella definizione dei DOEL è costituito dalla difficoltà nell'individuazione della superficie cutanea effettivamente esposta e dalla scarsità di dati di passaggio transcutaneo.

I progressi nel campo del monitoraggio biologico rendono più facilmente misurabile l'esposizione attraverso vie differenti. Ciò può diventare un problema quando l'esposizione avviene contemporaneamente per via cutanea ed inalatoria. In questi casi le indagini di monitoraggio biologico devono essere condotte in modo da permettere l'identificazione della fonte di introduzione del tossico, ad esempio utilizzando protezioni respiratorie o cutanee di sicura efficacia. I risultati così ottenuti possono essere confrontati con i dati di monitoraggio biologico effettuato senza "isolare" la via respiratoria o cutanea, consentendo di valutare l'importanza relativa dell'esposizione dermica. Il monitoraggio biologico può risultare di grande aiuto anche nella valutazione dell'efficacia delle bonifiche e dei mezzi protettivi, semplicemente confrontando i livelli degli indicatori biologici prima e dopo la messa in atto delle misure preventive.

Nel campo della prevenzione del rischio cutaneo da tossici non è sempre necessario ricorrere a costosi interventi di bonifica essendo a volte sufficiente adottare misure igieniche adeguate per ridurre anche notevolmente la contaminazione cutanea e conseguentemente l'uptake dermico (9). In tale ambito l'uso dei mezzi di protezione individuale appare generalmente più accettabile rispetto a quello delle protezioni delle vie respiratorie. A ciò si ag-

giunge il fatto che spesso l'uso dei DPI rappresenta realmente l'unica misura tecnicamente possibile oltre alla formazione dei lavoratori.

Negli ultimi anni l'uso dei guanti è progressivamente aumentato parallelamente all'interesse per la loro effettiva capacità protettiva. Ciò ha portato allo sviluppo di test standardizzati. Un'altra questione importante in tale ambito è quella degli effetti collaterali (in pratica costituiti dalle reazioni allergiche) che possono insorgere utilizzando guanti protettivi. Nel 1989 la CE ha adottato due Direttive nel campo dei Dispositivi di Protezione Individuale (DPI) definendo procedure di certificazione (89/686/EEC) e le caratteristiche richieste per l'uso di DPI da parte dei lavoratori (89/656/EEC). L'organismo responsabile della definizione degli standard in Europa è il Committee for European Normalization (CEN). Il Comitato Tecnico CEN/TC 162 *Protective Clothing Including Hand and Arm Protection and Lifejackets* ha iniziato la sua attività nel 1989 (5). Il CEN collabora con l'ISO (International Standards Organization) e con l'American Society of Testing and Materials (ASTM). Le procedure di standardizzazione sono un processo continuo. Quando gli Standard Europei sono accettati dal CEN esistono in forma di bozza (prEN), perdendo il prefisso pr- una volta approvati da tutti i Paesi membri della CE. Numerosi EN sui guanti protettivi sono stati preparati dal CEN/TC 162 riguardanti i metodi da utilizzare per i test di resistenza alla penetrazione/permeazione da parte dei composti chimici ed altre caratteristiche. Tuttavia in questi protocolli sono state rilevate alcune limitazioni, dato che non necessariamente rappresentano le reali condizioni di utilizzazione.

Bibliografia

- 1) Boogaard PJ, van Sittert NJ. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in petrochemical industries by measurement of urinary 1-hydroxypyrene. *Occup Environ Med* 1994; 51: 250-258.
- 2) Fenske RA. Dermal exposure assessment techniques. *Ann Occup Hyg* 1993; 37: 687-706.
- 3) Grandjean P, Berlin A, Gilbert M, Penning W. Preventing percutaneous absorption of industrial chemicals: the skin denotation. *Am J Ind Med* 1988; 14: 97-107;
- 4) Johannsen FR. Risk assessment of carcinogenic and noncarcinogenic chemicals. *Critical Reviews in Toxicology* 1990; 20: 341-367.
- 5) Mellström GA, Carlsson B. European standards on protective gloves. In Mellström GA, Wahlberg JE, Maibach HI: *Protective gloves for occupational use*. Boca Raton, CRC 1994; 39-43.
- 6) Papelko WE, Whitney JR. Methods for route-to-route extrapolation of dose. *Toxicol Ind Health* 1985; 1: 153-170.
- 7) Scansetti G, Piolatto G, Rubino GF. Skin notation in the contest of workplace exposure standards. *Am J Ind Med* 1988; 14: 725-732.
- 8) VanRooij JGM, Bodelier-Bade MM, De Looft AJA, Dijkmans APG, Jongeneelen FJ. Dermal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons among primary aluminium workers. *Med Lav* 1992; 83: 519-529.
- 9) VanRooij JGM, Bodelier-Bade MM, Jongeneelen FJ. Estimation of individual dermal and respiratory uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons in 12 coke oven workers. *Br J Ind Med* 1993; 50: 623-632.
- 10) Wolfe HR, DurhamWF, Amstrong JF. Exposure of workers to pesticides. *Arch Environ Health* 1967; 14: 622-633.

Per la rilevazione delle osservazioni è stato predisposto un questionario informatizzato composto da oltre 300 items a risposta precodificata, suddiviso in otto sessioni e un dettagliato manuale di compilazione che analiticamente descrive le possibilità di risposta dei singoli items.

Tutti i partecipanti alla "Qualitative survey" sono stati formati ed addestrati, mediante un apposito seminario, alla redazione del questionario allo scopo di assicurare una elevata uniformità alle osservazioni.

Il gruppo italiano ha condotto 70 osservazioni relative allo scenario "brushing", 16 osservazioni in ordine allo scenario "filling" e 15 osservazioni in ordine allo scenario "mixing": complessivamente sono state interessate 14 aziende appartenenti a settori lavorativi diversi.

Le situazioni lavorative sono state individuate in ordine ai criteri generali di selezione, privilegiando contesti occupazionali ad elevata manualità; scopo dell'indagine è l'identificazione di un tipico modello di esposizione cutanea con particolare riguardo alle parti del corpo esposte, alle modalità ed alla durata del contatto cutaneo, indipendentemente, quindi, dalle specifiche sostanze impiegate. Ogni osservazione ha avuto una durata non inferiore a 60 minuti, mentre il tempo necessario per, selezionare, interpretare le informazioni richieste dal questionario (schede di sicurezza dei prodotti, caratteristiche dei dispositivi di protezione individuali, dati relativi all'organizzazione del lavoro, informazioni ottenibili attraverso l'intervista dell'addetto) risulta variabile in funzione delle diverse situazioni lavorative.

Risultati

Trattandosi di lavorazioni manuali, le parti del corpo più frequentemente contaminate

Sono le mani (Figura 1): le altre parti del corpo presentano frequenze diverse di contaminazione in funzione dei differenti "scenarios" e, all'interno di questi, in relazione alle specifiche modalità con cui le lavorazioni manuali vengono eseguite: così nel "brushing" in un quinto dei soggetti è stata osservata la contaminazione del tronco che, invece, risulta assente nei rimanenti "scenarios". Gli addetti alla decorazione di montature per occhiali e quelli addetti alla produzione di vernici presentano, tutti, contaminazione delle dita e della superficie dorsale di entrambe le mani, mentre negli addetti alla produzione di ceramiche artistiche la contaminazione interessa la cute delle dita delle mani e la sua superficie palmare: complessivamente l'estensione della contaminazione corrisponde al 6% della superficie cutanea totale (3). In tutti gli asfaltatori la contaminazione cutanea si estende anche ad avambracci, venendo così ad interessare il 33% della superficie corporea totale, ma in due soggetti il grado di contaminazione raggiunge l'88% risultando contaminate anche altre parti del corpo (testa, collo, tronco ed arti inferiori).

La contaminazione cutanea (Figura 2) si realizza attraverso la manipolazione degli strumenti di lavoro contaminati (il pennello per i decoratori, lo straccio per i lavoratori della ceramica), toccando superfici contaminate (decoratori, preparazione di farmaci antiblastici, decorazione di

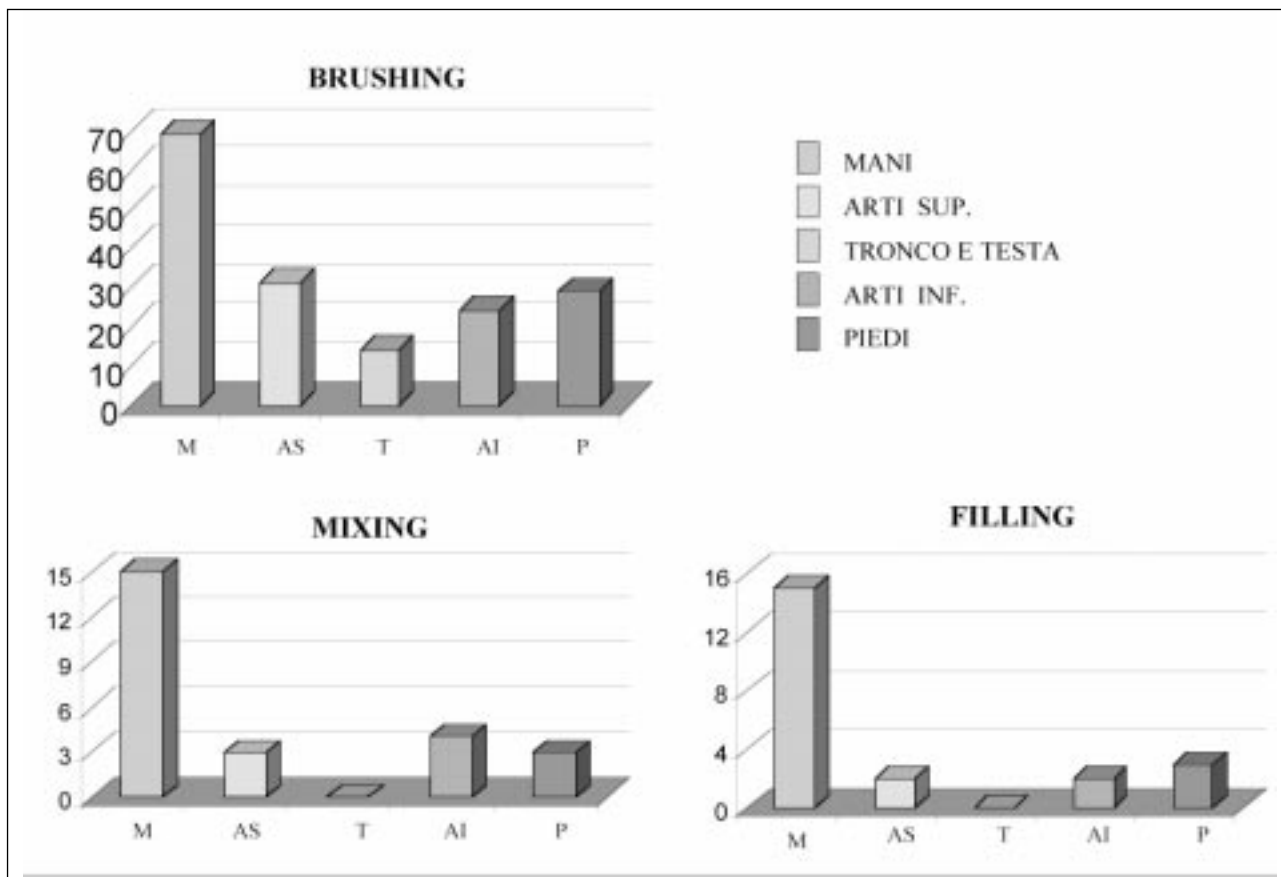


Figura 1. Parti del corpo contaminate

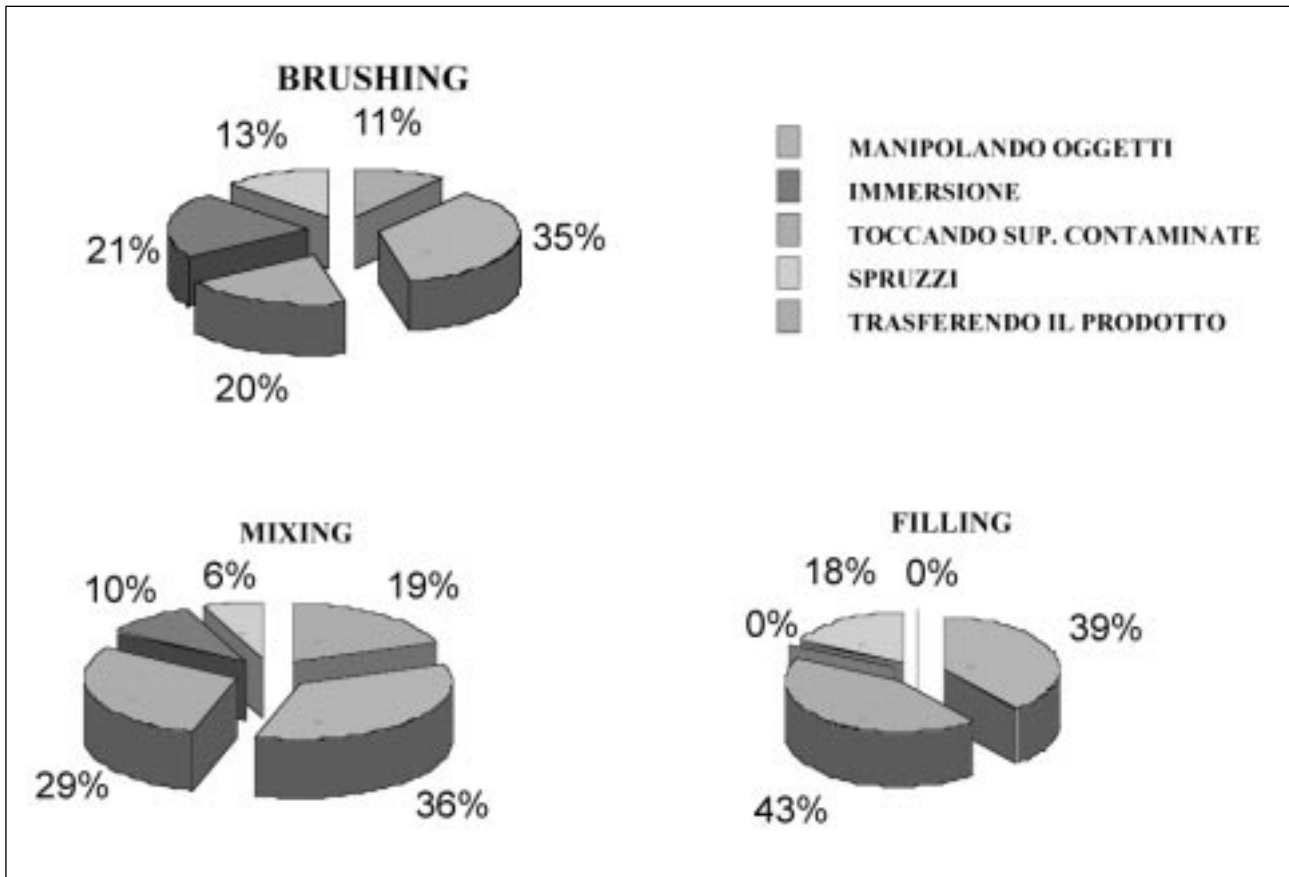


Figura 2. Modalità di contaminazione cutanea

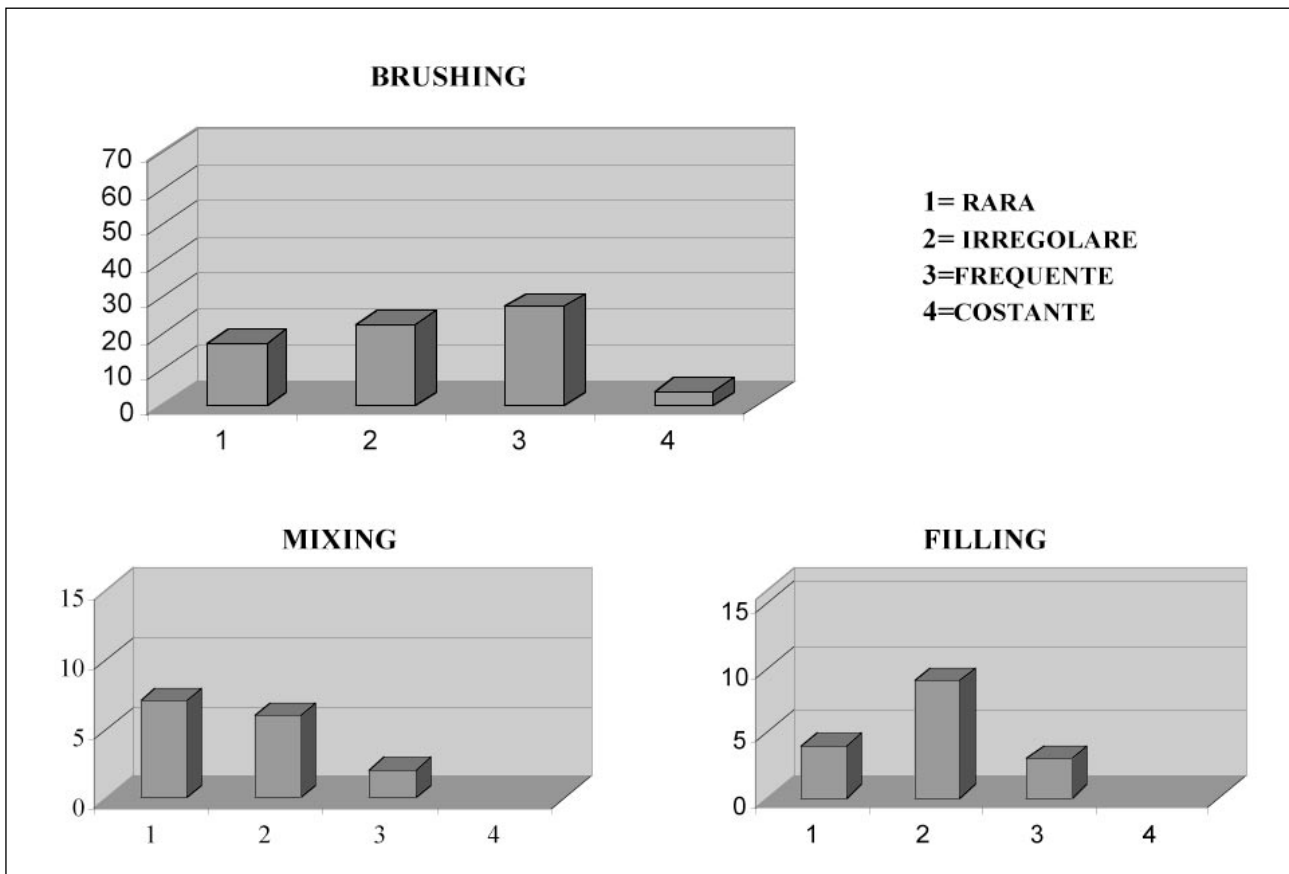


Figura 3. Frequenza del contatto cutaneo

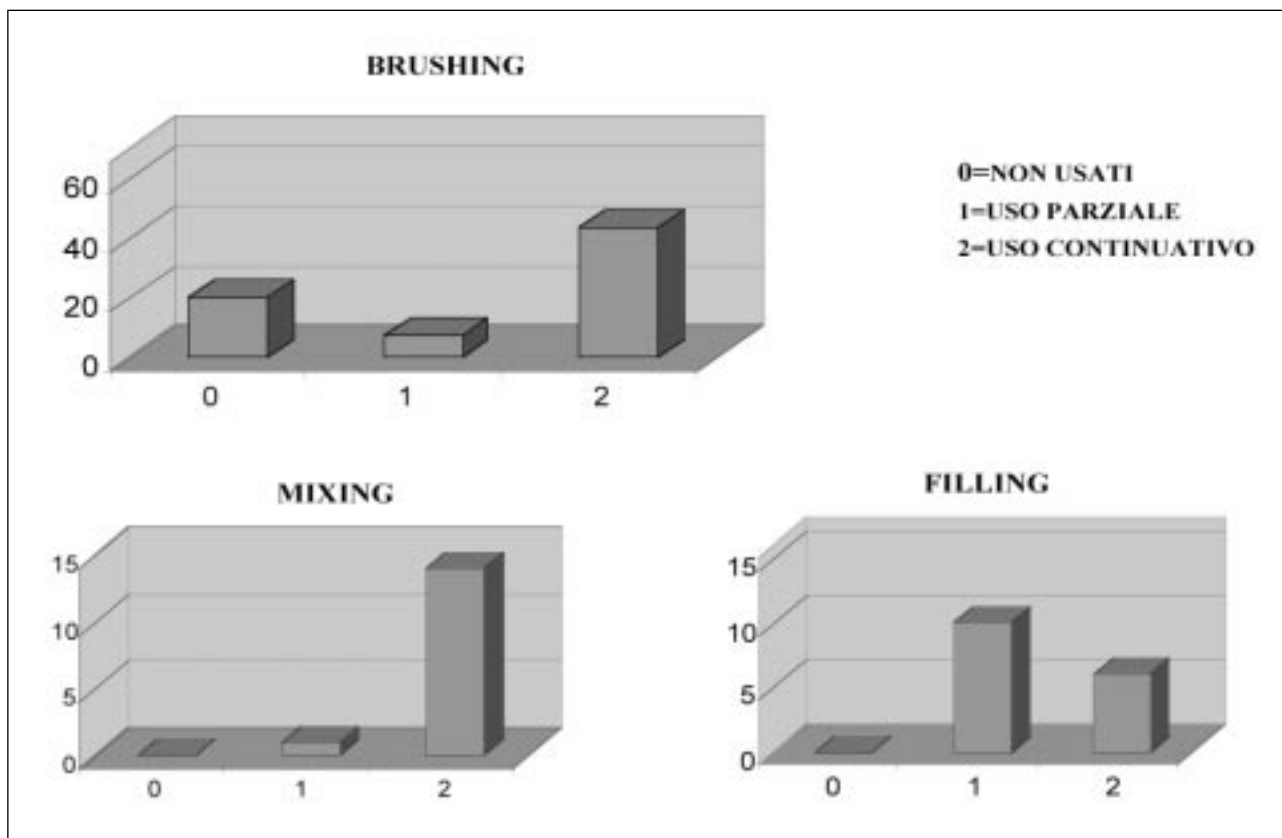


Figura 4. Impiego di guanti protettivi

occhiali); frequente la contaminazione da schizzi di prodotti (decoratori) La frequenza del contatto cutaneo è episodica e casuale nei decoratori, irregolare (con incidenze diverse) negli asfaltatori, nei lavoratori della ceramica artistica e negli addetti alla produzione di vernici (Figura 3).

Tutte le parti contaminate risultano coperte da indumenti protettivi definendo quindi, in ordine agli assunti fondamentali della prima fase della ricerca, situazioni di esposizione cutanea potenziale. I guanti da lavoro sono in cotone o gomma, impiegati (Figura 4) solo per parte dell'attività lavorativa negli asfaltatori e per tutta la durata dell'attività negli altri casi. I guanti protettivi sono risultati integri ma già usati, non specifici per protezione chimica e non certificati; il loro impiego e la loro sostituzione non sono regolamentati da raccomandazioni specifiche né scritte né orali.

Discussione

La cute può costituire una via di assorbimento di tossici industriali di rilevante importanza come documentato in specifiche situazioni - casi emblematici sono le ammine aromatiche cancerogene e non (5) - e come conferma l'ormai diffusa pratica di segnalare tale rischio mediante la notazione "cute" accanto al nome chimico delle sostanze nelle tabelle dei valori limite; peraltro, il diverso approccio metodologico seguito per la dimostrazione della tossicità percutanea (1, 6) rende ragione della eterogeneità delle valutazioni che si osserva confrontando le diverse tabelle (7). Il tentativo di utilizzare modelli di valutazione dell'esposi-

zione cutanea è motivato sia dall'obiettiva difficoltà di misurare i livelli di contaminazione dermica con metodi igienistici, sia a fronte della necessità delle figure professionali cui compete la valutazione e gestione del rischio di usufruire di strumenti pratici, affidabili e semplici. Il progetto RISKOFDERM si propone di basare il modello del *risk assessment* partendo dalla diretta osservazione degli scenari espositivi esistenti in Europa nei vari settori produttivi; ciò si rende possibile per il coinvolgimento di numerosi centri di ricerca europei e per la notevole articolazione del progetto stesso.

La "Qualitative survey", step osservazionale del progetto di ricerca, ha permesso di mettere a punto un questionario basato su un accordo internazionale che è stato utilizzato sul campo come strumento per la valutazione della contaminazione cutanea. Il questionario ha standardizzato la procedura di osservazione ed ha raggiunto una serie di obiettivi:

- individuazione delle operazioni a maggior rischio sulle quali indirizzare gli interventi di tipo preventivo (manipolazione degli strumenti, contaminazione accidentale, tempo di contatto con la cute, aree di cute soggette a maggiore contaminazione);
- individuazione dei tempi di contatto potenziale o reale con il tossico industriale;
- valutazione dell'organizzazione del lavoro e delle istruzioni di carattere preventivo impartite ai lavoratori;
- analisi sistematica dei mezzi di protezione e della loro efficacia;
- valutazione del prodotto utilizzato e del rischio di assorbimento percutaneo ad esso associato.

Le osservazioni realizzate dal gruppo italiano hanno verificato come, nelle aziende considerate, la percezione del rischio di assorbimento percutaneo sia complessivamente bassa, come se sporcarsi la cute fosse più un problema estetico che un problema di sicurezza sul lavoro. Il rischio risulta legato ad una sottostima del problema, ad un errato utilizzo dei mezzi di protezione personale, ad abitudini di pulizia inadeguati, ad una organizzazione del lavoro spesso inadeguata. Nessuna delle situazioni lavorative osservate è provvista di protocolli - programmi rivolti alla prevenzione della contaminazione cutanea: ne consegue una insufficiente informazione e formazione dei soggetti.

La standardizzazione di un questionario è risultato un metodo valido sia per conoscere l'esposizione che per promuovere una migliore percezione del rischio: ciò risulta utile indipendentemente dalla situazione analizzata e dalla sostanza/sostanze in causa.

I risultati di queste osservazioni consentiranno alle altre tre fasi della ricerca l'elaborazione di un "toolkit" semplificato da utilizzare negli ambienti di lavoro con lo scopo di far conoscere e poi intervenire al fine di ridurre al mi-

nimo il rischio di assorbimento attraverso questa via. Proprio per questo il metodo impostato risulterà utile a quello che è l'obiettivo di chi si occupa di tossicologia e igiene industriale: la prevenzione dell'assorbimento.

Bibliografia

- 1) Fiserova-Bergerova V. Relevance of occupational skin exposure. *Ann Occup Hyg* 1993; 37: 673-685.
- 2) Larese F, Sartorelli P, Scansetti G. Assorbimento percutaneo dei tossici industriali: il Dermal Exposure Network (DEN) dell'Unione Europea. *Med Lav* 1998;89: 538-544.
- 3) Lund CC, Browder NC. The estimation of areas of burns. *Surg gyn Obstet* 1944; 79: 252-258.
- 4) Riskofderm. Contract No. QLK 4-CT-1999- 01107. 5th Framework Programme of the European Community.
- 5) Scansetti G, Piolatto G, Rubino GF. Skin notation in the context of work-place exposure standards. *Am J Ind Med* 1988; 725-732.
- 6) Schneider T, Vermeulen R, Brouwer D, et al. Conceptual model for dermal exposure. *Occup Environ Med* 1999; 56: 765-773.
- 7) Drexler H. Assignment of skin notation for MAK values and its legal consequences in Germany. *Int Arch Occup Health* 1998; 71: 503-505.

F. Larese¹, G. Adami², G. Maina³, M. Venier², E. Reisenhofer¹

La valutazione dell'assorbimento percutaneo: risultati preliminari di uno studio realizzato nell'ambito del progetto europeo EDETOX

¹ UCO Medicina del Lavoro, Università di Trieste, Via della Pietà 19, 34129 Trieste (Italy)

² Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Trieste, Via Giorgieri 1, 34127 Trieste (Italy)

³ Dipartimento di Traumatologia, Ortopedia e Medicina del Lavoro - Università di Torino

La comprensione della rilevanza dell'assorbimento percutaneo dei tossici industriali è necessaria per definire meglio un rischio fino ad oggi mal valutato. Nel 1997 la Dermal Network dell'Unione Europea (Sartorelli 2000) aveva permesso di riunire insieme tutti i ricercatori europei che si occupavano di assorbimento percutaneo ed i risultati di gruppi di lavoro e di incontri hanno permesso di far partire progetti di ricerca finalizzati ad avere più dati sulla penetrazione dei tossici attraverso la cute. La Dermal Network è servita a far lavorare insieme numerosi istituti europei che sono riusciti a proporre progetti di ricerca comuni.

Il programma europeo EDETOX è nato grazie a questa possibilità di incontri e confronti ed oggi coinvolge 18 istituti europei fra cui 2 italiani che dal 2000 al 2003 potranno lavorare con la finalità di studiare meglio l'assorbimento percutaneo. Infatti in passato si è puntualizzato molto di più sul rischio di sensibilizzazione e di lesione della cute a contatto con tossici industriali ed i dati scientifici su tali argomenti sono numerosi e rilevanti, mentre molto più esigui e spesso non confrontabili sono quelli relativi alla valutazione del passaggio di tossici attraverso la cute. Si tratta di un rischio che deve essere ulteriormente studiato per dare indicazioni di tipo preventivo ma anche per cercare di definire in modo migliore la "skin notation" suggerita dall'ACGIH (Scansetti 1988).

Ede tox è strutturato in 5 work packages (WP) che hanno l'obiettivo di studiare il passaggio dei tossici attraverso la cute.

Nella prima fase (WP1) è stato definito un protocollo comune da seguire nei laboratori coinvolti al fine di giungere alla standardizzazione della metodica in vitro e sono iniziati esperimenti con tossici campione per confrontare i vari laboratori. Sono state scelte 4 sostanze standard da testare di cui 3 di utilizzo farmaceutico (caffaina, testosterone e acido benzoico) ed una di utilizzo industriale (butossietanolo) per le quali fossero presenti numerosi dati sperimentali tali da poter definire un valore di flusso percutaneo e di lag-time (tempo necessario per ottenere un flusso di tossico costante attraverso la cute). Il metodo utilizzato per la ricerca è stato quello delle Franz cell (Franz 1975), cellette in vetro o altro materiale, ampiamente usate in ambito farmaceutico, dove nel compartimento donatore viene distribuito il tossico da valutare e nel compartimento ricevente viene valutato ad intervalli regolari di tempo la

quantità di sostanza che è permeata attraverso una membrana cutanea che divide i due compartimenti. Il WP 1 ha permesso di definire un protocollo comune da applicare nel proseguo degli esperimenti.

Il WP2 è nato per approfondire lo studio dell'assorbimento percutaneo dei tossici su volontari che vengono esposti a livello cutaneo ad una piccola quantità di sostanza chimica da analizzare: lo studio in vivo permette di avere informazioni molto precise sull'assorbimento ma risulta difficile da eseguire e condizionato all'esecuzione di test su sostanze note di uso comune. Si tratta però di un gold-standard con cui si andranno a confrontare gli esperimenti fatti in vitro e sarà utilizzato come punto di riferimento.

Il WP3 prevede l'esecuzione di esperimenti in vitro su un'ampio ventaglio di sostanze seguendo lo stesso protocollo definito nel WP1: ogni laboratorio contribuisce in base alla sua esperienza e alla sua operatività: per quanto attiene al nostro gruppo si eseguiranno esperimenti sui solventi (glicoli) portando a termine quanto già in precedenza realizzato (Larese 1999). Altri gruppi si occuperanno di numerose sostanze, nel tentativo di ottenere dati di buona qualità per conoscere meglio il rischio di assorbimento.

Il WP4 ha il compito di unire insieme tutti i dati sperimentali ottenuti nel progetto, di confrontarli con quelli già presenti nella letteratura (data base) e di elaborarli con la finalità di realizzare una modellistica utile dal punto di vista pratico per predire un rischio di assorbimento percutaneo. Si tratta di valutare e analizzare criticamente quanto di già disponibile e di definire un nuovo modello che tenga conto dei dati "buoni" e dell'esperienza emersa dai nuovi dati prodotti nell'ambito del WP precedenti.

Il WP5 prevede, a conclusione del lavoro sperimentale, la redazione della relazione finale dove suggerire agli organismi che si occupano di redigere la normativa di riferimento, una miglior definizione dell'attuale "skin notation" proposta dall'ACGIH nonché una diffusione dei risultati nell'ambito scientifico. Si tratta di un obiettivo ambizioso che sarà condizionato dalla bontà dei dati che riusciremo ad ottenere e dalla capacità di elaborazione. Certo è che questo progetto di ricerca potrà permettere di avere in qualche anno informazioni scientifiche più numerose e standardizzate per capire meglio il rischio di assorbimento percutaneo.

Nel presente contributo verranno analizzati i risultati ottenuti dal nostro laboratorio nello studio di un solvente

facilmente assorbibile attraverso la cute (butossietanolo) e di una polvere metallica (cobalto) il cui passaggio attraverso la cute è studiato solo come allergizzante e non come tossico sistemico, anche se vi sono evidenze industriali di questa possibilità di penetrazione (Scansetti 1994). Si tratta di due esempi emblematici di questo rischio di assorbimento.

Materiali e Metodi

Gli esperimenti sono stati condotti utilizzando celle di Franz in vetro e lembi di cute umana proveniente da cadavere o da chirurgia adeguatamente conservata (Franz 1975). Il butossietanolo è stato applicato al 50% in acqua nel compartimento donatore ed è stata utilizzata soluzione fisiologica come sostanze ricevente. I prelievi sono stati effettuati a 1-2-4-8 ore dall'ora di applicazione e la concentrazione del tossico nella soluzione ricevente è stata valutata con metodo gascromatografico.

La polvere di cobalto è stata applicata in sospensione in sudore sintetico utilizzando una fase ricevente contenente tampone fosfato. L'analisi del metallo è stata eseguita sulle soluzioni acidificate con HNO_3 e utilizzando uno spettrofotometro di assorbimento atomico Perkin-Elmer 5100 dotato di fornetto di grafite HGA 600 con correzione del fondo con sistema Zeeman (ETAAS) e usando un campionatore automatico AS-60. La calibrazione è stata eseguita con soluzioni standard in matrice modificata con $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ all'1%.

Risultati

Nel Grafico n. 1 sono riportate le curve di permeazione ottenute per il butossietanolo, da cui si è estrapolato un flusso di permeazione di $7.32 \pm 1.39 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ed un lag time di 1.73 ± 0.58 ora. Le curve ottenute risultano ben sovrapponibili e le deviazioni standard sono limitate.

Nel Grafico n. 2 vediamo invece le curve di permeazione degli esperimenti realizzati con il cobalto: si tratta di un passaggio molto limitato ma è interessante notare come sia presente un flusso di permeazione verificabile negli in-

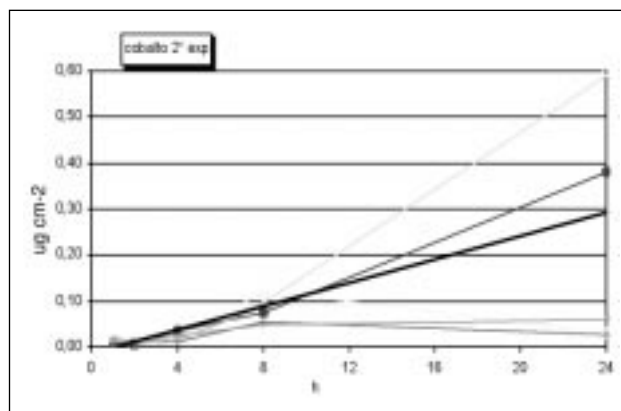


Grafico 2. Curve di permeazione del Co

tervalli di tempo presi in considerazione, anche se si hanno ordini di grandezza al di sotto di quanto rilevato per il butossietanolo.

Discussione e conclusioni

I dati preliminari ottenuti hanno permesso di confermare la capacità del butossietanolo di passare attraverso la cute ma ha fatto emergere anche a livello sperimentale un rischio (seppur limitato) di assorbimento sistemico dopo contatto con polvere finissima di cobalto. Ciò conferma quanto osservato nelle indagini eseguite sui lavoratori esposti, con un'incremento di permeazione nella serie di esperimenti eseguiti con l'utilizzo della sospensione di Co in sudore sintetico. Le curve di permeazione risultano tuttavia piuttosto variabili e questo rende necessario completare gli esperimenti aumentando il numero dei campioni testati.

I risultati di questi esperimenti sono incoraggianti in quanto con una metodica facile e veloce permettono di avere informazioni utili per definire il rischio di assorbimento percutaneo di tossici industriali e quindi di dare indicazioni preventive ai lavoratori esposti. In particolare nelle condizioni ambientali dove è già stato eseguito un buon controllo dell'inquinante nell'aria mentre resta ancora elevato il rischio di contaminazione e quindi assorbimento percutaneo.

Questi primi dati, uniti a quelli che verranno ottenuti dai partner europei permetteranno ad EDETOX di contribuire in modo fondamentale alla ricerca tossicologica europea, colmando una lacuna di conoscenze e aumentando le informazioni relative ad un rischio che va sempre più considerato.

Bibliografia

- 1) Franz TJ. J Invest Dermatol. 1975; 93: 633.
- 2) Larese F, Fiorito A, Adami G, Barbieri P, Coceani N, Reisenhofer E, Int Arch Occup Environ Med 1999; 72: 480.
- 3) Sartorelli P, Andersen HR, Larese F et al. Environ Toxicol Pharmacol 2000; 8: 133.
- 4) Scansetti G, Botta GC, Spinelli P, Reveglione L, Ponzetti C. Sc Total Environ 1994; 150: 141.
- 5) Scansetti G, Piolatto G, Rubino GF. Am J Indust Med 1988; 14: 725.

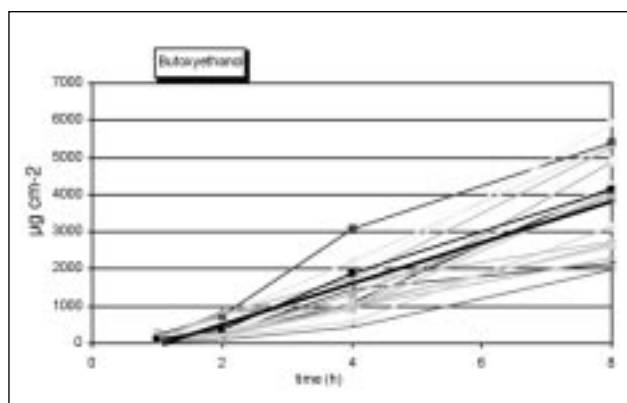


Grafico 1. Curve di permeazione del BE

A. Ioli, L. Lo Giudice, C. Fenga

Manifestazioni cutanee da parassiti nella patologia professionale

Dipartimento di Medicina Sociale del Territorio, Università degli Studi di Messina

Se è ben noto che l'attività patogena dei parassiti interessa l'intero mantello cutaneo, non può essere sottaciuto il concetto che, salvo alcuni particolari momenti delle malattie parassitarie o escludendo particolari atteggiamenti patogenomici da parte dei parassiti (ad es. la *Tache noire* è espressione della febbre bottonosa), le modificazioni cliniche rilevate a livello cutaneo ed in realtà sostenute da parassiti, possono essere, di norma, assimilate a malattie diverse.

In tal caso, allo svantaggio di non essere pervenuti a porre diagnosi corretta di malattie parassitarie, si associa il danno reale arrecato al soggetto parassitato perché non sottoposto a corretta terapia.

Dopo la presente e modesta premessa, occorre ricordare che vari agenti patogeni (direttamente o indirettamente al completamento di particolari cicli bio-epidemiologici che ad alcune malattie fanno assumere dimensioni di non trascurabile impegno), sono all'origine di manifestazioni cutanee, considerando tutti i soggetti indipendentemente da vari fattori (età, sesso, condizioni lavorative) o particolari gruppi di soggetti che più facilmente possono essere esposti all'azione dei parassiti.

Non è fuori luogo, a tal punto, ricordare che questi vengono fondamentalmente, raccolti in due gruppi: Protozoi ed Elminti.

Pur essendo vari i momenti di infezione o di infestazione, non si può non riconoscere che manifestazioni cutanee diverse (esantemi maculopapulosi, manifestazioni pruriginose, arrossamenti locali più o meno estesi, ecc.) possono, come detto, riconoscere una etiologia parassitaria.

Tra i protozoi responsabili di manifestazioni su indicate non si può non ricordare il ruolo di *Leishmania* che, nella sua forma viscerotropa, è agente di una forma ben definita (Leishmaniosi cutanea) che si manifesta clinicamente nella forma secca e nella forma umida. L'agente della prima è *L. tropica tropica o minor* e della seconda *L. tropica maior*.

La forma secca presenta un periodo d'incubazione variabile da due mesi fino a qualche anno (1, 2). Talora, però, quando l'infezione non abortisce all'inizio, compare la lesione caratteristica da *L. tropica*, chiamata appunto "Bottone d'Oriente". Si tratta di un nodulo che acquista un colore rossastro delle dimensioni di 1-3 mm, pruriginoso, tendente ad acquistare delle dimensioni più vaste, anche maggiori di quelle di una nocciola. Il granulo-

ma formatosi diventa sempre più consistente e si approfonda mediante formazioni intimamente aderenti che si originano in corrispondenza degli sbocchi follicolari, al punto che, se si cerca di asportarle, si osservano sulla superficie inferiore dei prolungamenti cornei (segno del chiodo).

La lesione, in genere unica, si presenta quindi coperta da squame sottili e molto aderenti, finché dopo alcuni mesi (3, 6) si realizza una crosta sotto la quale si trova un'ulcera a margini netti, con tendenza alla formazione di un tessuto di granulazione che si forma spontaneamente entro 1-2 anni. Lungo i margini dell'ulcera si trovano i parassiti, i quali restano localizzati nelle cellule del sistema reticoloendoteliale della zona.

Nella forma umida, invece, il periodo di incubazione è più breve (da una a pochissime settimane fino ad un massimo di 2 mesi). La lesione si localizza solitamente agli arti inferiori sotto forma di un nodulo rosso vivo di 5-10 mm di diametro, tendente ad aumentare di volume e ad ulcerarsi dopo due settimane. L'ulcera formata presenta margini delimitati, senza pus, a fondo coperto di essudato e tende a guarire entro un periodo di 3-6 mesi. Sono frequenti le sovrapposizioni piogene e batteriche in ogni caso dovute a grattamento.

Se la leishmaniosi cutanea è una classica malattia ad etiologia protozoaria, non si può, però, sottovalutare il ruolo di un altro protozoo *Giardia lamblia*, dotato di azione patogena proteiforme che, tra le forme a prevalente sintomatologia extra digestive, è responsabile di manifestazioni papulose o eritemo-infiltrative. Si tratta di una malattia che colpisce tutti i soggetti, anche se più frequentemente l'età infantile, e si diffonde mediante il circuito oro-fecale, quindi attraverso l'ingestione da parte del soggetto di materiale inquinato.

La cisti, che è costituita dalla forma infettante, eliminata dal malato o dal portatore, sopravvive nell'ambiente esterno anche alcuni mesi, inquinando facilmente l'acqua ed alimenti tipo la frutta; non bisogna, poi, trascurare il contagio interumano, ad es. nella scuola dove, se non vengono attuate le norme opportune di educazione sanitaria, si creano i presupposti per il mantenimento della malattia nella popolazione scolare.

Molto noto è l'interessamento della cute da parte di elminti. *Enterobius vermicularis*, *Taenia saginata*, *Toxocara sp.*, *Trichinella spiralis*, *Taenia echinococcus*, sono re-

sponsabili di manifestazioni cutanee pressoché costanti diffuse e variabili nell'estrinsecazione sintomatologica che può andare dal riscontro di prurito a manifestazioni orticarioidi, ad eczemi, ad infezioni piogene dovute a grattamento, ecc.

Un particolare aspetto clinico è dato dal riscontro di *Larva migrans cutanea* che, in ultima analisi, è l'espressione di infestazioni da elminti pregresse o passate inosservate. Così come espressioni di interessamento cutaneo da parte di *Rickettsia conorii* è la *tache noire* che si rileva in coincidenza della puntura da parte di zecche che veicolano l'agente etiologico su indicato.

Ma accanto alla presentazione di parassiti responsabili di interessamento cutaneo, è importante il rapporto tra i parassiti e la rilevazione di manifestazioni sicuramente attribuibili a parassiti in soggetti che per motivi di lavoro possono andare incontro ad infezioni o ad infestazioni.

Forse potrebbe apparire eccessivo il rapporto tra un'attività lavorativa svolta in tenera età (frequenza all'attività scolastica e rilevazione di infezioni da *Giardia lamblia* o di infestazioni da *Enterobius vermicularis* e/o da *Pediculus capitis* (1, 2).

Per tale motivo non sarebbe mai fuori luogo effettuare delle ricerche epidemiologiche opportune presso soggetti appartenenti al mondo della scuola che costituisce un ambiente idoneo per l'instaurarsi di malattie parassitarie che, come detto, si traducono in manifestazioni cutanee.

Ma al di là del fenomeno appena riferito, è opportuno rilevare che esistono categorie di soggetti che realmente possono andare incontro a manifestazioni parassitarie.

I falegnami, ad es. e tutti coloro che lavorano il legno, possono andare incontro a manifestazioni cutanee di natura allergica, dovute a *Pyemotes ventricosus* (3,4).

P. ventricosus appartiene alla famiglia Pyemotidae. Si tratta di un acaro, delle dimensioni di mm 0,20x0,22, ectoparassita solitamente di larve di insetti infedati a cereali immagazzinati, anche se può interessare anche i parassiti del legno e può, pertanto, essere abbondante, numeroso nelle abitazioni con mobili tarlati. Esso è, infatti, un parassita delle larve di un piccolo lepidottero appartenente alla famiglia Gelechidae, *Sotitroga cerealella*. Può essere riscontrato nella paglia, nel fieno o in mezzo ad altri semi e può parassitare anche larve di altri insetti.

Presenta notevole dimorfismo sessuale. Infatti il maschio è corto ed ovale, presenta opistoma con una ventosa ventrale terminale e zampe del IV paio particolarmente robuste. La femmina, vivipara, si presenta sotto due forme: la forma non gravida lunga 0,22 mm, ellittica, con isterosoma ed opistosoma stretto ed allungato; la sua forma gravida, molto più grande, 2 mm, con opistosoma estremamente dilatato e sferico, contenente all'interno numerose uova.

È interessante ricordare il ciclo biologico di *Pyemotes*. Le giovani femmine fertili, appena identificato un ospite, conficcano il rostro e ne succhiano la linfa, sicché il loro corpo, ingorgandosi si accresce ed assume l'aspetto di una sfera con un diametro di 1 mm. Le uova

schiodono all'interno di questo enorme sacco finché i giovani, appena nati, non abbiano raggiunto la piena maturità sessuale. Dopo circa 10 gg., alla temperatura di +25°C, ha inizio la fuoriuscita della progenie che può essere portata avanti per oltre un mese. Durante tale periodo vengono emesse, deposte circa 200 individui al giorno. Secondo una stima statistica, il 3-4% degli elementi è di sesso maschile. Tali elementi vivono da parassiti sulla madre, rimanendo sul corpo in prossimità dell'orificio genitale ed appena fuoriescono gli elementi di sesso femminile le fecondano ed assicurano, così, la perpetuazione del ciclo.

Sotto il profilo epidemiologico anche se *Pyemotes* parassita la paglia ed il fieno, può anche essere ospitato da coleotteri della famiglia Anobiidae, genere *Oligomerus*, specie *ptilinoides*.

La diagnosi clinica può essere confortata da una ricerca indiretta del parassita su materiale (legno tarlato) proveniente dalla abitazione del soggetto colpito. Gli acari, dopo chiarificazione in acido lattico e montati su vetrino in soluzione di "Berlese" vengono identificati al microscopio.

I serbatoi di diffusione dell'acaro sono larve di altri insetti ed i veicoli sono rappresentati da fieno, paglia, materassi di crine, frammenti di legno eroso, ecc.

Le lesioni determinate da *P. ventricosus* sono formazioni papulo-eritematose lievemente rilevate, rossastre e talora anche vescicolose. Talvolta, alla manifestazione dermatologica si accompagnano ipertermia, nausea e cefalea.

La diagnosi viene effettuata mediante raschiamento di materiale prelevato dalla lesione ed identificazione microscopica dell'acaro.

Dopo la comparsa di manifestazione pomfoidi e prima ancora di procedere ad un trattamento nei riguardi dei tarli del legno è essenziale effettuare una corretta diagnosi ricordando che i primi segni della manifestazione si osservano 6-12 ore dopo l'attacco del parassita.

Gli addetti alla stabulazione del bestiame possono presentare manifestazioni dovute a contatto con *Taenia echinococcus* (in tal caso, può essere utile la ricerca sierologica di anticorpi specifici); del pari possono essere colpiti gli addetti alla macellazione del bestiame ed andare incontro a Leptosirosi (5-8). Non sono esclusi, anzi costituiscono delle categorie particolarmente esposte, gli allevatori di bestiame.

In ambito ospedaliero non è da trascurare la possibilità del riscontro di infestazioni da *Sarcoptes scabiei*.

Ma per tutte le malattie valgono sempre le misure di opportuna profilassi e soprattutto il concetto che tutti i parassiti in linea teorica possono determinare manifestazioni morbose del mantello cutaneo.

Bibliografia

- 1) Ioli A, Lo Giudice L, Forino D, La Tassa E, Leonaldi R, Mento G, Pagnania D, Pernice L, Fossari MT, Ferlazzo M, Vasi A. Un modello di studio parassitologico della popolazione scolastica di una U.S.L. della Sicilia. Ig San Pubbl 1990; 46 Fasc. 2, pag. 81.

- 2) Vasi A, Verzera A, D'andrea G, Gembillo C, Ferlazzo M, Fossari MT, Luca A, Meliadori G. Ricerca di pediculosi del cuoio capillizio e scabbia in una popolazione scolastica di un comune della provincia di Messina. *Rass Med Intern* 1985; 6: 507.
- 3) Ioli A, Lo Giudice L, Mento G. Dermatiti inusuali da acari. *Atti Giornate Dermovenereologiche Messinesi 1994-95*, pag. 75.
- 4) Bellido-Blasco JB, Arredo-Pena A, Gonzales-Moran F, Ripolles-Moles JL, Pac-Sa MR, Chiva Nebot F. Dermatitis outbreaks caused by Pyemotes. *Med Clin* 2000 Mar 4; 114(8): 294-6.
- 5) Faraone U, Russo G, Micalizzi N. Epidemiologia delle malattie parassitarie. Indagini sierologiche sulle leptospirosi, trichinosi e distomatosi presso un gruppo di lavoratori. *Riv Parass* 1982; 43: 483.
- 6) Russo G, Ferlazzo M, Fossari MT, Gembillo C, Panagia D. Ricerca di anticorpi per Idatidosi, Distomatosi, Aspergillosi in soggetti addetti alla macellazione. *Scripta Medica Bruttia* 1985; N. 3: 289.
- 7) Fenga C, Spatari G, Russo O, Ioli A. Rassegna delle attività lavorative a rischio d'infezione da leptospire. Prevenzione e sorveglianza sanitaria. *G Ital Med Lav Erg* - Vol. XXII, n° 3 - luglio-settembre 2000; 223-228.
- 8) Germanò D, Fenga C, Russo O, Spatari G, Lo Giudice L, Forino D, Ioli A. Indagini di sierologia e di patologia clinica per leptospirosi presso un gruppo di lavoratori esposti al rischio dell'infezione. *Atti Convegno su "Leptospirosis in Italy"*, Messina, 27-28 ottobre 2000.