

ALLERGENI INDOOR NEGLI UFFICI. PROPOSTA PER IL CAMPIONAMENTO E L'ANALISI DELLA POLVERE

*L. Frusteri**, *R. Giovinazzo**, *P. Iacovacci***, *S. Barca****, *E. Guerrera*****,
*M. Mameli******, *C. Novi******, *D. Sarto******, *N. Todaro**, *G. Di Felice***, *C. Pini***

* INAIL - Direzione Generale - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione;

** ISS - Laboratorio di Immunologia;

*** INAIL - Direzione Regionale Lazio - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione;

**** INAIL - Direzione Regionale Umbria - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione;

***** INAIL - Direzione Regionale Toscana - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione;

***** INAIL - Direzione Regionale Campania - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione;

***** INAIL - Direzione Regionale Liguria - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione

RIASSUNTO

L'accertamento e la valutazione del rischio rappresentano per l'INAIL un aspetto istituzionale fondamentale ai fini sia prevenzionali che assicurativi. La necessità di adottare procedure uniformi su tutto il territorio nazionale onde garantire maggiore omogeneità e rigore scientifico alla valutazione stessa, ha indotto la costituzione di un gruppo di lavoro CONTARP per l'approfondimento della problematica relativa alla presenza degli allergeni della polvere negli ambienti di lavoro ad uso ufficio (allergeni di acari, blatte, muffe e gatto) e la messa a punto, in collaborazione con il Laboratorio di Immunologia dell'ISS, di un protocollo per il relativo campionamento e l'analisi. Quanto emerso dallo studio ha portato alla stesura di una Linea Guida "Allergeni indoor nella polvere degli uffici. Campionamento e analisi", in corso di stampa. Questo lavoro intende presentare in forma schematica le varie fasi operative previste dal protocollo per l'accertamento dell'esposizione professionale agli allergeni della polvere indoor.

SUMMARY

Exposure to indoor allergens has been shown to be a high risk factor for sensitization and it may induce or maintain symptoms of asthma and allergic diseases. House dust mite, fungal, pet and insect allergens are typically found in domestic dust reservoirs, but they are also widespread in work environments like offices. The risk assessment is one of the main institutional functions activities of INAIL and; it is important to define standardized protocols to procedures of monitoring study allergens' levels in work environments because there are not. For this purpose, Inside the Technical Advisory Department for Occupational Risk Assessment and Prevention (CONTARP), it has been created a work team to define set this protocol in order sampling and analytical procedures for allergens' assessment in Italian work environments to apply it in all the National territory.

1. PREMESSA

Acari, muffe, insetti ed animali domestici rappresentano un'importante fonte di allergeni negli ambienti confinati sia domestici che lavorativi. L'interesse scientifico nei loro confronti è enormemente aumentato in considerazione dell'incremento della frequenza di

manifestazioni allergiche registratosi nella popolazione in questi ultimi venti anni e del forte impatto sociale ad esso associato, anche in termini di costi economici per l'assistenza sanitaria (Ministero Salute, 2001). Allo stato attuale, né a livello nazionale né internazionale esistono linee guida ufficiali che indichino per gli allergeni livelli di esposizione accettabili ai fini sanitari, anche se sono state avanzate delle proposte di valori soglia teorici per la sensibilizzazione e per l'insorgenza di attacchi acuti di asma (Platts-Mills *et al.*, 1992). Mentre sulla correlazione tra esposizione ad allergeni e sensibilizzazione c'è una certa unanimità di consensi, il rapporto tra esposizione e manifestazioni acute di asma è, invece, molto più complesso. Infatti, molti pazienti con asma sono esposti e sensibilizzati nei confronti di più allergeni *indoor* ed è difficile definire il contributo di ciascuno di essi nello scatenamento della sintomatologia acuta.

Non sono disponibili procedure ufficiali standardizzate di accertamento e valutazione del rischio, indispensabili per valutare l'esposizione, effettuare la sorveglianza sanitaria degli esposti e adottare misure di prevenzione ambientale per ridurre il rischio di sensibilizzazione o di scatenamento di una sintomatologia acuta nei soggetti sensibilizzati.

Ciò premesso, la CONTARP Centrale ha avviato nel 2001 un progetto mirato all'approfondimento della problematica relativa alla presenza degli allergeni indoor negli ambienti di lavoro, in particolare nel terziario. Al fine di avere una conoscenza più ampia del problema è stato costituito un gruppo di lavoro, che prevede la partecipazione della CONTARP Centrale, delle CONTARP delle Direzioni Regionali per la Campania, il Lazio, la Liguria, la Toscana e l'Umbria e la collaborazione del Laboratorio di Immunologia dell'Istituto Superiore di Sanità di Roma. Scopo principale del progetto è stata la definizione e la standardizzazione di procedure per il monitoraggio ambientale degli allergeni (campionamento e analisi), attraverso la realizzazione di campagne di prelievi in alcuni Uffici ubicati in diverse Regioni italiane.

Quanto emerso dallo studio ha portato alla stesura di una Linea Guida "*Allergeni indoor nella polvere degli uffici. Campionamento e analisi*", in corso di stampa.

2. I PIÙ COMUNI ALLERGENI INDOOR

Acari

Gli acari sono responsabili di patologie allergiche quali asma bronchiale e rino-congiuntiviti (FAIN *et al.*, 1990).

Gli acari dermatofagoidi, comunemente noti come acari della polvere domestica (in Italia i più diffusi sono *Dermatophagoides farinae* e *D. pteronyssinus*), contengono nel loro corpo e nelle feci alcuni allergeni che, aderendo alle particelle di polvere sospese nell'aria, si depositano in breve tempo sul pavimento e sulle superfici. La sopravvivenza degli acari allo stadio adulto richiede condizioni di umidità particolari (circa 50% U.R. a 20°C). Per gli allergeni acaridici sono stati proposti valori soglia per la sensibilizzazione e per l'insorgenza di attacchi acuti di asma (rispettivamente 2 µg e 10 µg per grammo di polvere).

Animali Domestici

Gli allergeni degli animali domestici, soprattutto cani e gatti, sono associati a peli, saliva, forfora e urina (Custovic *et al.*, 1994; Perfetti *et al.*, 1999). L'allergene del gatto è associato a particelle di polvere molto piccole, rimane adeso ai vestiti e può pertanto essere veicolato facilmente o permanere a lungo nell'ambiente anche in assenza dell'animale stesso. Esso provoca asma, rinocongiuntivite e patologie cutanee (PERZANOWSKY *et al.*, 1999). Per l'allergene Fel d 1 sono stati suggeriti valori soglia compresi tra 2 e 8 µg/g per la sensibilizzazione e valori > 8 µg/g per lo sviluppo di attacchi acuti di asma.

Muffe

La presenza di muffe si associa ad ambienti particolarmente umidi. Le muffe producono spore o conidi per la loro riproduzione: l'inalazione di spore può determinare la comparsa di patologie allergiche. Molto diffusa risulta essere la specie fungina *Alternaria alternata*, responsabile di gravi forme di asma bronchiale.

Blatte

Anche le blatte rappresentano una significativa fonte di allergeni, soprattutto negli edifici con scarso livello igienico (CHAPMAN, 1993). In Italia, la specie più comunemente riscontrata negli ambienti *indoor* è *Blattella germanica*. Gli allergeni delle blatte sono stati estratti da corpo, saliva e feci.

Anche le blatte sono ritenute responsabili di asma bronchiale.

3. MONITORAGGIO AMBIENTALE DEGLI ALLERGENI INDOOR

La persistenza degli allergeni nella frazione inalabile varia in funzione sia della forma e delle dimensioni delle particelle in cui essi sono contenuti ($10 \div 40 \mu\text{m}$ per acari e blatte, $<5 \mu\text{m}$ per gatto e cane) che della turbolenza dell'aria, per cui gli allergeni rimangono in sospensione per un periodo di tempo differente: tendono a depositarsi velocemente quelli da acari e da blatte e a rimanere maggiormente sospesi quelli da gatto o cane.

Il monitoraggio degli allergeni *indoor* può essere effettuato mediante la raccolta delle polveri sedimentate oppure tramite campionamento del particolato aerodisperso. Il campionamento degli allergeni aerodispersi fornisce dati più rappresentativi della reale esposizione, ma ancora pochi sono gli studi che consentono di valutarne la validità. Inoltre, richiede lunghi tempi di prelievo e negli ambienti nei quali non si verificano spostamenti d'aria, le quantità di aeroallergeni dispersi sono troppo piccole e difficili da rilevare (LUCZYNSKA *et al.* 1990). Infine, ci sono pochissimi dati sulla correlazione tra livelli aerei degli allergeni e sensibilizzazione o sintomatologia acuta.

In letteratura, finora, il metodo più utilizzato è quello della raccolta delle polveri su superficie, che può essere effettuata secondo modalità diverse.

Sono, inoltre, disponibili sistemi immunoenzimatici che consentono l'analisi di diversi allergeni *indoor* veicolati dalla polvere, quali Der p 1, Der f 1 e Mite Group 2 per gli acari, Fel d 1 per il gatto, Can f 1 per il cane, Bla g 2 per le blatte, Asp f 1 e Alt a 1 per le muffe. I test analitici più riproducibili e specifici si avvalgono dell'uso di anticorpi monoclonali e consentono di effettuare un'analisi sia qualitativa che quantitativa.

4. IL PROTOCOLLO ADOTTATO PER GLI UFFICI

Il protocollo adottato dalla CONTARP prevede la raccolta della polvere sedimentata sulle superfici degli ambienti a uso ufficio per la successiva estrazione e l'analisi degli allergeni in essa presenti.

E' consigliabile effettuare almeno due campagne annuali di prelievi - una estiva e una autunnale - onde studiare la eventuale variabilità stagionale della concentrazione allergenica, specialmente per gli allergeni di acari e muffe, contemplando i due "estremi" microclimatici possibili.

In considerazione delle diverse variabili che possono influenzare la presenza e la persistenza degli allergeni in un ambiente confinato (condizioni microclimatiche, numero di persone presenti, possesso di animali domestici, ecc.) sono state selezionate, in ogni ufficio, quattro tipo-

logie di ambienti in cui effettuare la raccolta della polvere: 1) stanza con 1 impiegato, 2) stanza con più impiegati (ove maggiore è il calpestio e l'accumulo di detriti organici), 3) archivio cartaceo (ove si suppone sia notevole l'accumulo di polvere, ma generalmente privo di una presenza fissa di impiegati), 4) stanza aperta al pubblico (ove il calpestio e l'afflusso di persone è massimo).

Il prelievo di polvere deve essere effettuato a livello della postazione del lavoratore, cioè nel raggio di azione di questo, e in corrispondenza dell'angolo della stanza più distante dalla finestra (ove si suppone sia maggiore l'accumulo di polvere). Il prelievo deve essere corredato dalla raccolta di informazioni relative agli ambienti di lavoro sottoposti a monitoraggio, agli eventuali disagi percepiti dai lavoratori e alle patologie allergiche cui gli stessi possono essere affetti. A tal fine, è stato elaborato un modello di scheda per la raccolta dei dati, nel quale sono stati inseriti i campi relativi alle principali voci o informazioni di interesse ai fini dello studio.

4.1 Raccolta della polvere sedimentata

L'aspirazione della polvere prevede l'utilizzo di un comune aspirapolvere (1400W) in testa al cui tubo di aspirazione viene montato un beccuccio di plastica in cui è stato precedentemente inserito uno speciale filtro in teflon (Alk Abellò), per l'intrappolamento della polvere, pre-pesato insieme alla sua custodia (Figure 1 e 2).



Figura 1: . Pesata dei filtri



Figura 2.: Inserimento dei beccucci con i filtri nell'aspirapolvere

Per quanto attiene alla regolazione del flusso di aspirazione della polvere, la velocità da adottare è stata standardizzata: 27 L/min., per aspirazioni sul pavimento e sulle superfici di lavoro, 25 L/min per aspirazioni su superfici in tessuto (sedie) o moquette. Anche la durata dell'aspirazione è stata standardizzata (2 minuti per ogni prelievo) così come la superficie interessata (4 fogli formato A4, corrispondenti a 0,25 m²). Nel dettaglio il protocollo prevede due prelievi per stanza, uno a livello della postazione di lavoro e uno a livello dell'angolo della stanza più lontano dalla finestra .

A livello della postazione, 30 secondi di aspirazione sul piano della scrivania, su una superficie pari a 1 foglio A4; 30 secondi sulla sedia del lavoratore, su una superficie pari a 1 foglio A4; 30 secondi x 2 volte (una per ogni foglio A4) sul pavimento sotto il piano della scrivania, su una superficie totale pari a 2 fogli A4. A livello dell'angolo della stanza, 2 minuti su una superficie pari a 4 fogli A4. Effettuata l'aspirazione, si ripone il filtro con la polvere nell'apposita custodia di plastica, che si conserva poi a + 4°C in borsa-frigo con panetti refrigeranti per il trasporto in laboratorio, ove si stocca a -20°C fino al momento dell'analisi.

Prima di stoccare i campioni, è necessario pesare le custodie contenenti i filtri e la polvere. La quantità di polvere raccolta, come richiesto dalla metodica analitica adottata, deve essere di ameno 50-100 mg. Nel caso in cui la quantità di polvere raccolta fosse insufficiente, si procede ad un nuovo prelievo, effettuando un'aspirazione *random* all'interno della stanza per un tempo massimo di 5 minuti.

4.2 Estrazione degli allergeni e loro quantificazione

Si prelevano 100mg di polvere dal campione in esame e si immettono in una microprovetta da 2ml; a questa si aggiungono 2.0ml di PBS-T (una soluzione allo 0.05% di Tween 20). Nel caso in cui il campione di polvere prelevato contenga meno di 50mg di polvere, aggiungere 1ml di PBS-T; se ne contiene tra 50 e 100mg, una quantità proporzionale al peso.

Una volta miscelata la soluzione, usando il vortex, questa viene posta per 2 ore a temperatura ambiente su un piatto rotante oppure a 4°C per tutta la notte. Terminata l'incubazione, si procede alla centrifugazione per 20 minuti a 2500 rpm, a 4°C. Si raccoglie il surnatante estratto mentre si scarta il pellet. Se l'estratto non è utilizzato subito per l'analisi immunoenzimatica, si può conservare a -20°C.

Attualmente, il protocollo di analisi adottato dal gruppo di lavoro INAIL/ISS è una metodica immunoenzimatica proposta dalla *Indoor Biotechnologies* (UK), che consiste nell'utilizzo di anticorpi monoclonali insieme a soluzioni standard di allergeni a concentrazione nota. Le letture dell'assorbanza al termine dell'analisi immunoenzimatica sono direttamente proporzionali alla quantità di allergene legato e i valori sono interpolati dalle rispettive curve di controllo.

BIBLIOGRAFIA

CHAPMAN M.D. (1993): Cockroach allergens: a common cause of asthma in North American cities. *Insights in Allergy* 8: 1-8.

CUSTOVIC A., TAGGART S.C.O., WOODCOCK A. (1994): House Dust Mite and cat allergen in different indoor environments. *Clin Exp Allergy* 24: 1164-1168.

CUSTOVIC A., GREEN R., TAGGART S.C.O., SMITH A., PICKERING C.A.C., CHAPMAN M.D., WOODCOCK A (1996): Domestic allergens in public places II: dog (Can f 1) and cockroach (Bla g 2) allergens in dust and mite, cat, dog and cockroach allergens in the air of public buildings. *Clin Exp Allergy* 26: 1946-1952.

CUSTOVIC A., FLTECHER A. PICKERING A.C. et al. (1998).: Domestic allergens in public places III: house dust mite, cat, dog and cockroach allergen in Britain hospitals. *Clin Exp Allergy* 28: 53-59.

FAIN A., GUERIN B., HART B.J. (1990). : Mites and allergic disease. Ed. Guerin: 190 pp.

FRUSTERI L., GIOVINAZZO R., IACOVACCI P., ANZIDEI P., BARCA S., GUERRERA E., MAMELI M., SARTO D., TODARO N., VENANZETTI F., DI FELICE G., PINI C. (2002).: Allergeni indoor negli uffici: risultati preliminari di uno studio svolto in alcune Regioni italiane. Atti del 20° Congresso Nazionale AIDII, Viterbo 19-21 giugno 2002.

JANKO M., GOULD D.C., VANCE L., STENGEL C.C., FLACK J. (1995).: Dust mite allergens in the office environment. *Am Ind Hyg Assoc J* 56 (11): 1133-40.

LUCZYNSKA C.M., LI Y., CHAPMAN M.D., PLATTS-MILLS T.A.E. (1990).: Airborne concentration and particle size distribution of allergen derived from domestic cats (*Felis domesticus*). Measurements using cascade impactor, liquid impinger and a two-site monoclonal antibody assay for Fel d 1. *Am Rev Respir Dis* 141: 361-367.

PERFETTI L., POZZI V., GRIGNANI E. et al. (1999).: Concentrations of house mites (Der p 1, Der f 1), cat (Fel d 1) and cockroach (Bla g 2) allergens in offices. *Allergy* 54(suppl. 52): 84.

PERZANOWSKY M.S., RONMARK E., NOLD B. et al. (1999).: Relevance of allergens from cats and dogs to asthma in the northernmost province of Sweden: schools as a major site of exposure. *J All Clin Immunol* 103(6): 1018-1024.

PLATTS-MILLS T.A.E., VERVOLOET D., THOMAS W.R., AALBERSE R.C. (1992).: Indoor allergens and asthma: Report of the Third International Workshop. *J Allergy Clin Immunol* 100: S2-S24.

S.O. alla G.U. n. 276 del 27.11.2001, Ministero della Salute. Linee Guida per la tutela e la Promozione della Salute negli Ambienti Confinati

WICKENS K., MARTIN I., PEARCE N., et al. (1997).: House dust mite allergen levels in public places in New Zealand. *J Allergy Clin Immunol* 99 (5): 587-593.