



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PALERMO
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

Dottorato di Ricerca in
Farmacologia e Tossicologia Socio-Ambientale

Coordinatore: Ch.mo Prof. N. D'Alessandro

Settore scientifico disciplinare: MED/41

***EFFETTI DELL'ESPOSIZIONE A TRACCE DI ANESTETICI VOLATILI SULLE
DIVERSE PROFESSIONALITA' OPERANTI IN SALA OPERATORIA A
PREVALENTE INDIRIZZO PEDIATRICO***

Dottoranda:

Dott.ssa Alessandra NOVO

Tutor:

Ch.mo Prof. A. Sansone

Co-Tutor:

Ch.mo Prof. F. Dones

INDICE

Introduzione	pag. 3
Anestetici per inalazione	pag. 4
Anestetici gassosi	pag. 8
Anestetici volatili	pag. 11
Caratteristiche farmacologiche degli anestetici volatili	pag. 13
Obiettivo dello studio	pag. 18
Materiali e Metodi	pag. 19
Tecnica Analitica	pag. 22
Principi dell'estrazione tramite SPME	pag. 23
Principi della Gas-Cromatografia	pag. 28
La Spettrometria di massa	pag. 31
Risultati	pag. 33
Conclusioni	pag. 41
Bibliografia	pag. 44

INTRODUZIONE

Il grande interesse per l'inquinamento da gas anestetici nelle sale operatorie è legato alla comprovata azione tossica di queste sostanze, con conseguente rischio per il personale professionalmente esposto (anestesisti, chirurghi, ferristi e infermieri).

Il problema dell'inquinamento non interessa esclusivamente la sala operatoria ma anche, sebbene in misura ridotta, gli ambienti ad essa adiacenti: sale di lavaggio degli strumenti, di sterilizzazione, corridoi di accesso ed in particolare le sale di risveglio, nelle quali il paziente, continuando ad espirare aria ad elevata concentrazione di anestetico, determina un alto tasso di inquinamento ambientale.

Circa le cause di inquinamento ambientale da anestetici volatili esse possono ricondursi a:

1. fattori strutturali degli ambienti (forma e cubatura delle sale operatorie, presenza o meno di un'efficiente sistema di ventilazione per assicurare un adeguato ricambio d'aria).

2. fattori legati alle modalità e alle linee di erogazione degli anestetici (qualità e quantità degli anestetici utilizzati, concentrazione degli anestetici nei gas, tecniche di anestesia impiegate, tipo di apparecchiature per l'erogazione dei gas le cui perdite si verificano soprattutto a livello dei tubi, dei raccordi, dei flussometri e delle valvole, caratteristiche dell'apparato di smaltimento dei gas, tipo e durata di intervento).

Perdite di gas possono anche aversi per l'uso di maschere facciali a tenuta non perfetta o per la presenza di residui nelle apparecchiature di anestesia.

ANESTETICI PER INALAZIONE

Gli anestetici per inalazione sono farmaci in grado di indurre l'abolizione dello stato di coscienza e sono utilizzati per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia durante interventi chirurgici.

Schematicamente gli anestetici inalatori possono essere classificati in:

- **Inorganici:** Protossido d'Azoto

- **Organici idrocarburi** distinti in: - semplici (ciclopropano)

-alogeno – sostituiti (cloroformio, cloruro di etile, fluotano)

- **Organici eteri** suddivisi in: - semplici (etere dietilico)

- alogeno-sostituiti (enflurano, isoflurano, desflurano, sevoflurano)

Esistono due forme di anestetici inalatori:

1. **Gassosi:** Sono sostanze che a pressione e a temperatura ambiente si trovano allo stato gassoso.

Fanno parte di questo gruppo il Protossido d'azoto e altri anestetici quali etilene, acetilene e ciclopropano che oggi non sono più impiegati a causa dell'elevata infiammabilità ed esplosività.

2. **Volatili:** sono alcuni composti alogenati che a pressione e a temperatura ambiente si trovano allo stato liquido e vengono poi vaporizzati in apparecchi termocompensati ove si miscelano, al momento dell'impiego, con una corrente gassosa proveniente da un impianto centralizzato costituito da Ossigeno (40% circa) e Protossido d'Azoto o Aria (60% circa).

Le concentrazioni dell'alogenato nella miscela, le quali possono raggiungere anche valori elevati in funzione del prodotto utilizzato e del tipo di intervento chirurgico, di norma variano nel corso dello stesso intervento necessitando di concentrazioni più alte nelle fasi di induzione rispetto a quelle per il mantenimento dell'anestesia.

Tra gli anestetici volatili ricordiamo l'Alotano, l'Isoflurano e i più moderni Sevoflurano e Desflurano.

La concentrazione di un singolo gas in una miscela è proporzionale alla sua pressione parziale o tensione di vapore.

Il raggiungimento nel cervello di una concentrazione adeguata di anestetico, per causare anestesia, richiede il trasferimento di quell'anestetico dall'aria alveolare al sangue e poi dal sangue al cervello.

La velocità alla quale si raggiunge una data concentrazione di anestetico nel cervello dipende dalle proprietà di solubilità dell'anestetico, dalla sua concentrazione nell'aria inspirata, dalla frequenza della ventilazione polmonare, dalla velocità del flusso ematico polmonare e dal gradiente di concentrazione (pressione parziale) dell'anestetico fra il sangue arterioso e quello venoso.

È essenziale comprendere che gli anestetici per inalazione si distribuiranno tra i tessuti (o tra sangue e gas) fino a quando non si raggiungerà l'equilibrio ovvero fino a quando la pressione parziale del gas anestetico nei tessuti non sarà uguale a quella del gas ispirato.

Bisogna ricordare che mentre la pressione parziale dell'anestetico può essere uguale in tutti i tessuti, la stessa cosa non si può dire per la concentrazione, in quanto questa dipenderà dai differenti coefficienti di ripartizione in ogni tessuto (Tabella 1).

Tabella 1: Proprietà degli anestetici per inalazione

Anestetico	MAC* %	MAC _{risveglio} ** %	Coeff. di ripartizione a 37°C			Farmaco metabolizzato %
			Sangue:gas	Encefalo:sangue	Grasso:sangue	
Isoflurano	1.2	0.4	1.4	2.6	45	0.2
Sevoflurano	2.0	0.6	0.65	1.7	48	3.0
Desflurano	6.0	2.4	0.45	1.3	27	0.02
Protossido d'azoto	105.0* **	60.0	0.47	1.1	2.3	0.004

*La MAC è la concentrazione alveolare minima.

**La MAC_{risveglio} è la concentrazione alla quale viene persa la capacità di rispondere in modo adeguato a un comando verbale

***Un valore di MAC maggiore di 100% significa che occorrerebbero condizioni iperbariche per ottenere 1 MAC.

Tutto ciò rende difficoltosa la determinazione delle caratteristiche dose-risposta degli anestetici inalatori; quindi per ovviare a tale problema, un'utile stima della potenza anestetica può essere ottenuta usando i principi della dose-risposta quantale.

Durante un'anestesia generale, quando si è raggiunto lo stato di equilibrio, la pressione parziale dell'anestetico inalatorio nel cervello è uguale a quella nei polmoni.

A questo punto, la misura delle concentrazioni alveolari di differenti anestetici offre un confronto delle loro potenze relative.

La concentrazione anestetica alveolare minima (MAC) di un anestetico è definita come quella minima concentrazione alveolare necessaria a produrre l'effetto anestetico.

Per anni si è utilizzato il parametro quantitativo messo a punto da *Eger e Saidman* (1965) noto come **MAC50** che rappresenta la “minima concentrazione alveolare di anestetico necessaria ad abolire la risposta motoria riflessa alla stimolazione chirurgica nel 50% dei pazienti”.

Così, essa rappresenta un punto (ED_{50}) su una convenzionale curva quantale dose-risposta.

In genere, la curva dose-risposta per gli anestetici inalatori è ripida; così, più del 95% dei pazienti può non rispondere ad uno stimolo doloroso a 1,1 MAC.

ANESTETICI GASSOSI

L'anestetico gassoso che oggi viene impiegato nella pratica anestesiológica è il *Protossido d'Azoto* (N_2O). Si tratta di un gas incolore, inodore e insapore che si caratterizza per la bassa tossicità acuta, l'elevata stabilità, la non irritabilità e la non infiammabilità.

Poiché, da solo, è incapace di indurre un'anestesia completa viene impiegato come coadiuvante degli anestetici alogenati di cui riduce la concentrazione necessaria.

Dal punto di vista tossicocinetico, essendo poco solubile nel sangue e nei tessuti, viene rapidamente eliminato per lo più immodificato principalmente per via respiratoria ed in minore misura per via urinaria e cutanea; ciò ne condiziona il non accumulo per esposizioni ripetute.

Solo una piccola parte, invece, va incontro ad un processo di trasformazione riduttiva con formazione di radicali liberi tossici.

I meccanismi patogenetici del Protossido d'azoto in caso di esposizione cronica sono:

1. formazione di radicali liberi responsabili della perossidazione dei fosfolipidi di membrana e della denaturazione di proteine strutturali con modificazioni della permeabilità cellulare, alterazione del ribosio-fosfato e delle basi del DNA con conseguente inattivazione della doppia elica del DNA, aberrazioni cromosomiche e mutazioni geniche;

2. inattivazione della vitamina B₁₂: il Protossido d'Azoto trasforma la cobalamina della vit. B₁₂ dalla forma bivalente alla monovalente inattivando la vitamina e provocando così inibizione degli enzimi che la utilizzano come coenzima, quali la metilmalonilCoA-mutasi, con alterazione della sintesi degli acidi grassi e soprattutto la metionina-sintetasi, con deficit di metionina, interferenza sulla sintesi proteica e del DNA e conseguente depressione di tutti i cicli cellulari ad elevato indice mitotico (midollo eritropoietico, epitelio spermatogonico e tessuti embriofetali) con possibili implicazioni cliniche quali anemia megaloblastica, leucopenia, effetti teratogeni, mutageni ed

embriotossici. Inoltre la carenza di metionina, secondaria a deficit di vit. B₁₂, compromette e rallenta tutte le reazioni di transmetilazione fra cui la sintesi di mielina con possibile insorgenza di neuropatie demielinizzanti.

Principali organi bersaglio dell'esposizione cronica a Protossido d'azoto sono:

il SNC: in alcuni studi emerge che l'esposizione prolungata del personale di sala operatoria al Protossido d'azoto può essere responsabile di alcuni disturbi soggettivi quali difficoltà di concentrazione, cefalea, astenia, disturbi del sonno, ansia, crisi depressive, perdita della memoria, riduzione del livello di vigilanza e delle performance audio-visive.

Tuttavia si è anche puntata l'attenzione sui molteplici fattori che sono in grado di influire, sia in senso favorevole che negativo, sul livello di *performance* degli operatori delle sale chirurgiche, quali le condizioni di salute fisica e psichica, l'uso di farmaci stimolanti o sedativi, le condizioni microclimatiche, la motivazione, lo stato di allerta e l'affaticamento.

Nella realtà occupazionale alterazioni dei tempi di reazione sono state riscontrate a fine turno lavorativo e al termine della settimana lavorativa anche per esposizioni a concentrazioni ambientali medie inferiori a 100 ppm.

Tuttavia, data l'assenza di una relazione dose-risposta tra l'esposizione agli anestetici e la riduzione dell'efficienza psicomotoria, le alterazioni rilevate sono da ricondurre verosimilmente, oltre che all'esposizione ai gas anestetici, anche ad altri fattori legati allo stress e all'organizzazione del lavoro; per questi autori non sono presenti differenze tra esposti e controlli all'inizio settimanale del turno di lavoro e ciò escluderebbe la presenza di effetti cumulativo-cronici.

A favore degli effetti cumulativo-cronici viene invece riportata elevata sintomatologia soggettiva e significativo scarso rendimento ai test neurocomportamentali in rapporto all'anzianità e all'entità dell'esposizione.

il **SNP**: in conseguenza dell'alterazione della sintesi mielinica secondaria all'inattivazione della vit.

B₁₂ si può determinare una polineuropatia sensitivo-motoria con interessamento del midollo spinale per lo più legata ad abuso voluttuario di N₂O o ad inquinamenti ambientali particolarmente elevati;

l'Apparato Riproduttivo: oltre all'infertilità maschile dovuta ad effetti tossici diretti sulle cellule dell'epitelio tubulare seminifero, alcuni studi in letteratura hanno documentato la presenza di un'augmentata frequenza di aborti spontanei e di anomalie ereditarie nel personale di sesso femminile di sala operatoria esposto al N₂O durante la gravidanza; l'evidenza è minore per le donne che hanno abbandonato il lavoro durante la gestazione o per le mogli dei soggetti esposti.

Non esiste invece accordo sulla possibilità di una maggior frequenza di malformazioni congenite nella prole di soggetti esposti né sugli eventuali effetti cancerogeni.

Inoltre le migliorate condizioni ambientali delle sale operatorie hanno avuto un ruolo determinante nella riduzione del rischio di aborti e malformazioni del prodotto del concepimento;

il **Sistema emolinfopoietico**: in letteratura sono riportati rari casi di anemia megaloblastica e ridotta sintesi midollare di leucociti (leucopenia periferica).

ANESTETICI VOLATILI

Gli anestetici volatili (desflurano, sevoflurano) sono farmaci con basso valore di solubilità e basso coefficiente di ripartizione sangue/gas. Ciò conferisce precisione nel controllo dell'anestesia nonché rapidità di induzione e risveglio.

Quelli maggiormente utilizzati nella moderna pratica anestesiológica sono il Sevoflurano e il Desflurano.

Principali organi bersaglio degli anestetici volatili sono:

il fegato: vari studi sperimentali confermano l'epatotossicità degli anestetici alogenati con comparsa di alcuni casi di epatopatie nei lavoratori esposti.

Gli effetti sul fegato sono suggeriti dal fatto che queste sostanze vengono metabolizzate a livello epatico.

Tuttavia i risultati che documentano effetti a livello epatico quali l'aumento degli indici di funzionalità epatica (γ GT, transaminasi) in seguito all'esposizione a basse dosi possono essere in qualche misura condizionati da altri fattori, quali le abitudini voluttuarie ed altri fattori di rischio presenti nelle sale operatorie.

il rene: è stata ipotizzata un'azione nefrotossica dei gas anestetici poiché tutti gli alogenati, anche se in misura diversa, sono in grado di liberare durante il loro metabolismo lo ione fluoruro il quale si accumula a livello renale per essere poi eliminato.

Tale ione però è in grado di chelare molti cationi bivalenti tra cui il calcio, il rame, lo zinco e il magnesio, alcuni dei quali attivano enzimi implicati nella glicolisi e nel ciclo di Krebs.

Alterazioni di questi processi possono causare un'inibizione della capacità di riassorbimento tubulare (soprattutto a livello della porzione ascendente dell'anse di Henle e del tubulo collettore) a causa della ridotta disponibilità energetica renale per i meccanismi di trasporto attivo.

Non vi sono, tuttavia, studi sugli effetti nefrotossici del Sevoflurano e Desflurano per soggetti professionalmente esposti.

Gli ioni fluoruro raggiungono velocemente un picco plasmatico che però declina rapidamente dopo somministrazione di Sevoflurano, per cui finora non sono stati riportati casi di nefrotossicità in seguito al trattamento con questo anestetico alogenato; è stato infatti ampiamente utilizzato in pazienti con insufficienza renale cronica e in quelli sottoposti a trapianto renale.

Tuttavia alcuni studi, i cui risultati sono peraltro considerati molto controversi, hanno evidenziato lieve disfunzione renale dopo anestesia con Sevoflurano, per cui attualmente si raccomanda attenzione nell'uso di quest'ultimo in pazienti con malattie renali concomitanti.

il cuore: l'esposizione acuta ad anestetici volatili oltre a determinare una depressione diretta del potere contrattile del muscolo cardiaco può essere responsabile di una riduzione della velocità di contrazione cardiaca, di alterazioni del ritmo e della conduzione.

il sistema linfatico e reticoloendoteliale: in alcuni studi sono riportati casi di neoplasie del sistema linfatico e reticoloendoteliale nel personale esposto a gas anestetici.

Tuttavia, ai fini di una valutazione della cancerogenicità degli anestetici volatili l'*International Agency for Research on Cancer (IARC)* nel 1987 ha considerato inadeguati i dati attualmente disponibili sull'uomo e quindi classifica gli anestetici volatili tra i composti ad evidenza inadeguata di cancerogenicità per l'uomo (gruppo 2B).

CARATTERISTICHE FARMACOLOGICHE DEGLI ANESTETICI VOLATILI

Il *Sevoflurano* è l'anestetico alogenato più utilizzato nella pratica anestesiológica per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia da solo o in associazione al N_2O .

Si tratta chimicamente di un metil-etil-etere fluorurato simile al desflurano: entrambi questi anestetici differiscono da alotano e isoflurano per la minore solubilità nel sangue che conferisce quindi un maggiore controllo dell'anestesia, minori tempi di induzione e di risveglio del paziente.

L'emivita molto breve e la rapida eliminazione dall'organismo impediscono la sua biotrasformazione in metaboliti potenzialmente tossici: il metabolismo riguarda una minima parte della dose assorbita (1-4%) ed è caratterizzato dalla sua trasformazione ad opera del Citocromo p450-2E1 epatico in una molecola di esafluoroisopropanolo (HFIP) che viene rapidamente coniugata con acido glucuronico ed in una molecola di fluoro formaldeide trasformati poi in acido formico.

L'HFIP-glucuronide è eliminato per via renale. Circa il 40% della dose assorbita viene invece escreta imm modificata per via polmonare. (Figura 1)

I vantaggi principali del Sevoflurano rispetto agli altri anestetici volatili sono proprio il basso coefficiente di solubilità sangue/gas e l'assenza di effetto pungente-irritativo (tipico del desflurano e dell'isoflurano) che ne permette l'uso per l'induzione rapida dell'anestesia.

I principali svantaggi del Sevoflurano, invece, sono determinati dalla formazione di fluoruri inorganici e dalla sua degradazione nella calce sodata/*baralyme* comunemente impiegata nei circuiti di anestesia per assorbire la CO_2 in un composto potenzialmente tossico il "Composto A" quest'ultimo riconosciuto nefrotossico nei ratti.

Nell'uomo sono state segnalate reazioni reversibili del tubulo renale anche a basse concentrazioni.

Ciononostante la tossicità del Sevoflurano è sicuramente inferiore rispetto a quella di altri anestetici volatili. Ad oggi, però, non sono disponibili dati soddisfacenti relativi agli effetti dell'esposizione cronica a basse dosi da parte degli operatori in ambito professionale.

Tuttavia, ad alte dosi, alcuni autori hanno rilevato alterazioni degli indicatori di funzionalità epatica e renale (transaminasi, γ GT, creatinina e azotemia) nonché depressione respiratoria e cardiovascolare.

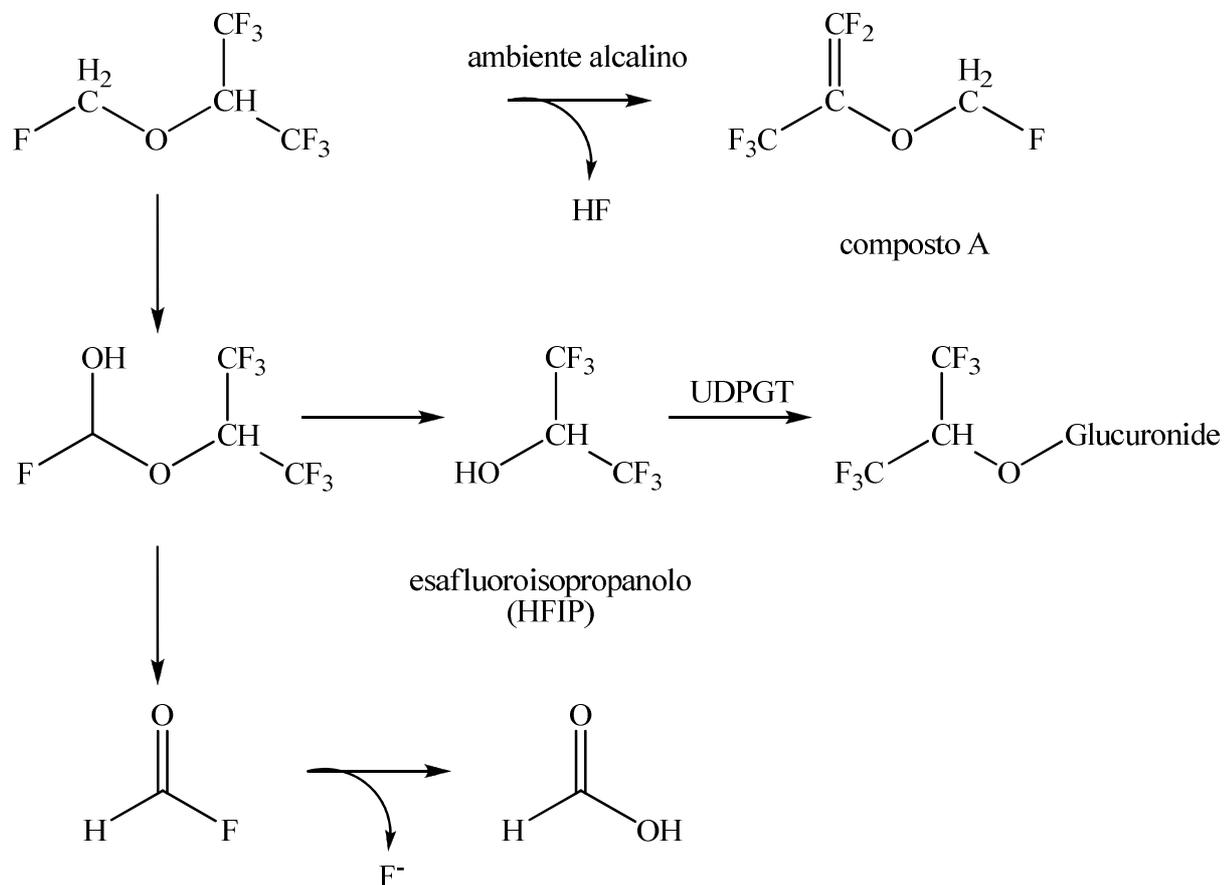


Figura 1: **metabolismo epatico del Sevoflurano**

Il *Desflurano* è un anestetico volatile utilizzato per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia generale per via inalatoria.

Si tratta chimicamente di un metil-etero fluorurato simile all'isoflurano. Può essere conservato a temperatura ambiente a 15-30°C.

I vantaggi principali del desflurano rispetto agli altri anestetici volatili sono:

- il basso coefficiente di solubilità sangue/gas (0,42), simile a quello di N₂O (0,46) e più basso di quello degli altri anestetici volatili (alotano 2,5; enflurano 2,1; isoflurano 1,4; metossiflurano 15,4) che conferisce precisione nel controllo dell'anestesia nonché rapidità di induzione e risveglio;
- la scarsa metabolizzazione, in quanto solo una piccola quota del farmaco (0,02%) viene metabolizzata a fluoro e fluoruri organici nello specifico ad acido trifluoroacetico.

Svantaggi di questo farmaco rispetto ad altri anestetici sono:

- l'effetto irritante sul tratto respiratorio all'induzione dell'anestesia con tosse, aumento delle secrezioni, apnea e laringospasmo. Ciò ne preclude l'uso per l'induzione specie nei bambini;
- frequenza di effetti collaterali (cefalea, mialgia, alterazioni psicomotorie, nausea e vomito) nel postoperatorio;
- necessità di adoperare uno speciale vaporizzatore, dato il suo basso punto di ebollizione (22,8-23,5°C) e la sua alta tensione di vapore (644 mm Hg), con aumento dei costi;
- tendenza ad indurre tachicardia a livelli profondi di anestesia;
- necessità di somministrare quantità elevate di anestetico per la scarsa potenza (elevata MAC: 7,3%) correlata alla bassa solubilità nei grassi (coefficiente di partizione olio/gas 18,7).

L'assorbimento e la distribuzione del desflurano sono strettamente legati al suo coefficiente di ripartizione sangue/gas (0,42) e al coefficiente di ripartizione tessuti/sangue (1,3 per cervello, cuore, fegato; 0,9 per il rene e 27 per il tessuto adiposo).

La concentrazione alveolare minima (MAC) del desflurano è di 7,3% nei giovani adulti, 9,9% nei bambini di 6-12 mesi di età, 6% negli adulti (>30 anni) e anziani. Essa è più alta di quella di isoflurano (1,2%), enflurano (1,7%) e alotano (0,8%).

Il desflurano è un etere metil-etilico che differisce dall'isoflurano solo per la sostituzione di un atomo di cloro con un atomo di fluoro.

Tale sostituzione ha reso la molecola particolarmente stabile, riducendone la quota di biodegradazione, la solubilità e la potenza, aumentandone la volatilità.

Il metabolismo epatico è minimo (0,02%) con la formazione di ioni fluoruro e fluoruro organico (acido trifluoroacetico) ed è promosso dall'isoforma 2B1 del citocromo P450 che porta alla formazione di un intermedio reattivo acilante, l'acido trifluoroacetico, il cui picco sierico (0,38 $\mu\text{moli/l}$) si ha 24h dopo l'anestesia.

Sebbene l'acido trifluoroacetico si riscontri in quantità dieci volte più basse rispetto a quelle riscontrate utilizzando l'isoflurano si può comunque configurare il rischio di:

- sensibilità crociata con alotano, enflurano, isoflurano e da contaminanti ambientali di natura chimica simile (clorofluorocarburi);
- possibile innesco di epatite acuta fulminante immuno-mediata in soggetti sensibilizzati.

Non si configura invece rischio di nefrotossicità poiché la quantità di ioni fluoro che si forma è sei volte inferiore a quella che si libera nel corso del metabolismo dell'isoflurano, che si attesta tra i

4,03 $\mu\text{moli/litro}$ e i 13,57 $\mu\text{moli/litro}$ per anestesi brevi e compreso tra 12 $\mu\text{moli/litro}$ e 29 $\mu\text{moli/litro}$ in pazienti critici sedati fino a 7 gg.

Le cinetiche di eliminazione del desflurano sono così veloci da escludere un accumulo nei compartimenti a bassa perfusione anche in caso di anestesi di lunga durata.

Inoltre il desflurano, a contatto con calce sodata a temperatura ambiente, forma solo minime quantità di composti tossici.

Infatti, alla temperatura di 80°C, la quota oraria che subisce degradazione con calce sodata è pari allo 0,44% mentre per sevoflurano, alotano e isoflurano è rispettivamente del 92%, 16% e 13% .

L'eliminazione del desflurano avviene ovviamente con un processo inverso alla captazione (ovvero attraverso i polmoni).

L'emivita di eliminazione polmonare è di 2,5 minuti ma per quanto riguarda la frazione metabolizzata si nota un picco di escrezione urinaria di acido trifluoroacetico pari a 0,17 $\mu\text{moli/h}$ a 24 h dopo l'esposizione.

Nel caso di un'esposizione di desflurano al 3,6% per una durata di 90 minuti non si osserva un aumento dei fluoruri inorganici ed organici.

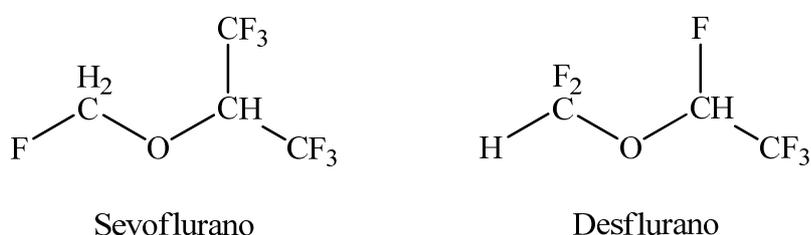


Figura 2: **Strutture anestetici volatili alogenati**

OBIETTIVO DELLO STUDIO

Gli anestetici gassosi utilizzati nell'induzione e nel mantenimento dell'anestesia possono essere ritenuti causa di potenziale inquinamento ambientale e quindi anche di possibile esposizione cronica per gli operatori sanitari.

Le sempre più severe norme di prevenzione e protezione degli infortuni in ambito lavorativo hanno reso necessario affiancare ai monitoraggi ambientali un monitoraggio biologico per verificare se e come eventuali esposizioni accidentali agli anestetici possano correlarsi ai livelli sierici ed urinari registrati nei soggetti esposti.

Lo studio si è concentrato su un anestetico alogenato, il Sevoflurano e sul suo metabolita urinario, l'esfluoroisopropanolo (HFIP).

L'obiettivo della ricerca è stato quello di verificare l'utilità del Sevoflurano e del suo metabolita HFIP, dosati nelle urine, come marker di esposizione all'anestetico inalatorio Sevoflurano in soggetti professionalmente esposti e la presenza di una correlazione tra i livelli di concentrazione ambientale dell'anestetico Sevoflurano e quelli del suo metabolita nelle urine.

Un altro obiettivo dello studio è stato quello di verificare se l'esposizione a tali anestetici provocasse accumulo e se potesse avere ripercussioni sulla funzione renale ed epatica dei soggetti presi in esame (anestesisti, chirurghi e infermieri del Complesso Operatorio di Chirurgia Pediatrica dell'A.O.U. Policlinico "Paolo Giaccone" di Palermo).

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato condotto presso la Sala Operatoria del Complesso di Chirurgia Pediatrica dell'A.O.U. Policlinico "P. Giaccone" di Palermo.

Sono stati arruolati 30 soggetti sani, di età compresa tra 30 e 60 anni, di entrambi i sessi, professionalmente esposti all'anestetico volatile Sevoflurano per un periodo di almeno due anni.

La popolazione in studio era costituita da: - 21 anestesisti

- 3 chirurghi

- 6 infermieri di sala operatoria.

Sono stati esclusi dallo studio soggetti con patologie epatiche o renali o che assumevano farmaci per patologie acute o croniche.

I soggetti sono stati monitorati nel corso delle rispettive attività in sala operatoria durante interventi di Chirurgia Pediatrica per l'esecuzione dei quali è stato utilizzato esclusivamente l'anestetico alogenato Sevoflurano sia per l'induzione che per il mantenimento dell'anestesia.

In tutti i soggetti l'esposizione al gas anestetico è stata valutata mediante un attento **Monitoraggio Ambientale e Biologico**.

Il Monitoraggio Ambientale è stato effettuato mediante la misurazione diretta dei livelli ambientali del gas da noi utilizzato (Sevoflurano) nella Sala Operatoria di Chirurgia Pediatrica mediante metodo di misurazione fotoacustica ad infrarossi in continuo ed istantaneo (apparecchiatura Bruel & Kjaer, monitor multiplo di gas mod. 1302).

Si tratta di un analizzatore ambientale che preleva l'aria ambiente e individua la concentrazione di gas anestetico sulla base dell'assorbimento di una radiazione infrarossa di specifica lunghezza d'onda.

Per tutti i rilievi il tubo di campionamento è stato posto a circa 150 cm da terra vicino all'apparecchio di anestesia.

Allo scopo di valutare l'entità dell'inquinamento presente nei locali di lavoro, i valori delle concentrazioni ambientali di Sevoflurano sono stati confrontati con i valori limite soglia TLV-TWA (ossia le concentrazioni medie degli inquinanti presenti nell'aria degli ambienti di lavoro alle quali, si presume, che la quasi totalità dei lavoratori possa trovarsi giornalmente esposta senza risentirne effetti nocivi) proposti dalla Circolare n. 5 del Ministero della Salute del 1989 e dal N.I.O.S.H. (National Institute for Occupational Safety and Health) che fissano un limite di esposizione massimo per il protossido d'azoto di 100 ppm per le sale operatorie costruite prima del 1989 e di 50 ppm per quelle ristrutturate o di nuova costruzione e per i gas anestetici alogenati di 2 ppm.

Nel caso di esposizione contemporanea i valori limite per gli alogenati vengono ridotti a 0,5 ppm.

Per quanto riguarda invece il Monitoraggio Biologico ogni lavoratore è stato sottoposto a:

1) prelievo ematico per l'analisi di specifici indicatori di funzionalità epatica (SGOT, SGPT, γ GT) e renale (creatinemia e azotemia);

2) raccolta di 10 ml di urine per la determinazione del Sevoflurano e del suo metabolita urinario HFIP secondo i seguenti tempi:

T0: prima dell'esposizione (all'inizio del turno lavorativo ma dopo un'esposizione all'anestetico inalatorio nella precedente giornata lavorativa);

T1: subito dopo la fine dell'esposizione (alla fine del turno lavorativo);

3) ad un questionario per accertare l'eventuale esposizione professionale a Sevoflurano nelle 24 ore precedenti.

L'obiettivo del campionamento delle urine dei soggetti esposti a Sevoflurano era quello di verificare un'eventuale correlazione tra i valori di concentrazione ambientale dell'anestetico Sevoflurano ed i valori di concentrazione urinari; la valutazione al tempo T₀ aveva inoltre lo scopo di valutare un eventuale accumulo dell'anestetico in concomitanza ad un uso protratto dello stesso anche se effettuato in ambienti di lavoro protetti (dopo l'esposizione a Sevoflurano nella precedente giornata lavorativa), quella a T₁ di valutare se i livelli urinari si modificassero significativamente dopo l'esposizione giornaliera all'anestetico inalatorio a fine turno lavorativo.

TECNICA ANALITICA

Il monitoraggio biologico effettuato su campioni di urina risulta uno dei metodi di scelta perché non richiede eccessive precauzioni nel maneggiamento del campione e la stessa procedura di campionamento risulta semplice e non invasiva.

Gli esempi riportati in letteratura dimostrano come il campionamento in spazio di testa operato con siringhe gas tight o con fibre SPME sia la pratica di gran lunga preferita.

Inoltre l'accoppiamento della gascromatografia con la spettrometria di massa ha ampiamente dimostrato la sua efficacia nella determinazione di svariati analiti appartenenti alla classe degli anestetici volatili.

Pertanto, in questo lavoro, ci si è avvalsi della tecnica Solid Phase Microextraction (SPME) in combinazione alla separazione Gas-Cromatografica degli analiti e al loro riconoscimento tramite uno Spettrometro di massa al fine di ottenere il massimo della sensibilità ed efficienza di estrazione degli analiti utilizzando una colonna capillare SUPEL-Q PLOT (lunghezza 30 m, diametro interno 0,32 mm, spessore film 0,32 μm , T_{MAX} di esercizio 250°C, SUPELCO).

E' stata utilizzata, quindi, una metodica sensibile e selettiva per il monitoraggio di anestetici che raggiungono solo livelli di concentrazione di qualche ppm nelle urine dei soggetti trattati, e che pertanto si attendevano particolarmente bassi nel caso di soggetti esposti a concentrazioni fortemente sub-terapeutiche.

I campioni di urina per il dosaggio dell'HFIP urinario sono stati portati ad un pH di $5 \pm 0,5$ tramite acido acetico, dispensati in vials per analisi in spazio di testa con aggiunta di standard interno e sottoposti quindi a idrolisi enzimatica (β -glucuronidasi-arilsolfatasi) per tutta la notte a 37 °C e successivamente per 2 ore a 55 °C al fine di liberare l'HFIP dall'acido glucuronico.

Ogni vial veniva infine agitato su vortex per 30 secondi.

PRINCIPI DELL'ESTRAZIONE TRAMITE SPME

Il dispositivo è molto semplice: un sistema a “siringa” in cui vengono usati piccoli segmenti di fibre di silice fusa ricoperte da un’ opportuna fase stazionaria (figura 3).

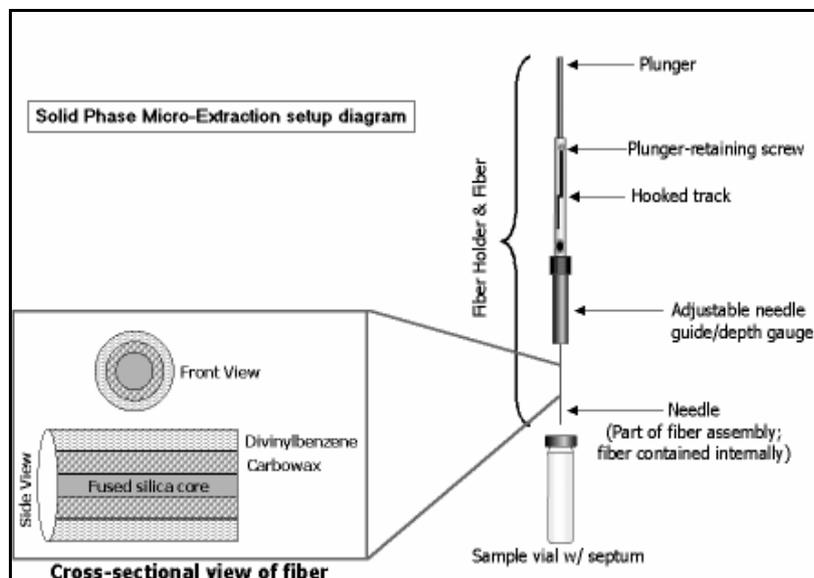


Figura 3: **schema di un dispositivo SPME.**

La fibra è saldata alla parte terminale di un’anima di acciaio che scorre all’interno di un ago cavo che la protegge. Lo stantuffo dell’apparecchiatura permette l’esposizione della fibra nel campione e, dopo un opportuno tempo di campionamento, viene ritratto.

La fibra viene quindi inserita per la fase di desorbimento all’interno del sistema di iniezione di un cromatografo.

Le fibre per SPME devono avere determinate caratteristiche: di norma, hanno una lunghezza di 1 o 2 cm, devono essere chimicamente inerti e stabili ad alte temperature (< 300 °C).

Le fibre sono rivestite con una fase polimerica simile a quelle utilizzate per colonne gas-cromatografiche.

Sono disponibili rivestimenti di varia polarità e con spessori variabili da 7 a 100 µm.

In base alle loro caratteristiche di polarità, le fibre possono essere distinte in non-polari, polari e bi-polari, come mostra la Tabella 2 (Vas, 2004).

Fibre coating	Film thickness (µm)	Polarity	Coating method	Maximum operating temperature (°C)	Technique	Compounds to be analysed
Polydimethylsiloxane (PDMS)	100	Non-polar	Non-bonded	280	GC/HPLC	Volatiles
PDMS	30	Non-polar	Non-bonded	280	GC/HPLC	Non-polar semivolatiles
PDMS	7	Non-polar	Bonded	340	GC/HPLC	Medium- to non-polar semivolatiles
PDMS–divinylbenzene (DVB)	65	Bipolar	Cross-linked	270	GC	Polar volatiles
PDMS–DVB	60	Bipolar	Cross-linked	270	HPLC	General purpose
PDMS–DVB ^a	65	Bipolar	Cross-linked	270	GC	Polar volatiles
Polyacrylate (PA)	85	Polar	Cross-linked	320	GC/HPLC	Polar semivolatiles (phenols)
Carboxen–PDMS	75	Bipolar	Cross-linked	320	GC	Gases and volatiles
Carboxen–PDMS ^a	85	Bipolar	Cross-linked	320	GC	Gases and volatiles
Carbowax–DVB	65	Polar	Cross-linked	265	GC	Polar analytes (alcohols)
Carbowax–DVB ^a	70	Polar	Cross-linked	265	GC	Polar analytes (alcohols)
Carbowax-templated resin (TPR)	50	Polar	Cross-linked	240	HPLC	Surfactants
DVB–PDMS–Carboxen ^a	50/30	Bipolar	Cross-linked	270	GC	Odours and flavours

Tabella 2: Principali fibre per SPME disponibili in commercio

La possibilità di disporre di fibre a diverso spessore e polarità permette di effettuare campionamenti selettivi in funzione dei pesi molecolari, della polarità e volatilità degli analiti.

L'estrazione mediante la tecnica SPME può essere effettuata in due modi:

- immergendo direttamente la fibra nel campione liquido, DIRECT-SPME (sistema a due fasi);
- esponendo la fibra nello spazio di testa del campione, cioè nella fase vapore sovrastante il campione, HEAD SPACE-SPME (sistema a tre fasi).

In entrambi i casi, si assiste all'istaurarsi di equilibri tra l'analita nel campione (soluzione o fase vapore sopra il campione) e il polimero che ricopre la fibra di silice fusa.

La quantità di sostanza adsorbita dalla fibra dipende dallo spessore del polimero di rivestimento e dalla costante di distribuzione dell'analita.

Il tempo di estrazione sarà determinato dal tempo richiesto per estrarre gli analiti con la costante di distribuzione (campione/fibra) più elevata; generalmente, essa aumenta all'aumentare del peso molecolare e del punto di ebollizione dell'analita.

Di solito, composti volatili vengono meglio estratti con strati più spessi di polimero, mentre rivestimenti con spessori più sottili sono efficacemente impiegati per analiti semivolatili.

Tra le metodiche di estrazione in fase gassosa viene fatta un'ulteriore distinzione tra la tecnica dello spazio di testa statico e dinamico (static- e dynamic-HS).

Nello HS-statico, di gran lunga più usato, il campione in soluzione o disperso in un opportuno solvente viene ermeticamente chiuso in un idoneo contenitore che viene riempito solo parzialmente; il contenitore viene immerso in un bagno termostato e riscaldato a una temperatura tale da favorire il passaggio dei composti in fase vapore, permettendo il raggiungimento dell'equilibrio tra i composti volatili presenti nella matrice e quelli nella fase vapore.

Lo spazio di testa si satura quindi dei componenti volatili presenti nel campione ed un volume prefissato della fase gassosa viene poi prelevato con una siringa a tenuta di gas e iniettato in un gas-cromatografo.

In alternativa, gli analiti volatili presenti in fase vapore vengono fatti adsorbire su una fibra SPME e mediante desorbimento termico analizzati in un Gas-Cromatografo, come mostrato in Figura 4.

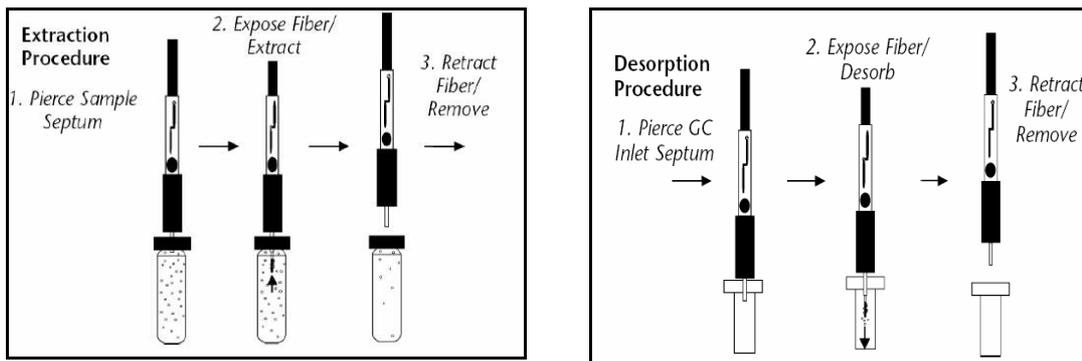


Figura 4: Procedura di estrazione e desorbimento degli analiti mediante HS-SPME

Nello HS-dinamico, il campione (solido o in soluzione acquosa) posto in un contenitore chiuso riscaldato a una temperatura tale da favorire il passaggio dei composti volatili in fase vapore, senza provocarne la degradazione.

Gli analiti sono convogliati mediante un gas inerte e puro (quale He o N₂) su una trappola di materiale adsorbente (tenax), in grado di trattenerli e concentrarli (Figura 5).

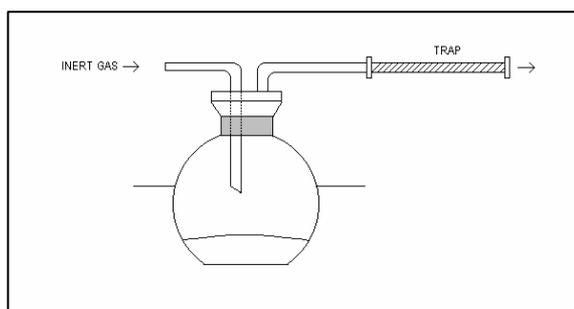


Figura 5: Estrazione mediante la tecnica HS-dinamica

Le sostanze sono poi desorbite per via termica utilizzando un sistema costituito da un termodesorbitore-crioconcentratore collegato ad un gascromatografo.

Nell'head space dinamico il tempo di equilibrio è molto ridotto e questo implica che non si verifichi la saturazione della fibra.

PRINCIPI DELLA GASROMATOGRAFIA

La Gas-Cromatografia è una tecnica di separazione di miscele tra le più usate nei laboratori di ricerca di tutto il mondo, essa permette di analizzare campioni gassosi, liquidi o solidi purché siano volatili nelle condizioni di esercizio dell'apparecchiatura.

La classificazione delle tecniche gas-cromatografiche fa riferimento allo stato fisico della fase stazionaria e per tale motivo distingueremo la cromatografia gas-solido (*Gas Solid Chromatography*, GSC) e la cromatografia gas-liquido (*Gas Liquid Chromatography*, GLC) oppure in base alle caratteristiche geometriche della colonna e la collocazione della fase stazionaria, distingueremo di conseguenza GC su colonne impaccate (*packed columns*) e GC su colonne capillari (*open tubular columns*).

I meccanismi di separazione non dipendono tanto dalla natura della fase mobile, poiché essa a differenza di quasi tutte le altre tecniche cromatografiche non interagisce con le molecole dell'analita ma ha solo il compito di trasportare l'analita lungo la colonna, quanto dalle caratteristiche chimico-fisiche della fase stazionaria e dalla forma con cui questa è presente nella colonna.

Le colonne oggi più utilizzate sono le colonne capillari (*open-tubular columns*), in cui la fase stazionaria è depositata sotto forma di film sottilissimo (0.1-5 μm) sulle pareti interne di un capillare dal diametro di 0.1-0.75 mm lungo da 15 a 100 m lasciando libero un canale centrale in cui fluisce il gas *carrier*.

A seconda di come si presenta la fase stazionaria le colonne possono essere distinte in: colonne capillari aperte (*Wall Coated Open Tubular*, WCOT) in cui le pareti sono rivestite della fase stazionaria liquida, colonne capillari aperte con rivestimento supportato (*Support Coated Open Tubular*, SCOT) in cui la fase stazionaria fatta aderire sulle pareti della colonna è costituita da un

materiale granulare poroso molto fine su cui è stato depositato un sottilissimo film di liquido di ripartizione ed infine abbiamo le colonne capillari aperte con rivestimento poroso (*Porous Layer Open Tubular*, PLOT) in cui la fase stazionaria è costituita solo da particelle porose fatte aderire alle pareti.

Tenuto conto del ridotto diametro delle colonne i volumi di campioni da analizzare devono essere anch'essi molto ridotti (1 μ l o frazioni di esso).

Per questo le apparecchiature dispongono di iniettori riscaldati dotati di *splitter* programmabile, che permettono di inviare in colonna anche solo una frazione molto piccola del campione iniettato.

Un altro elemento dell'apparecchiatura gas-cromatografica è il forno a circolazione di aria calda, che assicura una omogeneità ed elevata stabilità della temperatura ($\pm 0,05^\circ\text{C}$), all'interno del quale viene posta la colonna.

Il principio della separazione gas-cromatografica si basa sulla ripartizione dell'analita tra fase mobile e stazionaria in condizioni isoterme o in gradienti di temperatura che, una volta fissato il metodo, devono essere accuratamente riproducibili.

Per miscele di campioni che presentano un ampio intervallo di punti di ebollizione si utilizza solitamente un programma termico nel quale si aumenta la temperatura o in modo continuo o a gradini mentre procede la separazione, ottenendo risoluzioni cromatografiche adeguate con tempi di analisi contenuti.

Le prestazioni di un sistema gas-cromatografico vengono valutate in base a *Selettività*, definita come la capacità del sistema di eluire due sostanze in tempi diversi, *Efficienza* ossia la capacità di fluire una data sostanza in una banda stretta, *Risoluzione* tra due picchi adiacenti che è espressa come il rapporto fra la loro distanza e la semisomma delle rispettive larghezze alla base.

Fattori che ulteriormente influenzano la risoluzione cromatografica e l'efficienza sono fenomeni legati all' *Asimmetria* dei picchi (*tailing* o di *fronting*) che in generale condiziona negativamente le performance cromatografiche di un sistema.

LA SPETTROMETRIA DI MASSA

La spettrometria di massa è una tecnica largamente diffusa poiché estremamente sensibile e in grado di fornire informazioni riguardanti la composizione qualitativa e quantitativa di analiti sia organici sia inorganici in miscele complesse.

Il principio su cui si basa uno spettrometro di massa è la capacità di trasformazione degli analiti neutri in ioni attraverso un processo di ionizzazione che può avvenire secondo diverse tecniche e nella successiva separazione di questi ioni sulla base del loro rapporto massa su carica (m/z).

Il processo di separazione degli ioni avviene in una zona dello spettrometro definita analizzatore. Esistono diversi tipi di analizzatori, che determinano le performance di risoluzione e sensibilità dell'apparecchio.

Infatti vi sono analizzatori intrinsecamente sensibili ma poco risolventi, e altri meno sensibili ma capaci di maggiore risoluzione.

I principi fisici su cui si basa la separazione degli ioni, inoltre, influenza il intervallo di m/z analizzabile da ogni analizzatore.

Per questo non tutti i tipi di analizzatori sono idonei per l'analisi di tutte le tipologie di molecole in circolazione e l'accoppiamento di alcuni analizzatori con determinate sorgenti ioniche risulta spesso più sinergico che con altre.

Nel nostro caso, essendo le molecole esaminate molto volatili si è optato per una sorgente di ionizzazione elettronica (E.I.) accoppiata ad un analizzatore quadrupolare.

Gli spettrometri di massa a quadrupolo sono oggi tra gli analizzatori di massa più utilizzati, essendo abbastanza flessibili ed in grado di analizzare (in base alle condizioni operative impostate) ampi intervalli di m/z .

Tuttavia sono affetti da una intrinsecamente bassa risoluzione che si contrappone ad una sensibilità molto elevata.

Fanno parte della categoria degli analizzatori a fascio ionico cui appartengono anche l'analizzatore magnetico e l'analizzatore a tempo di volo.

Il quadrupolo è costituito da quattro barre metalliche cilindriche o a sezione iperbolica che fungono da elettrodi.

Gli ioni provenienti dalla sorgente che vengono accelerati passano all'interno del quadrupolo qui, sono sottoposti a campi elettrici continui e variabili che fanno sì che solo una popolazione caratterizzata da un ben definito rapporto m/z riesca ad attraversarlo. Tutti gli altri ioni saranno scaricati sulle barre.

Gli ioni che attraversano il settore quadrupolare, mantenuti in una traiettoria complessa ma stabilita, sono determinati dal rapporto tra campo elettrico e radiofrequenza che sono alternativamente applicate alle barre del quadrupolo.

RISULTATI

Il **Monitoraggio Ambientale** è stato eseguito in due tempi:

- 1) a Novembre 2009 al fine di confrontare i risultati con quelli degli anni precedenti;
- 2) a Marzo 2010, questa volta parallelamente al monitoraggio biologico, al fine di valutare un'eventuale correlazione tra i livelli di esposizione ambientale a Sevoflurano e i valori di HFIP urinario a fine seduta operatoria.

I dati ricavati dal Monitoraggio Ambientale condotto a Novembre 2009 e Marzo 2010 hanno mostrato il rispetto del limite di sicurezza indicato dalla Circolare n. 5 del Ministero della Sanità del 1989 per l'anestetico alogenato Sevoflurano per tutto il periodo del rilevamento con un picco massimo di 3,39 ppm alle ore 10:50 nell'anno 2009, dovuto all'inevitabile dispersione in ambiente del gas durante la fase di induzione in maschera dell'anestesia (media $0,17 \pm 0,38$ ppm) e un picco di 2,37 ppm alle ore 13:42 nell'anno 2010 in corrispondenza della fase di estubazione dell'ultimo intervento (media $0,23 \pm 0,36$ ppm), entrambi non significativi ai fini della valutazione di una dispersione generale (Grafico 1 e 2) (Tabella 3 e 4).

Ciò dimostra che un'accurata manutenzione dei sistemi di erogazione ed evacuazione dei gas e del sistema di ventilazione è di fondamentale importanza per il mantenimento delle ideali condizioni ambientali di sicurezza.

È da tenere in considerazione anche il fatto che la sala operatoria ha subito una ristrutturazione totale nel mese di Giugno 2009.

I dati ottenuti dal Monitoraggio Ambientale degli anni 2009 e 2010 sono stati poi confrontati con i risultati dei precedenti anni (2006-2007-2008) che invece hanno mostrato un modesto grado di inquinamento ambientale ed il mancato rispetto del limite di sicurezza di 2 ppm per il Sevoflurano

con picchi rispettivamente di 10,5 ppm per l'anno 2006; 9 ppm per l'anno 2007; 7,8 ppm per l'anno 2008 (Grafico 3).

Ciò è stato ricondotto a difetti e ad errata manutenzione dei sistemi di erogazione e di evacuazione dei gas anestetici nonché ad un' inefficienza del sistema di ventilazione della sala operatoria non ancora ristrutturata.

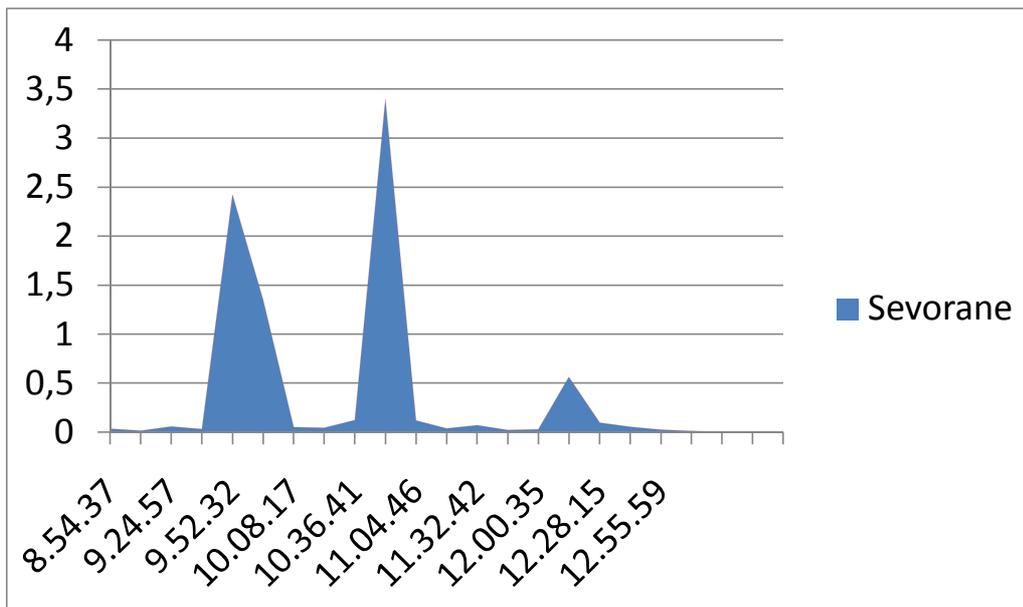


Grafico 1: Rilievo Sevoflurano Sala Operatoria di Chirurgia Pediatrica anno 2009

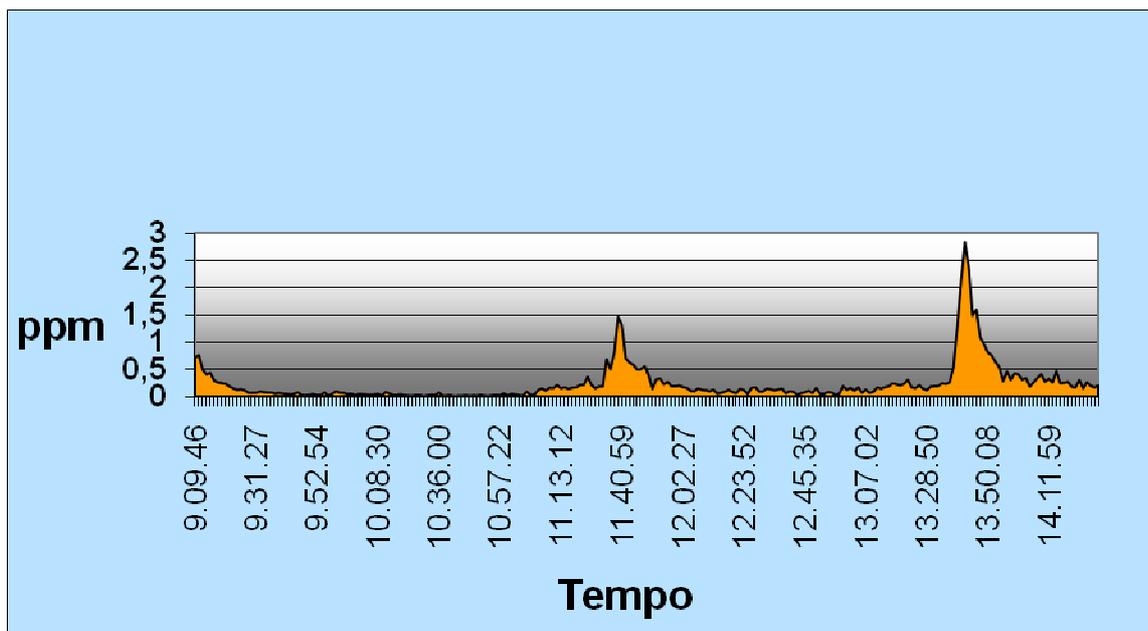


Grafico 2: Rilievo Sevoflurano Sala Operatoria di Chirurgia Pediatrica anno 2010

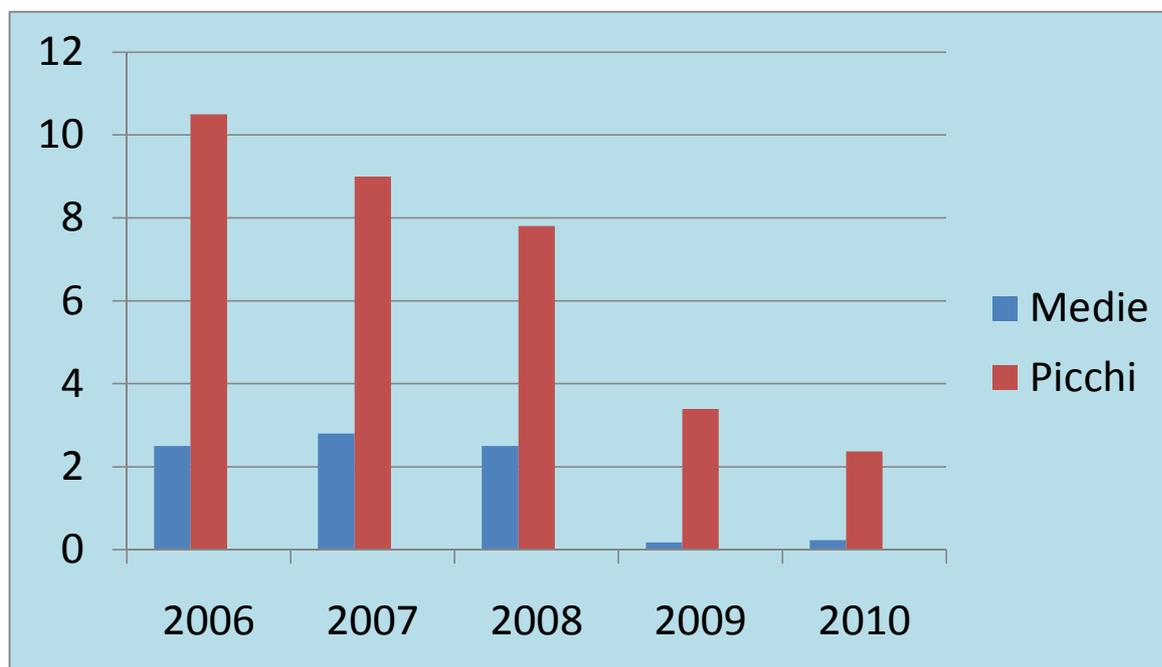


Grafico 3: Andamento delle medie e dei picchi di inquinamento ambientale nei 5 anni di osservazione

TIPO DI INTERVENTO	Inizio	Fine	Media	Picco
Ernia inguinale	8:50	9:20	0,17 ±0,38 ppm	3,39 ppm
Idrocele sx	9:50	10:20		
Palatoschisi	10:45	13:00		

Tabella 3: Risultati Monitoraggio Ambientale anno 2009

TIPO DI INTERVENTO	Inizio	Fine	Media	Picco
Ipospadiia posteriore	8:45	10:45	0,23 ± 0,36 ppm	2,37 ppm
Pene infossato	11:15	12:45		
Idrocele dx	13:10	13:50		

Tabella 4: Risultati Monitoraggio Ambientale anno 2010

Per quanto riguarda il **Monitoraggio Biologico** dal confronto tra i livelli di SF e di HFIP urinario d'inizio e fine turno lavorativo si sono riscontrati valori in uscita maggiori rispetto a quelli d'ingresso nel personale professionalmente esposto (media SF d'inizio - 0.043 ± 0.6 ppb; media SF di fine turno 0.79 ± 1.011 ppb; $p= 0,016$. Media HFIP d'inizio 0.38 ± 0.28 ppb; media HFIP di fine turno 4.3 ± 3.7 ppb; $p= 0,00032$). (Tabella 5) (Figura 6 e 7)

Ciò dimostra, in accordo con quanto riportato dalla letteratura, che l'HFIP urinario rappresenta un indicatore specifico di esposizione professionale a Sevoflurano.

Inoltre all'interno del campione si sono riscontrate differenze nei livelli di HFIP d'inizio e fine turno lavorativo; infatti gli anestesisti presentavano livelli di HFIP d'uscita significativamente più elevati (media 4.39 ± 3.99 ppb) rispetto ai chirurghi e agli infermieri (media $3.32 \pm 1,63$ ppb; $p= 0,07$) con un trend verso la significatività sebbene questa non fosse raggiunta, indipendentemente dalle ore di esposizione, probabilmente perché più vicini alla fonte di anestetico (Tabella 6).

Dallo studio non si evince invece un accumulo dell'anestetico legato all'uso protratto dello stesso dal momento che i valori di HFIP d'inizio turno in soggetti esposti al Sevoflurano nella precedente giornata lavorativa sono risultati normali.

Tuttavia si è riscontrata una correlazione tra i livelli di anestetico riscontrati nelle urine e i valori di concentrazione massima (picchi) registrati durante gli interventi; non è stata invece evidenziata alcuna correlazione statisticamente significativa tra la concentrazione ambientale media e i livelli urinari dello stesso (Figura 8).

Infine, dall'analisi dei prelievi ematici dei soggetti cronicamente esposti all'anestetico Sevoflurano non si sono evidenziate alterazioni a carico degli indicatori di funzionalità epatica e renale; il campione infatti, presentava valori epatici e renali (transaminasi, creatinemia, azotemia, bilirubina

totale) entro i limiti (media creatinemia 0.73 ± 0.21 mg/dl; media azotemia $28,8 \pm 13,11$ mg/dl; media AST $22,12 \pm 7$ U/L; media ALT 30.62 ± 10.8 U/L; media bilirubina totale 0.54 ± 0.25 mg/dl; media γ GT 29.75 ± 15.26 U/L).

Tuttavia è emerso che i soggetti che presentavano livelli di SF e di HFIP urinario T1 superiori alla media erano gli stessi che avevano valori medi di transaminasi più alti (media AST 32 U/L; media ALT 49 U/L). (Tabella 7)

Sevorane ingresso	0.043 ± 0.6 ppb	Sevorane uscita	0.79 ± 1.01 ppb	p= 0,016
HIFP ingresso	0.38 ± 0.28 ppb	HIFP uscita	4.3 ± 3.7 ppb	p= 0,00032

Tabella 5: Livelli urinari di Sevoflurano e HFIP nella popolazione in studio.

Anestesisti	0.40 ± 0.31 ppb	Sevorane uscita	$4,39 \pm 3.99$ ppb	p= 0,07
Chirurghi	0.28 ± 0.07 ppb	HIFP uscita	3.32 ± 1.63 ppb	
Infermieri				

Tabella 6: Differenze nei livelli di HFIP d'inizio e di fine turno lavorativo nel personale esposto.

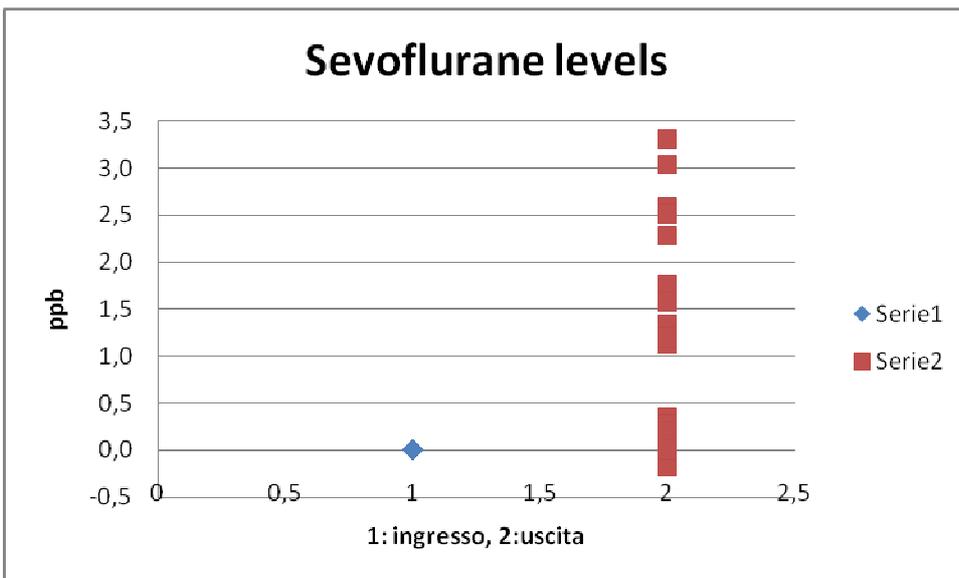
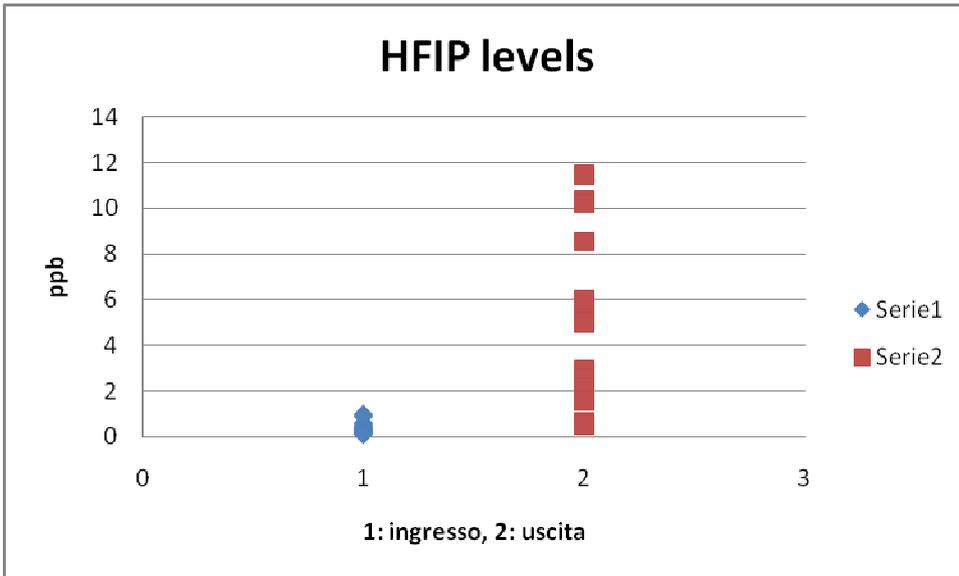


Figura 6 e 7: Confronto tra i livelli d'ingresso e di uscita dell'HFIP e del Sevoflurano

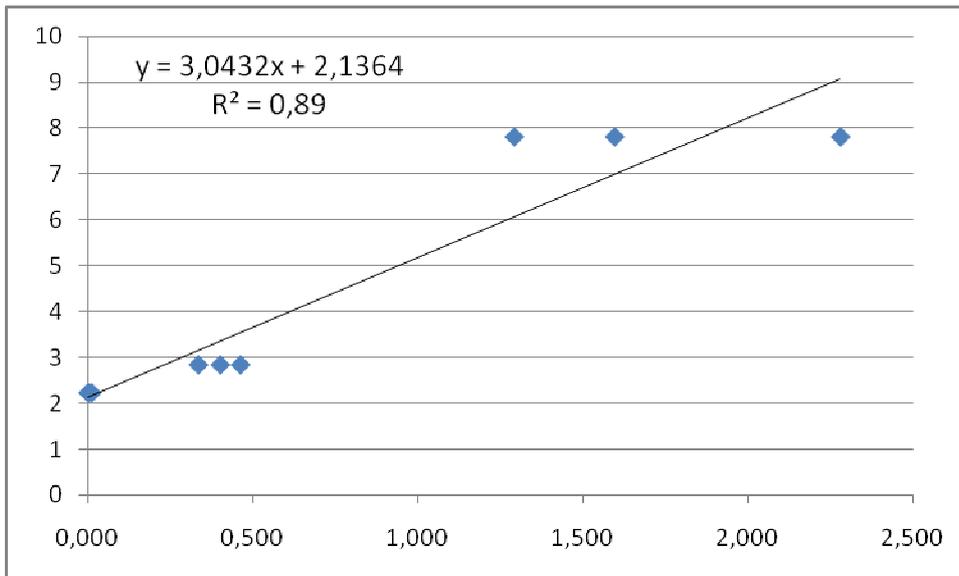


Figura 8: **Correlazione tra i livelli urinari di sevoflurano e picchi di concentrazione registrati**

	Media
Creatinemia	0,73 ± 0,21 mg/dl
Azotemia	28,8 ± 13,11 mg/dl
AST	22,12 ± 7 U/L
ALT	30,62 ± 10,8 U/L
γGT	0,54 ± 0,25 mg/dl
Bilirubina Tot.	29,75 ± 15,26 mg/dl

Tabella 7: **Risultati analisi prelievi ematici**

CONCLUSIONI

1) Il protocollo di campionamento effettuato ha permesso di evidenziare sia pure in via preliminare alcuni dati interessanti relativi alla correlazione tra inquinamento ambientale e i livelli di anestetico riscontrati nelle urine; si è osservata una buona correlazione tra i livelli urinari di anestetico e i valori di concentrazione massima (picchi) registrati durante gli interventi.

Non è stata riscontrata, invece, alcuna correlazione statisticamente significativa tra la concentrazione ambientale media e i livelli urinari dello stesso.

Infatti a fronte di un'esposizione ambientale piuttosto contenuta è emerso un corrispondente valore biologico elevato.

Questo effetto potrebbe essere presumibilmente spiegato sulla base dell'efficienza dei sistemi di areazione: picchi di concentrazione elevati potrebbero essere smaltiti dal sistema di areazione in tempi più lunghi permettendo all'anestetico di distribuirsi in una area più vasta, esponendo soggetti diversi, oltre che l'anestesista, all'azione degli stessi.

2) Dallo studio è emersa un'esposizione del campione all'anestetico dimostrata dal riscontro di valori di HFIP d'uscita > rispetto a quelli d'ingresso.

Ciò dimostra, in accordo con quanto riportato dalla letteratura, che l'HFIP urinario può essere utilizzato come indicatore specifico di esposizione professionale a Sevoflurano.

Risulta invece che l'eliminazione dell'HFIP urinario d'inizio turno non è influenzata dall'esposizione a SF nella precedente giornata lavorativa e che quindi non c'è accumulo.

Questo probabilmente può essere spiegato dalla breve emivita dell'anestetico.

3) Infine, dallo studio è emerso che l'esposizione al Sevoflurano nel personale professionalmente esposto non determina alterazioni degli indici di funzionalità epatica e renale (transaminasi, γ GT, bilirubina totale, azotemia e creatinemia) sebbene tale dato sia riportato in letteratura.

Questo risultato potrebbe essere stato influenzato dal piccolo campione studiato visto, tra l'altro, che i soggetti che presentavano livelli di transaminasi più elevati avevano contemporaneamente livelli di Sevoflurano e HFIP urinario più alti.

Alla luce di quanto esposto, si evince la necessità di adottare, nelle sale operatorie, misure preventive sia di tipo ambientale che riguardanti le tecniche anestesiolgiche al fine del mantenimento delle ideali condizioni ambientali di sicurezza per il personale professionalmente esposto.

Tuttavia bisogna considerare l'impossibilità assoluta di evitare tale rischio in ambito pediatrico dal momento che non è possibile adottare una TIVA razionale nelle prime età della vita e vi è, quindi, la necessità di utilizzare una ventilazione in maschera che, inevitabilmente, determina una dispersione del gas anestetico nell'area ambiente.

Per una adeguata prevenzione è comunque consigliabile adottare una serie di accorgimenti:

- raccogliere informazioni relative al funzionamento dei sistemi di ventilazione e di evacuazione dei gas, al tipo di anestetici utilizzati ed alla loro frequenza d'uso;
- qualora sia necessario ricorrere all'induzione in maschera con l'impiego di anestetici per inalazione, si dovrà garantire la massima aderenza della maschera sul viso, così da limitare la dispersione dell'anestetico nell'ambiente;
- effettuare il caricamento dei vaporizzatori al di fuori della sala operatoria ed in ambiente ventilato; infatti, una caduta accidentale di sole 5-6 gocce di liquido anestetico al di fuori dell'apparecchiatura può determinare un inquinamento di circa 100 volte superiore ai limiti ammessi;

- accertarsi prima di indurre l'anestesia che siano attivati e ben raccordati i dispositivi di allontanamento dei gas e verificare che non vi siano perdite nell'apparecchio di anestesia;
- non aprire i flussometri prima dell'induzione dell'anestesia ed utilizzare flussi (di gas) più bassi possibili;
- ossigenare a lungo il paziente prima dell'estubazione, così da limitare l'emissione di gas nell'ambiente esterno alla sala operatoria: a tale scopo, l'utilizzazione di cuscini aspiranti sembra contribuire notevolmente alla riduzione dell'inquinamento;
- effettuare una manutenzione periodica degli apparecchi di anestesia;
- sottoporre a sorveglianza sanitaria il personale di sala operatoria con visite mediche periodiche per valutarne lo stato di salute nel tempo.

BIBLIOGRAFIA

1. Genotoxic effects of anesthetic agent.
Fodale V, Mondello S, Aloisi C, Schifilliti D, Santamaria L.
Expert Opin Drug Saf. 2008 Jul;7(4):447-58. Review.
2. Biologic effects of nitrous oxide: a mechanistic and toxicologic review.
Sanders RD, Weimann J, Maze M.
Anesthesiology. 2008 Oct; 109(4):707-22. Review.
3. Exposure to exhaled nitrous oxide in hospitals post-anesthesia care units.
Nayebzadeh A.
Ind Health. 2007 Apr;45(2):334-7.
4. Anesthetic gases exposure: findings from a 13 year environmental and biological monitoring in a hospital company.
Ritzu S, Boccalon P, Sanchez MA, Arcangeli G, Capelli V.
G Ital Med Lav Ergon. 2007 Jul-Sep;29(3 Suppl):411-3.
5. Pollution of ambient air by volatile anesthetics: a comparison of 4 anesthetic management techniques.
Barberio JC, Bolt JD, Austin PN, Craig WJ.
AANA J. 2006 Apr;74(2):121-5.
6. Exposure of hospital personnel to sevoflurane.
Schiewe-Langgartner F, Wiesner G, Gruber M, hobbhahn J.
Anaesthetist. 2005 Jul;54(7):666-72.
7. Urinary sevoflurane and hexafluoro-isopropanol as biomarkers of low-level occupational exposure to sevoflurane.
Accorsi A, Morrone B, Domenichini I, Valenti S, Raffi GB, Violante FS.
Int Arch Occup Environ Health. 2005 Jun;78(5):369-78.
8. Monitoring occupational exposure to volatile anaesthetics in the operating theatre: environmental and biological measurements.
Rovesti S, Ferrari A, Faggiano D, Violi G.
Ann Ig. 2005 May-Jun;17(3):219-30.
9. Chronic exposure to anesthetic gases affects balance control in operating room personnel.
Vouriot A, Gauchard GC, Chau N, Nadif R, Mur JM, Perrin PP.
Neurotoxicology. 2005 Mar;26(2):193-8.
10. Health risks and occupational exposure to volatile anaesthetics- a review with a systematic approach.
Nilsson R, Bjordal C, Andersson M, Bjordal J, Nyberg A, Welin B, Willman A.
J Clin Nurs. 2005 Feb;14(2):173-86. Review.

11. Exposure of personnel to sevoflurane during paediatric anaesthesia: influence of professional role and anaesthetic procedure.
Gentili A, Accorsi A, Pigna A, Bachiooco V, Domenichini I, Baroncini S, Violante FS.
Eur J Anaesthesiol. 2004 Aug;21(8):638-45.
12. Volatile anesthetics.
Loscar M, Conzen P.
Anaesthesist. 2004 Feb;53(2):183-98. Review.
13. Sevoflurane in exhaled air of operating room personnel.
Summer G, Lirk P, Hoerauf K, Riccabona U, Bodrogi , Raifer H, Deibi M, Rieder J, Schobersberger W.
Anesth Analg. 2003 Oct;97(4):1070-3.
14. Effects of volatile and intravenous anesthetic agents on neutrofil function.
Leonard SA, Redmond HP.
Int Anesthesiol Clin. 2003 Winter;41(1):21-9.
15. Biological monitoring of occupational exposure to sevoflurane.
Imbriani M, Zadra P, Negri S, Alessio A, Maestri L, Ghittori .
Med Lav. 2001 May-Jun;92(3):173-80.
16. Low alkali-hydroxide content in soda limes does not lead to reduction of compound A formation from sevoflurane during low-flow anaesthesia.
Reichle FM, Conzen P, Czerner S, Groger G, Peter K.
Anaesthesist. 2001 Mar;50(3):155-61.
17. Online monitoring of air quality at the postanesthetic care unit by proton-transfer-reaction mass spectrometry.
Rieder J, Prazeller P, Boehler M, Lirk P, Lindinger W, Armann A.
Anesth Analg. 2001 Feb;92(2):389-92.
18. Occupational exposure and environmental pollution: the role of inhalation anesthetics with special consideration of sevoflurane.
Hobbhahn J, Wiesner G, Taeger K.
Anaesthesist. 1998 Nov;47 Suppl 1:S77-86. Review.
19. Risk of spontaneous abortion in women occupationally exposed to anaesthetic gases: a meta-analysis.
Boivin JF.
Occup Environ Med. 1997 Aug;54(8):541-8.
20. Simultaneous determination of unmodified sevoflurane and of its metabolite hexafluoroisopropanol in urine by headspace sorptive extraction–thermal desorption–capillary gas chromatography–mass spectrometry.
Accorsi, B. Morrone, M. Benzo, C. Gandini, G. B. Raffi, F. S. Violante
Journal of Cromatography A, 2005, 1071, 131-134

21. Enflurane as an internal standard in monitoring halogenated volatile anaesthetics by headspace gas chromatography–mass spectrometry.
A. Accorsi, S. Valenti, A. Barbieri, G. B. Raffi, F. S. Violante
Journal of Chromatography A, 2003, 985, 259-264

22. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis.
G. Vas, K. Vékey
Journal of Mass Spectrometry, 2004, 39, 233-254