

A. Alessio¹, P. Zadra¹, S. Negri¹, L. Maestri¹, R. Imberti³, S. Ghittori¹, M. Imbriani², A. Cavalleri⁴

Monitoraggio biologico dell'esposizione occupazionale a Desflurane

¹ Fondazione S. Maugeri, IRCCS - Laboratorio Monitoraggio Esposizione Inquinanti Aeriformi

² Dipartimento di Medicina Preventiva, Occupazionale e di Comunità, Università degli Studi di Pavia - Servizio di Fisiopatologia Respiratoria ed Ergonomia della Fondazione S. Maugeri, IRCCS

³ Servizio Anestesia e Rianimazione del Policlinico S.Matteo, Pavia - IRCCS

⁴ Dipartimento di Medicina Preventiva, Occupazionale e di Comunità, Università degli Studi di Pavia

RIASSUNTO. In alcune sale operatorie è stata determinata la concentrazione ambientale di Desflurane (D) e la concentrazione urinaria della sostanza immodificata in 21 soggetti professionalmente esposti (anestesiisti, chirurghi, infermieri). È stata riscontrata una correlazione significativa tra la concentrazione di Desflurane nelle urine prodotte nel corso dell'esposizione (C_u , $\mu\text{g/L}$) e la concentrazione ambientale di D (C_1 , ppm):

$\text{Log D (Cu, } \mu\text{g/L)} = ,191 + ,922 * \text{LogCI; } r = ,916$

Nel 76% dei casi i valori delle concentrazioni ambientali sono risultati inferiori al valore limite di 2 ppm indicato dal NIOSH per l'esposizione a gas anestetici. I risultati dimostrano che la concentrazione urinaria di Desflurane può essere usata come appropriato indice biologico di esposizione, da affiancare al monitoraggio ambientale.

Parole chiave: Desflurane, monitoraggio biologico, esposizione occupazionale.

ABSTRACT. www.gimle.fsm.it

In these last years Desflurane (D) has become used, alone or in combination with nitrous oxide, in surgical procedures. Occupational exposed groups include anesthesiologists, other physicians, (e.g. surgeons) and operating room nurses. Desflurane is a halogenated methylethylether which is administered by inhalation. Desflurane is halogenated exclusively with fluorine. The blood/gas partition coefficient of Desflurane is 0,42. Changes in the clinical effects of Desflurane rapidly follow changes in the inspired concentration. Studies in man indicate that Desflurane washes into the body rapidly. It also washes out of the body rapidly, allowing flexibility in adjustment of the depth of anaesthesia. Desflurane is eliminated via the lungs, undergoing only minimal metabolism (0,02%). In order to investigate the role of urinary D as an indicator of occupational exposure to Desflurane (C_1 , ppm), C_1 was measured in 21 members of operating room staffs. For the measurement of environmental concentration of Desflurane (C_1), the ambient air was sampled using personal passive dosimeters. The analyte was desorbed by a water-methanol mixture and was analysed by means a gas chromatograph - mass spectrometer (GC-MSD) and headspace technique. The biological monitoring of exposed workers was conducted by determining the concentration of Desflurane in urine (C_u , $\mu\text{g/L}$). Urine concentrations of Desflurane were determined by headspace analysis using GC-MSD. Significant correlations were found between the environmental Desflurane concentration and the urinary concentrations. The correlation between C_1 (ppm) and C_u ($\mu\text{g/L}$) was:

*$\text{Log D (Cu, } \mu\text{g/L)} = ,191 + ,922 * \text{LogCI; } r = ,916$*

On the basis of the equation it was possible to establish tentatively the biological limit values corresponding to the respective occupational exposure limit values proposed for Desflurane.

Key words: Desflurane, biological monitoring, occupational exposure.

Introduzione

Le continue evoluzioni che si verificano negli ambienti di lavoro, principalmente a causa delle innovazioni tecnologiche, impongono a tutti coloro che a vario titolo sono coinvolti nella programmazione della prevenzione occupazionale di effettuare periodiche verifiche rivolte a valutare l'eventuale modificazione di situazioni di rischio.

Questo concetto era stato già esposto in modo molto efficace da Luigi Devoto nel 1901: "Le industrie si moltiplicano, si trasformano, si rinnovano" (1).

Anche nell'ambito delle attività sanitarie si verificano situazioni analoghe, in particolare per quanto attiene ai fattori di rischio chimico. Una situazione esemplare in tal senso è costituita dalle sale operatorie in cui vengono utilizzate, per indurre l'anestesia, differenti tipi di gas anestetici.

La conoscenza degli effetti tossici che questi gas possono esercitare sui lavoratori esposti ha reso necessaria la standardizzazione di tecniche di monitoraggio ambientale e biologico e la identificazione dei valori limite occupazionali (2).

Da più di 20 anni vengono diffusamente utilizzati, nei paesi occidentali, i valori limite proposti dal NIOSH che prevedono per il N_2O concentrazioni di 25 ppm e per i gas anestetici alogenati 2 ppm; nel caso di esposizione contemporanea i valori limite per i gas anestetici alogenati sono stati ridotti a 0,5 ppm.

Anche la Regione Lombardia ha preso in considerazione da tempo questa problematica ed in una recente revisione (3) ha proposto che, per valori crescenti di gas anestetici sia in matrici ambientali che biologiche vengano adottate delle azioni specifiche.

Sia le raccomandazioni NIOSH che quelle più recenti della Regione Lombardia si riferiscono ai "tradizionali" gas anestetici alogenati; esse non considerano, invece, i farmaci di ultima generazione, quali Sevoflurane e Desflurane.

In un recente lavoro (4) è stata descritta una nuova metodica per il monitoraggio ambientale e biologico della esposizione occupazionale a Sevoflurane

In letteratura, invece, non sono fino ad ora reperibili studi relativi alla esposizione occupazionale a Desflurane, anestetico di più recente impiego.

Scopo del lavoro è quello di valutare le relazioni esistenti tra concentrazioni atmosferiche e urinarie di Desflurane in un gruppo di lavoratori esposti.

Materiali e Metodi

Casistica

Si sono presi in considerazione 21 soggetti, anestesisti, chirurghi e infermieri, monitorati nel corso delle rispettive attività in sala operatoria, durante la somministrazione di anestetico nel corso di interventi di chirurgia generale.

Monitoraggio ambientale e biologico

In tutti i soggetti la esposizione è stata valutata mediante monitoraggio ambientale e biologico, effettuati indifferentemente in uno dei giorni della settimana lavorativa. Le concentrazioni di Desflurane sono state stimate per mezzo di campionatori passivi (Radiello, Fondazione S. Maugeri Padova) posti in zona respiratoria del lavoratore. Ciascun prelievo è durato per tutto il turno operatorio, normalmente 4/5 ore. I risultati sono espressi come valori medi ponderati.

Il monitoraggio biologico è stato effettuato mediante dosaggio della escrezione urinaria di Desflurane immodificato alla fine del turno operatorio. A tutti i lavoratori è stato chiesto di svuotare la vescica prima dell'inizio della attività lavorativa. Immediatamente alla fine della stessa è stato raccolto un campione dell'urina prodotta nelle quattro ore precedenti. I campioni dei lavoratori che avevano urinato prima di quattro ore sono stati scartati in quanto non rappresentativi dell'intero periodo di lavoro. Entro due minuti dalla minzione una aliquota di urina è stata trasferita in vials con tappo a tenuta. I flaconi sono stati poi mantenuti refrigerati fino al momento dell'analisi che, in ogni caso, è stata effettuata entro pochi giorni dalla raccolta del campione.

Metodiche analitiche

Non avendo nessuna indicazione circa la possibilità o meno di utilizzare i campionatori a diffusione Radiello per la determinazione ambientale del Desflurane, è stato necessario studiare il comportamento e l'efficacia di adsorbimento. A tal fine i campionatori sono stati posizionati in un ambiente inquinato da Desflurane a concentrazione controllata (camera d'esposizione) e sono stati esposti a concentrazioni differenti per tempi diversi. Il confronto diretto delle concentrazioni ambientali è stato effettuato ogni 15 minuti utilizzando siringhe da gas e iniettando l'aria prelevata in un gascromatografo (G1800 GCD Series II, Hewlett Packard USA) collegato ad uno spettrometro di massa (GC-MS).

Nella camera sono stati introdotti 20 campionatori a diffusione e sono stati mantenuti per tempi prestabiliti da un minimo di un'ora ad un massimo di 5 ore. Ad ogni ora dalla camera veniva prelevata una coppia di Radiello.

Per valutare il profilo di escrezione urinaria del Desflurane, sono state raccolte le urine di due volontari fino al giorno successivo l'esposizione, analizzandone lo spazio di testa. Il primo volontario è stato esposto ad una con-

centrazione di 17.04 ppm per un tempo di 4 ore. Il secondo volontario è stato esposto ad una concentrazione di 1.01 ppm sempre per 4 ore.

La determinazione del Desflurane, sia nell'aria che nei campioni biologici, è stata effettuata mediante GC-MS.

Le condizioni di operatività del GC erano le seguenti: temperatura di iniezione 200°C; temperatura del forno 30°C; gas di trasporto elio; colonna capillare (diametro interno 0.2 mm) di 25 mt cross-linked fenilmetilsilicone. Lo ione di massa è quello con rapporto m/e = 51; il tempo di ritenzione del Desflurane è 1.51 minuti.

Dopo il campionamento ogni singola cartuccia di Radiello è stata posta all'interno di un flacone di vetro a cui prima dell'analisi deve essere aggiunta una soluzione di acqua e metanolo (40/60). I vials contenenti metanolo/acqua prima dell'analisi sono posti per due ore in stufa ad una temperatura di 45°C; le quantità di anestetico adsorbite sul campionatore sono misurate iniettando nel GC l'aria dello spazio di testa dei vials.

I campioni di urina prima dell'analisi sono lasciati a 37°C per circa due ore agitandoli periodicamente per favorire il raggiungimento dell'equilibrio tra le due fasi urina/aria. L'analisi è stata effettuata caricando 2 ml di aria dello spazio di testa del flaconcino in un loop da 0.5 ml ed iniettandoli nel GC. Il limite di rivelabilità della metodica è di 0.10 µL di Desflurane; il recupero, calcolato con il metodo delle aggiunte in campioni di urina, variava dal 94 al 103 a seconda delle concentrazioni, infine il coefficiente di variazione (CV%) entro la serie calcolato sulla base di 5 determinazioni varia dal 4.5 al 7.9%, mentre quello tra le serie, basato su 5 campioni diversi dosati in 5 sessioni differenti, dal 5.5 al 9%, sempre a seconda delle concentrazioni dell'analita.

Per il Desflurane, come per gli altri anestetici volatili, l'eliminazione renale avviene per diffusione, che è regolata dall'equilibrio della pressione parziale tra urina e plasma (5). Come conseguenza, il rapporto delle concentrazioni di Desflurane nell'urina e nel sangue tende ad essere uguale al coefficiente di distribuzione tra urina e sangue. La correzione del valore urinario di una sostanza non è giustificata se i suoi meccanismi di escrezione differiscono da quelli della creatinina (31), pertanto i valori di Desflurane urinario non sono stati corretti.

Analisi statistica

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite impiegando il programma StatView. Tenuto conto della distribuzione log-normale dei dati ambientali raccolti, la correlazione con i valori biologici è stata calcolata dopo trasformazione logaritmica di tutti i dati.

Risultati

Nella tabella I sono riportati i valori medi e mediani e il range degli indicatori di esposizione a Desflurane. Come si può rilevare, nella maggioranza dei lavoratori l'esposizione ambientale è contenuta, sebbene nel 24% circa dei soggetti (5 su 16) il valore limite suggerito dal NIOSH di 2 ppm sia superato. Il valore mediano di Desflurane dell'intero grup-

Tabella I. Risultati del monitoraggio ambientale e biologico

	N°soggetti	Media	DS	Mediana	DGS	Range
Concentrazione ambientale TWA di desflurane (ppm)	21	3,43	4,69	1,60	3,30	0,29-13,18
Desflurane urinario (µg/L)	21	2,10	1,06	0,17	3,32	0.20- 6,13

TWA = media ponderata nel tempo
DS = deviazione standard
DGS = deviazione geometrica standard

po è pari all'80% di tale limite. Sono state poi calcolate le correlazioni tra concentrazioni ambientali di Desflurane e l'indicatore biologico d'esposizione studiato. I risultati sono riportati in figura 1. In accordo con gli altri anestetici fluorurati sino ad ora studiati la correlazione è risultata significativa, il coefficiente di correlazione r è infatti di 0,916. In un gruppo di controllo di 10 soggetti non esposti a gas anestetici è stata determinata la concentrazione di Desflurane presente nelle urine raccolte alla fine di una giornata lavorativa: non è stato evidenziato alcun picco in corrispondenza del tempo di ritenzione del Desflurane, un dato che depone a favore della specificità del biomarker.

La cinetica di eliminazione del Desflurane attraverso le vie urinarie è illustrata in figura 2.

L'analisi dei dati sperimentali raccolti in laboratorio ha permesso di calcolare il flusso di campionamento del Radiello: il valore ottenuto è risultato essere pari a 0,154 ml/min.

Discussione

Il Desflurane venne sintetizzato per la prima volta durante gli anni 60 nell'ambito di un progetto di ricerca sugli anestetici alogenati. L'introduzione del Desflurane nelle tecniche anestesiolgiche rientra nell'ambito della tendenza a ricercare nuovi farmaci che consentano un controllo ottimale della anestesia e inducano minori effetti tossici. Il Desflurane possiede la seguente formula bruta: C₃F₆OH₂. Confrontando la formula di struttura del Desflurane con

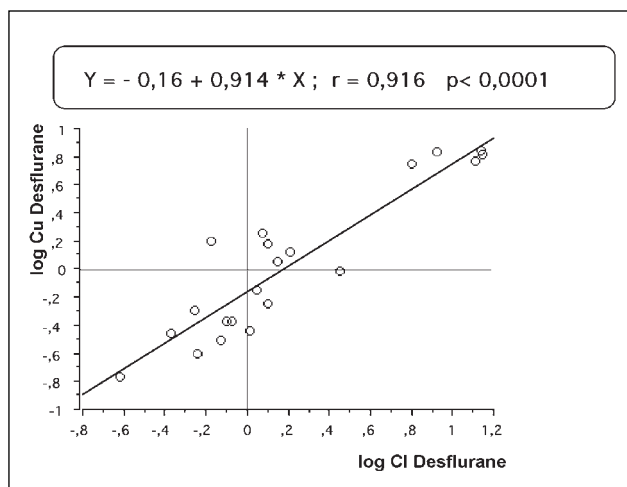


Figura 1. Retta di regressione tra i livelli ambientali TWA di Desflurane e i valori di Desflurane urinario. I risultati sono espressi in valori logaritmici

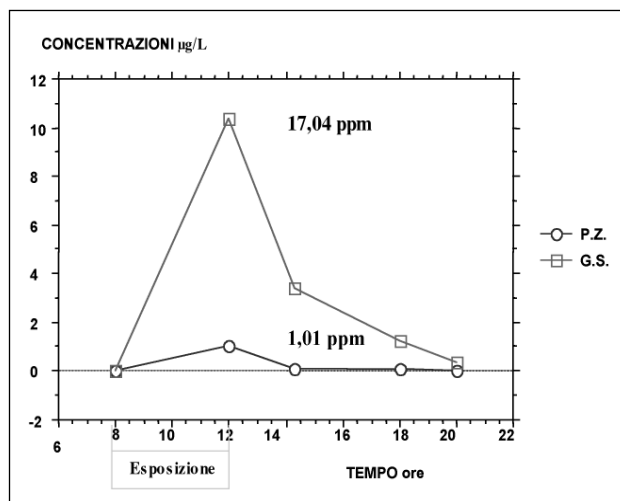


Figura 2. Cinetica di eliminazione del D in due soggetti volontari esposti a Desflurane per 4 ore, in figura sono riportate i valori delle le concentrazioni ambientali

quella degli altri gas anestetici alogenati si osserva che questa sostanza possiede 6 molecole di fluoro (figura 3).

Attraverso la relazione struttura-attività della molecola si può notare che aumentando gli atomi di fluoro si ha maggiore stabilità. Alcune proprietà chimico-fisiche vengono riportate nella Tabella II. Dall'esame della tabella si possono osservare alcune proprietà che differenziano il Desflurane dagli al-

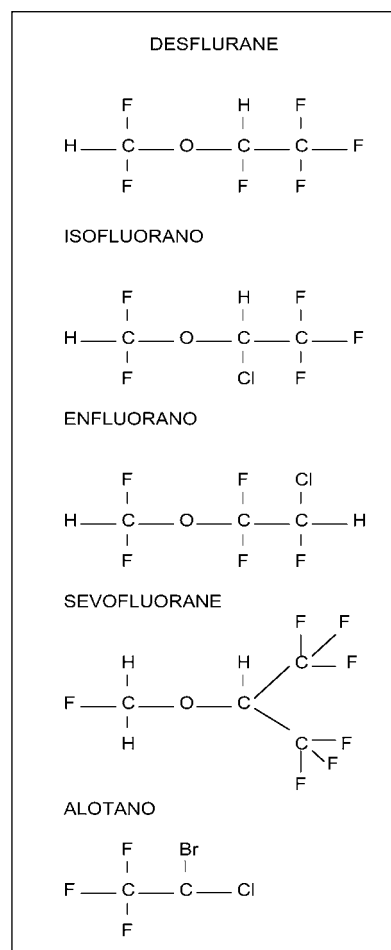


Figura 3. Formule di alcuni dei principali anestetici fluorurati

Tabella II. *Proprietà chimico-fisiche e percentuali di metabolizzazione di alcuni anestetici inalatori*

	DESFLURANO	SEVOFLURANO	ISOFURANO	ENFLURANE
PESO MOLECOLARE	168	200	184,5	184,5
PUNTO DI EBOLLIZIONE	22,8	58,5	48,5	56,5
STABILITÀ IN CALCE SODATA	Stabile	Discretamente Stabile	Stabile	-
PERCENTUALE DI ANESTETICO METABOLIZZATO	0,02%	<5%	0,20%	2,0%

tri anestetici alogenati, come ad esempio il punto di ebollizione più basso ed il peso molecolare più basso; altre differenze che distinguono il Desflurane dagli altri gas anestetici sono evidenti nella metabolizzazione: infatti il Desflurane viene metabolizzato solo per lo 0.02% della dose assorbita.

La via metabolica del Desflurane è sovrapponibile a quella dell'isoflurane. Il citocromo P-450 è in grado di inserire un atomo di ossigeno tra l'alfa-etilcarbonio del Desflurane ed il suo idrogeno. Il prodotto risultante, altamente instabile, viene degradato da ultimo a tre ioni di fluoro liberi, acido trifluoroacetico, anidride carbonica e acqua (figura 4).

A causa delle particolari proprietà chimico fisiche e in particolare del basso punto di ebollizione (22.8 °C) della sostanza in esame, è stato necessario adottare per l'analisi alcuni accorgimenti; infatti questo anestetico si comporta

come un gas quando si trova a temperatura ambiente. I problemi si sono riscontrati nella fase preparativa degli standard; per evitare perdita di sostanza, imprecisione e scarsa riproducibilità è stato sfruttato il fatto che il punto di congelamento è molto basso. Pertanto, alla fine di aumentare la stabilità e ridurre le perdite nelle matrici tutte le operazioni sono state condotte all'interno di un congelatore alla temperatura di -32°C, nel quale era posizio-

nato, oltre a Desflurane, tutto il materiale necessario per fare le diluizioni (aghi, siringhe, vials già chiusi contenenti metanolo). Solo dopo diversi tentativi è stato possibile ottenere una buona riproducibilità nelle rette di taratura.

Dai dati raccolti e dalla sperimentazione con le esposizioni controllate si nota come il momento migliore per la raccolta del campione biologico sia la fine dell'esposizione; questi risultati confermano quanto evidenziato per gli altri anestetici alogenati (7-10) con la sola eccezione del Sevoflurano (4). I campioni di urine raccolti otto ore dopo l'esposizione presentano solo tracce di Desflurane.

Per il Desflurane non sono stati specificatamente indicati limiti ambientali di esposizione ma, tenuto conto che questo farmaco può essere paragonato ad altri anestetici fluorurati, riteniamo si possano utilizzare i valori limite di 0.5 ppm (se utilizzato in associazione con N₂O) o di 2 ppm (se utilizzato da solo) proposti da NIOSH per queste sostanze.

Scopo principale della presente ricerca è stato quello di individuare le relazioni tra i livelli di esposizione media ponderata di anestetico (CI, ppm) e la concentrazione di Desflurane in campioni di urina raccolti dopo almeno 4 ore di esposizione (Cu, µg/L) in un gruppo di soggetti professionalmente esposti e di suggerire quindi un valore sufficientemente accurato per il limite biologico equivalente di esposizione (LBEE). Il LBEE può essere definito come la concentrazione di una sostanza (o di un suo metabolita) in un dato comparto biologico riscontrato in soggetti esposti ad una concentrazione di xenobiotico pari al valore limite ambientale proposto. Il calcolo del LBEE richiede solo l'analisi della regressione fra due serie di valori (i valori ambientali e i corrispondenti valori biologici) e va scelto entro l'intervallo fiduciale compreso fra due limiti fiduciali superiore ed inferiore della retta di regressione (5). I risultati del monitoraggio biologico hanno confermato l'esistenza di una correlazione significativa fra livelli urinari di Desflurane ed il grado di esposizione. Utilizzando il limite fiduciale inferiore (per avere un valore di LBEE più restrittivo) si ottiene il seguente valore di Desflurane urinario: 0.9 µg/L, corrispondente ad una esposizione di 2 ppm. Quando la esposizione ambientale è attorno al valore di 0,5 ppm l'utilizzo del monitoraggio biologico può presentare qualche problema in quanto il limite fiduciale inferiore corrisponde a 0,3 µg/L, valore vicino al limite di rivelabilità analitica.

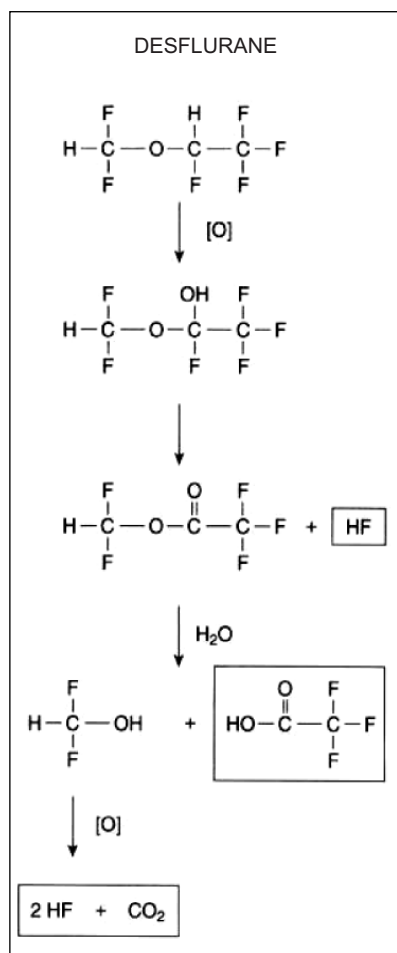


Figura 4. *Le vie metaboliche ossidative proposte per il desflurane*

Conclusione

I dati ottenuti indicano che la tecnica è accurata, precisa e riproducibile. I risultati preliminari indicano inoltre che la concentrazione di Desflurane nelle urine è correlata alle concentrazioni di anestetico presenti in sala operatoria. Il tempo più appropriato per il campionamento è la fine del turno lavorativo.

Questi risultati dovranno essere validati su un più vasto numero di soggetti nei quali sarà necessario verificare se per le esposizioni studiate esistano o meno effetti a carico degli organi bersaglio e in particolare del Sistema Nervoso Centrale e Neuroendocrino, che si sono dimostrati particolarmente sensibili alla azione dei gas anestetici di tipo tradizionale (11).

Bibliografia

- 1) Devoto L. Ai lettori. Il lavoro, 1901: 1: 1.
- 2) Bollettino Ufficiale della Regione Lombardia Milano- Martedì, 4 Gennaio 2000. 1° Supplemento Straordinario al N.1. Anno XXV N° 5. Varese La Tipografica Varese SpA.
- 3) Imbriani M, Ghittori S, Pezzagno G, Capodaglio E. Esposizione Professionale ad Anestetici per inalazione, metabolismo, tossicità, metabolismo. Quaderni di Medicina del Lavoro e Medicina Riabilitativa. Fondazione Clinica del lavoro Pavia, La Goliardica Pavese 1990.
- 4) Imbriani M, Zadra P, Negri, Alessio A, Maestri L, Ghittori S Monitoraggio biologico dell'esposizione professionale a sevofluorane. La medicina del lavoro Vol 92, n. 3 Maggio - Giugno 2001: 1121-9017.
- 5) Ghittori S, Imbriani M, Pezzagno G, Capodoglio E. The urinary concentration of solvents as a biological indicator of exposure: proposal for the biological equivalent exposure limit for nine solvents. Am Ind Hyg Assoc J 1987; 48: 786-790.
- 6) Rosemberg J, Fiserova-Bergerova V, Lowry L. Biological monitoring IV: measurements in urine. Appl Ind Hyg 1989; 4: F16-20.
- 7) Imbriani M, Ghittori S, Pezzagno G, Capodaglio E. Evaluation of exposure to isoflurane (Forane): environmental and biological measurements in operating room personnel. J Toxicol Environ Health. 1988;25(4):393-402.
- 8) Imbriani M, Ghittori S, Pezzagno G, Capodoglio E. Anesthetic in urine as biological index of exposure in operating room personnel. Toxicol Environ Health 1995; 46 (2): 249-260.
- 9) Imbriani M, Ghittori S, Zadra P, Imberti R. Biological monitoring of the occupational exposure to halothane (fluothane) in operating room personnel. Am J Ind Med. 1991; 20(1): 103-12.
- 10) Imbriani M, Ghittori S, Pezzagno G, Capodoglio E. Biological monitoring of occupational exposure to enflurane (ethrane) in operating room personnel. Arch Environ Health. 1994 Mar-Apr;49(2):135-40.
- 11) Lucchini R, Bellotti L, Cassitto MG, Falliance A, Margonari M, Micheloni G, Scapellato ML, Somenzi V, Spada T, Toffoletto F. Neurobehavioral functions in operating theatre personnel: a multicenter study 1997; 88, n. 5, 396.

Richiesta estratti: Dr. A. Alessio - Fondazione S. Maugeri, IRCCS, Istituto di Pavia - Laboratorio Monitoraggio Esposizione Inquinanti Aeriformi - Via A. Ferrata, 4 - 27100 Pavia, Italy