



# Prevenzione e Controllo del Rischio di Allergie da Animali da Laboratorio

**Atti della Conferenza**

15-16 Ottobre 2009 - Siena

Editors:

Biancamaria Pietrangeli

Massenzio Fornasier

Luca Nelli

Atti della conferenza

**“Prevenzione e Controllo del Rischio di Allergie da Animali da Laboratorio”**

tenutasi a Siena il 15 e 16 ottobre 2009

Revisione editoriale a cura di Giusi Piga

Pubblicati dal Dipartimento Processi Organizzativi dell'ISPESL:

Direttore - Piero Iacono

Ufficio amministrativo-gestionale - Pier Francesco Benvenuto

U.F. Consulenza ed Assistenza - Mario Stella - Luigi Santone

# Prevenzione e Controllo del Rischio di Allergie da Animali da Laboratorio

---

Atti della Conferenza  
15-16 Ottobre 2009 - Siena

Editors:  
Biancamaria Pietrangeli  
Massenzio Fornasier  
Luca Nelli



# INDICE

---

|                                                                                                                                                                        |         |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Premessa                                                                                                                                                               | Pag. 5  |
| Allergie ed Asma Bronchiale<br><i>Massimo Corradi</i>                                                                                                                  | Pag. 7  |
| Biotechnologie, Biosicurezza, Allergeni e Normativa: l'attività dell'ISPESL<br><i>Biancamaria Pietrangeli</i>                                                          | Pag. 20 |
| Animal Care Unit, problematiche di sicurezza e fattori di rischio<br>di cui tenere conto<br><i>Marco Landi</i>                                                         | Pag. 25 |
| Procedure di Prevenzione e Controllo della LAA: Aspetti Pratici<br><i>Andrea Tamellini</i>                                                                             | Pag. 34 |
| Gli allergeni del coniglio: un problema sottovalutato?<br><i>Massimiliano Bardotti</i>                                                                                 | Pag. 37 |
| Engineering, a solution to Laboratory Animal Allergy?<br><i>James Wallace</i>                                                                                          | Pag. 40 |
| Reducing Laboratory Acquired Allergy<br><i>Michael Sidelsky Sr</i>                                                                                                     | Pag. 47 |
| Importanza dei protocolli di manutenzione in una animal facility<br><i>Marco Bagno</i>                                                                                 | Pag. 64 |
| Monitoraggio degli allergeni: esperienza in animal facility di ricerca<br><i>Jessica Tibasco</i>                                                                       | Pag. 68 |
| Gestione del rischio e controllo delle LAA in una drug discovery company<br><i>Luca Nelli</i>                                                                          | Pag. 72 |
| AAALAC Accreditation: Valutazione delle strategie messe in atto<br>negli stabulari per il controllo degli allergeni<br><i>Patrizia Costa</i>                           | Pag. 81 |
| Approccio pratico all'idoneità specifica alla mansione di lavoratore<br>esposto ad allergeni di animali da laboratorio<br><i>Carlo Bulgheroni</i>                      | Pag. 85 |
| Resoconto del break out A "Conflitti e sinergie tra procedure operative<br>e prevenzione delle LAA per gli operatori"<br><i>Massenzio Fornasier, Giacomo Matteucci</i> | Pag. 92 |
| Resoconto del break out B "Risk Assessment come strumento<br>di prevenzione e controllo di LAA"<br><i>Roberto Carlesso</i>                                             | Pag. 95 |
| Resoconto del break out C "Quale sorveglianza sanitaria per gli operatori?"<br><i>Laura Burgalassi</i>                                                                 | Pag. 98 |



## Premessa

---

Cari colleghi,

è nostro grande piacere presentarvi gli Atti della Conferenza “Prevenzione e Controllo del Rischio di Allergie da Animali da Laboratorio, LAA” tenutasi a Siena il 15 e 16 Ottobre 2009, organizzata da Siena Biotech SpA, Novartis Vaccines e Diagnostics Srl, SIVAL ed IBP in collaborazione con GlaxoSmithKline, Sanofi Aventis e Toscana Life Sciences.

La Conferenza ha affrontato e sviluppato vari aspetti legati alla prevenzione ed al controllo della LAA nelle Animal Facilities di ricerca, favorendo il collegamento fra legislazione, stato dell'arte, esperienze di differenti discipline, orientamenti e standards.

Al tempo stesso questo evento ha rappresentato un'opportunità unica di formazione e di scambio di conoscenze ed esperienze, offrendo anche l'occasione per stabilire una comune piattaforma dove potersi incontrare regolarmente anche in futuro con l'obiettivo del miglioramento del benessere sul lavoro e della prevenzione di questa importante tematica occupazionale.

Si ringraziano tutti gli enti che hanno patrocinato l'iniziativa:

Associazione Nazionale Medici D'Azienda

AIAS

Comune di Siena

Fondazione Monte dei Paschi di Siena

ISPESL

O.m.c.e.o Siena

Provincia di Siena

SIMLII Toscana

Università degli Studi di Firenze

Università degli Studi di Parma

Università degli Studi di Siena



## Introduzione

L'argomento trattato in questo convegno è notevolmente importante, anche da punto di vista scientifico. Il NIOSH, il principale ente americano che si occupa di medicina del lavoro, qualche anno fa ha pubblicato addirittura un *warning*, segnalando che l'esposizione ad animali o prodotti animali nei posti di lavoro poteva causare asma ed allergie. In questo *warning* gli autori ricordano quelle che sono le dimensioni del problema, avvertendo che due milioni di lavoratori al mondo lavorano giornalmente con animali e di questi un terzo ha un qualche sintomo allergico indotto dagli animali ed il 10% ha l'asma. Sappiamo che l'asma è una patologia cronica, per definizione non si guarisce, di conseguenza una persona che sviluppa asma rischia di soffrire di questa patologia per tutta la vita.

Quindi cerchiamo di capire che cos'è l'allergia da animali da laboratorio. Prima di tutto questa può essere definita come una condizione clinica che si può sviluppare quando individui soprattutto suscettibili sono esposti ad antigeni animali presenti nell'ambiente di lavoro. Dal punto di vista della patogenesi questa patologia è una classica reazione di ipersensibilità di Tipo I ad antigeni ad alto peso molecolare, presenti maggiormente in urina, forfora e in parte minore in saliva di animali da laboratorio.

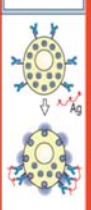
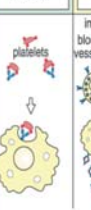
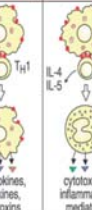
Le manifestazioni cliniche possono essere varie ma interessano in particolare quei tessuti ricchi di mastociti che sono le principali cellule implicate in questa forma di allergia. Quindi rinocongiuntivite, asma bronchiale con periodo di latenza - attualmente l'asma occupazionale si distingue in asma con e senza periodo di latenza - e anche patologie cutanee quali dermatite ed eczema.

## L'allergia

Abbiamo cominciato a parlare di alcuni concetti - allergia, suscettibilità, ipersensibilità - si ritiene dunque corretto cercare di arrivare a una chiara definizione di questi in quanto in letteratura diverse e spesso anche contraddittorie sono le definizioni che si utilizzano. Nel 2001 un importante gruppo di studio, in cui hanno partecipato anche alcuni autori italiani, ha cercato di fare una revisione della nomenclatura relativamente all'allergia, al fine di mettere un punto fermo su come alcuni termini vanno definiti e sul loro significato.

L'atopia è una predisposizione, che può essere familiare o personale, a sviluppare e a produrre specifici anticorpi della classe IgE per sostanze che sono presenti ubiquitarie. Tuttavia il termine atopia non dovrebbe essere usato se non documentando la presenza di anticorpi di tipo IgE specifici o con appropriati test cutanei, quindi un'attenta anamnesi può essere di aiuto per identificare la persona atopica, ma solo gli esami di laboratorio ne possono confermare la diagnosi. È importante ricordare che l'atopia è una condizione necessaria ma quasi mai sufficiente per sviluppare le manifestazioni cliniche, quindi l'atopia identifica la suscettibilità dell'individuo e non necessariamente lo sviluppo della patologia. Si è accennato anche all'ipersensibilità, in particolar modo di Tipo I, questa è una esagerata risposta del sistema immunitario che provoca sintomi e segni che sono evocati dall'esposizione a stimoli che raramente hanno effetto nei soggetti normali. L'ipersensibilità può essere immunologica, di tipo IgE o di tipo non IgE, o addirittura non immunologica. Quando ci riferiamo all'allergia intendiamo una ipersensibilità che è iniziata da meccanismi immunologici. Quasi sempre, quando si parla di allergia, alla base si rileva un'aumentata produzione di anticorpi di tipo IgE, anticorpi prodotti a seguito dell'esposizione con particolari allergeni che altro non sono che antigeni, per lo più di natura proteica o glico-proteica. Questi determinano su un individuo suscettibile una risposta immunologica proprio a carico di anticorpi della classe IgE. La classica classificazione di Gell e Coombs suddivide le ipersensibilità in quattro tipi (Fig.1).

# Allergia= Ipersensibilità tipo I

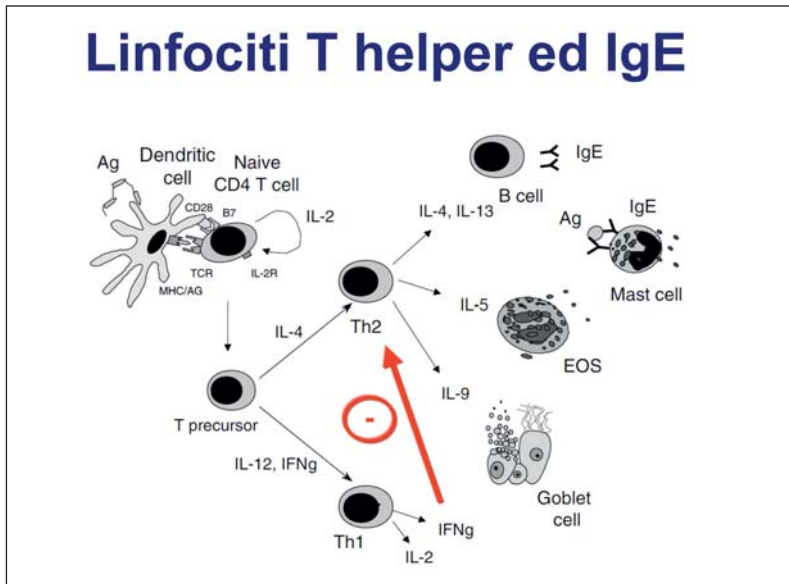
|                    | Type I                                                                            | Type II                                                                           | Type III                                                                          | Type IV                                                                           |                                                                                   |                                                                                    |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Immune reactant    | IgE                                                                               | IgG                                                                               | IgG                                                                               | T <sub>H</sub> 1 cells                                                            | T <sub>H</sub> 2 cells                                                            | CTL                                                                                |
| Antigen            | Soluble antigen                                                                   | Cell- or matrix-associated antigen                                                | Soluble antigen                                                                   | Soluble antigen                                                                   | Soluble antigen                                                                   | Cell-associated antigen                                                            |
| Effector mechanism | Mast-cell activation                                                              | FcR <sup>+</sup> cells (phagocytes, NK cells)                                     | FcR <sup>+</sup> cells Complement                                                 | Macrophage activation                                                             | Eosinophil activation                                                             | Cytotoxicity                                                                       |
|                    |  |  |  |  |  |  |

Il problema di oggi interessa la ipersensibilità di Tipo I, nella quale anticorpi della classe IgE risultano essere i principali anticorpi implicati nella patogenesi e le cellule che poi causano la maggior parte della sintomatologia sono mastociti tissutali. I mastociti sono cellule tissutali presenti prevalentemente in quei tessuti, congiuntiva, mucosa nasale, mucosa del tratto respiratorio e derma, dove proprio si vengono a manifestare i quadri clinici. Cerchiamo di vedere come queste patologie allergiche sono distribuite dal punto di vista epidemiologico, per poi arrivare a capire quanto frequente è la patologia allergica, cioè con quale frequenza possiamo avere di fronte a noi una persona allergica ovvero più suscettibile a sviluppare allergia da animali da laboratorio.

Più del 20% della popolazione, nelle nazioni altamente industrializzate, presenta una qualche forma di allergia. In Italia addirittura il 15% dell'intera popolazione presenta o ha avuto una qualche manifestazione allergica nel corso della vita, un po' meno frequenti in altre parti d'Europa. È un fenomeno che possiamo definire sociale. Queste allergie in genere si manifestano in modo differente a seconda dell'età. Se nei primi anni di vita prevalgono principalmente patologie quali eczema e allergie alimentari, negli anni dell'adolescenza spesso sono preponderanti problemi di rinite e di asma. Successivamente nell'età, chiamiamola così, lavorativa la rinite tende a calare, mentre l'asma è la patologia allergica maggiormente presente e che perciò più spesso si dovrà affrontare avendo a che fare con i lavoratori. Se osserviamo la distribuzione dell'asma in diverse nazioni, con dati di prevalenza ottenuti in periodi molto diversi, si può notare come in tutte i paesi la prevalenza dell'asma, primariamente nei bambini e negli adolescenti, è nettamente in aumento. Per spiegare il motivo dell'aumento significativo di queste patologie allergiche, è necessario capirne la patogenesi. È noto che nelle malattie allergiche non si ha un comportamento singolo gene uguale una malattia, ma è una classica condizione clinica nella quale si ha una complessa interazione fra fattori igienici, sui quali possiamo fare ben poco, e fattori ambientali. Si ritiene che proprio dall'interazione fra una suscettibilità genetica e fattori ambientali aumenti la frequenza di patologie atopiche: congiuntivite, rinite, eczema ed asma. Per cercare di conoscere almeno quali sono le condizioni ambientali che favoriscono questa elevata prevalenza di patologie allergiche, dobbiamo comprendere la patogenesi della produzione di anticorpi di classe IgE. Nel corpo sono presenti due tipi di anticorpi della classe T, in particolar modo T-helper, Th1 e Th2. I Th2 sono tipicamente quei linfociti che stimolano la produzione di anticorpi. I fattori ambientali che favoriscono questo tipo di linfocita sono: uno stile di vita tipicamente europeo, l'elevato utilizzo di antibiotici soprattutto in età giovanile, diete che determinano

sempre maggiormente le scarse difese dell'organismo e l'assorbimento di allergeni. Tutti questi fattori incentivano un bilanciamento dei linfociti Th2 e quindi una aumentata prevalenza di patologie allergiche quali l'asma. Altre condizioni, ad esempio un ambiente rurale, patologie che oramai sono chiaramente scomparse o quasi nelle nostre zone - basti pensare alle epatiti e alla tubercolosi – paradossalmente invece, stimolando maggiormente questi linfociti, hanno un effetto protettivo sulla produzione di anticorpi di classe IgE.

Nell'immagine seguente si può capire meglio come dal bilanciamento di linfociti Th2 e Th1 si possa regolare la produzione di anticorpi. Infatti, se i linfociti Th2 tipicamente stimolano i linfociti B a produrre anticorpi, i linfociti Th1 sono gli unici che tramite la produzione di sostanze, come l'interferon-gamma, hanno un effetto negativo, quindi soppressore sull'attività di questi linfociti, e perciò riducono l'incidenza di patologie allergiche.



Quelle condizioni cliniche, un ambiente rurale, infezioni che favoriscono l'attivazione di questi linfociti hanno un effetto protettivo sulla produzione di anticorpi IgE e quindi riducono l'incidenza di allergie. Uno stile di vita prettamente europeo, nel quale lo stimolo di questi linfociti oramai è praticamente soppresso a causa della scomparsa di molte patologie, dell'elevato utilizzo di antibiotici con la riduzione delle difese dell'organismo, fa sì che sempre più persone diventino allergiche.

Abbiamo quindi introdotto brevemente quella che è la patogenesi delle reazioni di ipersensibilità di Tipo I, ma ora vorrei affrontare l'argomento maggiormente in dettaglio ricordando che le fasi della reazione allergica possono essere distinte in tre differenti e successive fasi: fase della esposizione, nella quale antigeni o apteni sono riconosciuti dal nostro sistema immunitario; fase della sensibilizzazione, che potrete trovare definita anche come pre-allergia, nella quale si ha la specifica produzione di anticorpi di tipo IgE, quando si parla di persona sensibilizzata significa che il soggetto ha nel suo sangue anticorpi della classe IgE verso l'antigene in questione; infine la fase della manifestazione clinica, anche detta allergia franca, nella quale, a seguito dell'attivazione di questi anticorpi e della successiva, come vedremo, degranulazione dei mastociti, si viene ad avere la liberazione di mediatori infiammatori e lo sviluppo di flogosi. Bisogna ricordare che la flogosi o infiammazione è alla base di tutte le patologie allergiche. Questo spiega perché il principale trattamento per le patologie allergiche ha come base farmaci antinfiammatori, in particolare steroidi. Se volessimo in un qualche modo graficare quello che è lo sviluppo della patologia allergica, potremmo rappresentarla come una piramide. (Fig.3)

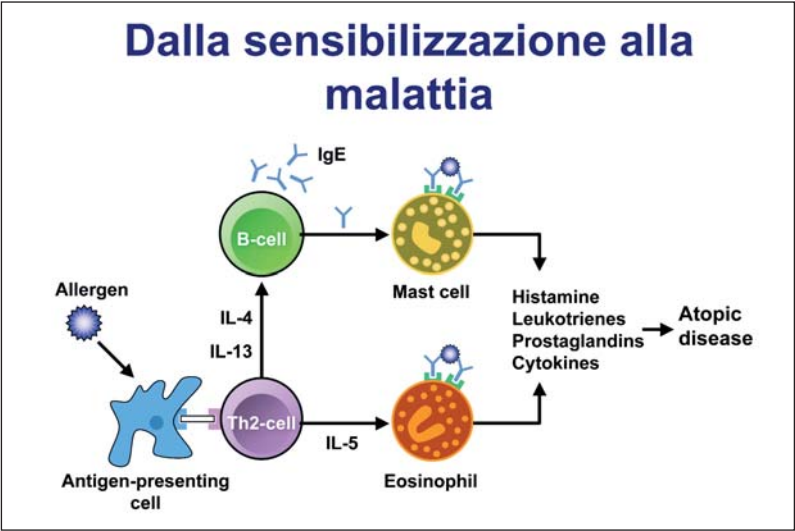


L'atopia è una predisposizione verso la quale ancora si può fare ben poco, se non adottare particolari stili di vita specialmente nei bambini.

Il medico competente, anche se non può fare molto nei confronti dell'atopia, deve sapere che è un importantissimo fattore di rischio e per questo deve essere identificato. La limitazione dell'esposizione rappresenta forse il miglior modo per ridurre le patologie in questo caso allergiche. Il medico competente, o medico del lavoro, inoltre può anche agire cercando di rilevare questa condizione clinica, pre-allergia o sensibilizzazione. Nelle linee guida SIMLII sui sensibilizzanti questa condizione viene definita pre-clinica e compito della medicina del lavoro è proprio riscontrare le patologie che sono ancora in fase pre-clinica, quindi la scienza della prevenzione che consente di riscontrare indicatori biologici precoci di patologia è alla base per una corretta prevenzione secondaria perché, quando la patologia allergica si è già sviluppata, vuol dire che le fasi di valutazione dell'esposizione e della prevenzione secondaria non sono state efficaci.

Vediamo ora di affrontare nel dettaglio le singole fasi che si hanno dall'esposizione, alla sensibilizzazione, alla malattia. Gli allergeni possono entrare in contatto con l'organismo per via inalatoria, è la principale via di esposizione, ma anche in piccola parte percutanea e mucosa. Molti articoli riportano come il contatto con antigeni animali si possa verificare anche lontano dallo stabulario: conviventi, parenti di lavoratori addetti allo stabulario si possono sensibilizzare in quanto questi allergeni possono essere trasportati fuori dallo stabulario con il vestiario e soprattutto con i capelli. È stato visto che la protezione dei capelli è essenziale per evitare di portare antigeni fuori dall'ambiente di lavoro. Il contatto dell'antigene si viene a verificare nell'organismo con le cosiddette cellule presentanti l'antigene, che adsorbono l'allergene, poi lo riprocessano e lo ripresentano a linfociti della classe Th2 che poi, stimolando i linfociti B, determinano la produzione di specifici anticorpi della classe IgE. Va ricordato pertanto che una persona si definisce sensibilizzata verso un antigene quando specifiche IgE sono prodotte in risposta all'esposizione e che il periodo che intercorre dall'inizio dell'esposizione alla produzione di specifiche IgE è definito periodo di latenza. A questo punto vorrei andare maggiormente sul pratico, avendo introdotto il concetto di sensibilizzazione. Un argomento trattato sia nelle linee guida che nella comunità scientifica attiene alla questione se la sensibilizzazione in quanto tale possa essere considerata una malattia. Per la scienza medica la sensibilizzazione non è una malattia ma è un potenziale di malattia poiché la sensibilizzazione non si traduce necessariamente in reazioni allergiche, ad ogni modo va sempre considerata come un importante fattore di rischio. Il problema è che la giurisprudenza penale invece, con importanti sentenze anche di Corte di Cassazione, sostiene che la malattia è rappresentata dalle alterazioni del sistema immunitario. Esiste quindi una sorta di divergenza fra la scienza medica e la giurisprudenza che può essere affrontata adottando un atteggiamento prudente. Nello specifico ese-

guendo una denuncia e un referto anche in caso di sola sensibilizzazione, tuttavia la loro omissione è sicuramente un atto non sanzionabile date le notevoli incertezze, in quanto solo quando alla sensibilizzazione fa seguito la malattia possiamo veramente parlare di malattia franca, e questa si viene a verificare quando anticorpi legati a mastociti e a eosinofili riconoscono, dopo successive esposizioni, gli antigeni che si degranulano e liberano numerose sostanze – istamina, prostaglandine, citochine – i quali sono responsabili della patologia atopica allergica. (Fig.4)



Nell’immagine con microscopia ottica (Fig.5), si nota bene un mastocita cosiddetto a riposo, il cui citoplasma è pieno di vacuoli, e un mastocita attivato in cui i mediatori sono liberati di continuo e, possono essere liberati in due tempi differenti, alcuni sono mediatori preformati, quindi già presenti all’interno dei granuli, quali l’istamina, responsabili delle manifestazioni che si verificano dopo breve tempo dall’esposizione. Altri mediatori invece, cosiddetti neo-sintetizzati, che richiedono un po’ di tempo per poter essere formati - ad esempio citochine, leucotrieni - causano la cosiddetta reazione tardiva, quindi a distanza dall’esposizione. Infatti questo spiega perché dal punto di vista clinico abbiamo una fase acuta e una fase tardiva della risposta infiammatoria allergica, che può essere evidente sia clinicamente che dal punto di vista funzionale.

**Mediatori dei mastociti**

**Mediatori preformati**

**Mediatori neo-sintetizzati**

| Class of product | Examples                                         | Biologic Effects                                                                                                    |
|------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Enzyme           | Trypsase, chymase, cathepsin G, carboxypeptidase | Remodel connective tissue matrix                                                                                    |
| Toxic mediator   | Histamine, heparin                               | Toxic to parasites<br>Increase vascular permeability<br>Cause smooth muscle contraction                             |
| Cytokine         | IL-4, IL-13                                      | Stimulate and amplify Th2 cell response                                                                             |
|                  | IL-3, IL-5, GM-CSF                               | Promote eosinophil production and activation                                                                        |
|                  | TNF-α (some stored preformed in granules)        | Promotes inflammation, stimulates cytokine production by many cell types, activates endothelium                     |
| Chemokine        | MIP-1α                                           | Attracts monocytes, macrophages, and neutrophils                                                                    |
| Lipid mediator   | Leukotrienes C4, D4, E4                          | Cause smooth muscle contraction<br>Increase vascular permeability<br>Stimulate mucus secretion                      |
|                  | Platelet-activating factor                       | Attracts leukocytes<br>Amplifies production of lipid mediators<br>Activates neutrophils, eosinophils, and platelets |

Tale aspetto deve essere anche considerato dal medico competente, in quanto il paziente o il lavoratore può rilevare una sintomatologia che in apparenza è a distanza dall'esposizione, ma non per questo non è legata all'originale esposizione, dato che questo doppio comportamento è tipico delle reazioni di ipersensibilità di Tipo I.

Per riassumere, le caratteristiche generali delle patologie da sensibilizzazione sono così sintetizzabili: i soggetti predisposti manifestano i sintomi in seguito ad esposizioni che sono innocue per la maggior parte della popolazione; è necessario un periodo di latenza fra inizio dell'esposizione e comparsa dei sintomi, questo è molto importante dal punto di vista anamnestico; la prevalenza della malattia è tipicamente bassa e come vedremo sono di fondamentale importanza i fattori di predisposizione individuale. Infine, la risposta all'allergene, almeno nelle fasi iniziali, è altamente specifica.

**L'allergia da animali da laboratorio**

Nettamente collegato al precedente argomento è proprio l'allergia da animali da laboratorio. Questa tabella(Fig.6) rappresenta la prevalenza dei sintomi allergici che i vari autori nel corso degli anni hanno riportato in letteratura, da cui risulta che la prevalenza dei sintomi allergici può avere un range da circa il 15% fino a oltre il 40%. Come giustamente però ha riferito il NIOSH, si ritiene che un range di prevalenza fra il 10 e il 30% sia ragionevole, tuttavia se si considera che fino al 30% dei lavoratori possono avere la patologia, si deduce che è circa uno su tre. Fortunatamente, questi sintomi non sono necessariamente sintomi asmatici, comunque il 10% dei soggetti può sviluppare l'asma. Di fronte a una patologia asmatica la situazione e l'atteggiamento devono completamente cambiare in quanto, come vedremo, se si sviluppa l'asma bronchiale e il lavoratore continua ad essere esposto, è molto probabile che anche quando l'esposizione viene interrotta la sintomatologia asmatica persista per tutta la vita, poiché i meccanismi infiammatori che si vengono a generare tendono ad auto-mantenersi indipendentemente dallo stimolo antigenico iniziale.

Laboratory Animal Allergy: An Update

Volume 44, Number 1 2003

Robert K. Bush and Gregg M. Stave

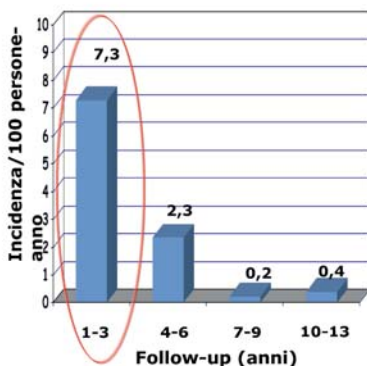
Table 1 Reported cases of allergic symptoms of individuals working with laboratory animals\*

| Study (year) <sup>b</sup> | Country        | Facilities      |                         | Workers       |                                |
|---------------------------|----------------|-----------------|-------------------------|---------------|--------------------------------|
|                           |                | No.             | Type                    | No. evaluated | No. with allergic symptoms (%) |
| Lutsky and Newman (1975)  | United States  | 39 <sup>c</sup> |                         | 1293          | 181 (14%)                      |
| Gross (1980)              | United States  |                 | Research                | 393           | 59 (15%)                       |
| Cockcroft (1981)          | United Kingdom |                 | Research                | 179           | 49 (27%)                       |
| Schumacher et al. (1981)  | Australia      |                 | Research                | 121           | 39 (32%)                       |
| Slovak and Hill (1981)    | United Kingdom |                 | Pharmaceutical research | 146           | 48 (30%)                       |
| Beeson et al. (1983)      | United Kingdom |                 | Pharmaceutical research | 62            | 15 (22%)                       |
| Agrup et al. (1986)       | Sweden         |                 | Research                | 101           | 30 (30%)                       |
| Bland (1986)              | United States  |                 | Research                | 549           | 131 (23.9%)                    |
| Venebles et al. (1988)    | United Kingdom |                 | Pharmaceutical          | 133           | 59 (44%)                       |

La prevalenza dell'asma è di circa il 10 %

Abbiamo parlato di prevalenza, ora vediamo invece l'incidenza. La prevalenza è una fotografia istantanea e l'incidenza è un fenomeno temporale, infatti si viene a verificare solitamente per anno. (Fig.7)

## Incidenza dei sintomi di allergia agli animali di laboratorio



(Elliott, 2005)

È importante ricordare questi numeri semplicemente per il fatto che l'incidenza della patologia è massima nei primi tre anni dall'inizio dell'esposizione. Questo ha anche un'importante ripercussione pratica perché significa che la sorveglianza sanitaria può essere maggiormente focalizzata soprattutto nei primi tre anni. Ciò non implica che la persona dopo il terzo anno non svilupperà mai patologie, ma indica che se voglio intensificare la sorveglianza o come frequenza o come tecniche che utilizzo, posso concentrarmi sui primi tre anni.

Osserviamo ora quelli che sono i principali allergeni animali (Fig.8), ricordando che vari animali possono causare patologie – topolini, ratti ed anche conigli – e che le matrici che sono la sorgente di questi allergeni sono soprattutto peli, forfora, urina. L'urina si ritiene essere la principale matrice entro la quale sono presenti allergeni. E solo per curiosità, se analizziamo la funzione biologica di questi allergeni, molti appartengono alla famiglia delle lipocaline, proteine extra-cellulari, di cui è interessante notare che hanno sequenze esattamente omologhe a quelle presenti in alcuni parassiti. Parallelamente gli anticorpi di tipo IgE, oltre che avere un ruolo nell'allergia, sono implicati tipicamente, assieme agli eosinofili, nella difesa dai parassiti.

## Allergeni animali

Table 2 Laboratory animal allergens<sup>a</sup>

| Animal                                     | Allergen                                       | MW <sup>b</sup> (kD) | Source               | Biological function                   |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------------------|
| Mouse<br>( <i>Mus musculus</i> )           | Mus m 1 (prealbumin)                           | 19                   | Hair, dander, urine  | Lipocalin-odorant binding protein     |
|                                            | Mus m 2                                        | 16                   | Hair, dander         | Unknown                               |
|                                            | Albumin                                        |                      | Serum                | Serum protein                         |
| Rat<br>( <i>Rattus norvegicus</i> )        | Rat n 1A/Rat n 1B                              | 18.7                 | Hair, dander         | Lipocalin-pheromone binding protein   |
|                                            | ( $\alpha_2$ -globulin)                        |                      | Urine, saliva        |                                       |
|                                            | Albumin                                        |                      | Serum                |                                       |
| Guinea pig<br>( <i>Cavia porcellus</i> )   | Cav p 1                                        |                      | Hair, dander, urine  | Unknown                               |
| Rabbit<br>( <i>Oryctolagus cuniculus</i> ) | Cav p 2                                        |                      | Hair, dander, urine  |                                       |
|                                            | Ag 1 (Price and Longbottom 1990 <sup>c</sup> ) | 17                   | Hair, dander, saliva | Possible lipocalin                    |
|                                            | Ag 2 (Warner and Longbottom 1991)              |                      | Hair, dander, urine  |                                       |
| Cat<br>( <i>Felis domesticus</i> )         | Fel d 1                                        | 38                   | Hair, dander, saliva | Unknown                               |
|                                            | Albumin                                        |                      | Serum                | Serum protein                         |
| Dog<br>( <i>Canis familiaris</i> )         | Can f 1                                        | 25                   | Hair, dander, saliva | Lipocalin cysteine protease inhibitor |
|                                            | Can f 2                                        | 19                   | Hair, dander, saliva | Lipocalin                             |
|                                            | Albumin                                        |                      | Serum                | Serum protein                         |

<sup>a</sup>Adapted from Wood RA. 2001. Laboratory animal allergens. ILAR J 42:12-16.

<sup>b</sup>MW, molecular weight.

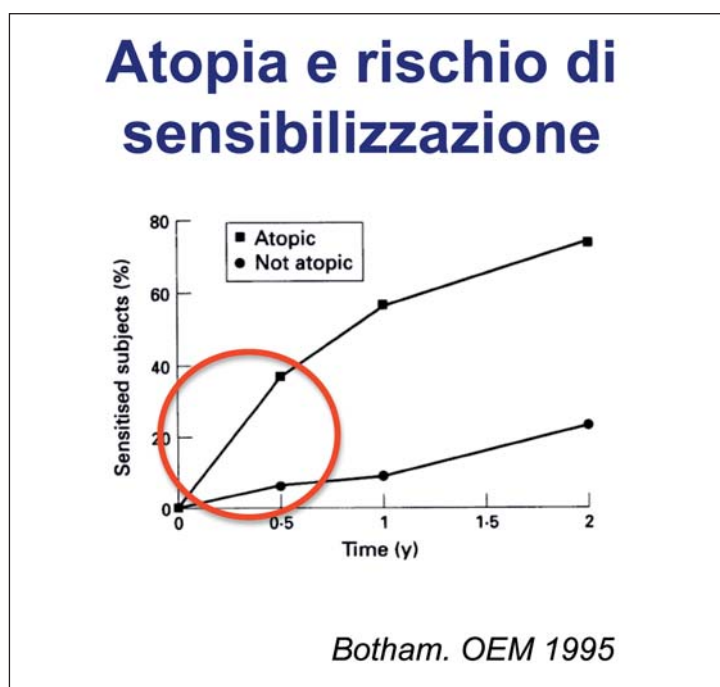
<sup>c</sup>See text for complete references.

**Molti determinanti antigenici appartengono alla famiglia delle lipocaline, che hanno sequenze omologhe a quelle presenti in alcuni parassiti**

Bush. ILAR 2003

Dal punto di vista sintomatologico l'allergia da animale da laboratorio, il cui acronimo è LAA (*Laboratory Animal Allergy*), si manifesta in particolare a carico di occhi, naso e pelle, ma ciò che è rilevante notare è che quasi mai l'asma si manifesta in maniera isolata. Spesso i sintomi rino-congiuntivali precedono i sintomi asmatici, quindi il medico competente deve considerare questi come possibili eventi sentinella, come eventi precoci, come sorveglianza sanitaria precoce da fare per evitare lo sviluppo successivo di asma. Infatti, se con una sintomatologia rino-congiuntivale posso avere quasi sempre la *restitutio ad integrum*, nel caso di sviluppo di una patologia asmatica, soprattutto se persiste l'esposizione, la patologia con il tempo tende a cronicizzare indipendentemente dal contatto antigenico. Il medico competente, quando ha di fronte un lavoratore, in primo luogo deve effettuare una valutazione di quelli che sono i fattori di rischio per lo sviluppo della patologia. Fattori che possono essere legati all'ambiente, al tipo di esposizione ed anche in parte al tipo di allergene, ma specialmente legati all'ospite di cui i principali riportati in letteratura sono: l'atopia, il fumo, la sensibilizzazione verso gli allergeni animali, e l'asma.

L'atopia è il principale fattore di rischio per la sensibilizzazione, non necessariamente per la malattia, lo dimostra molto bene questa *review* pubblicata su *Occupational and Environmental Medicine*. (Fig.9)



La percentuale di soggetti sensibilizzati, nel gruppo degli atopici, nel tempo era nettamente maggiore rispetto ai soggetti non atopici. Questo dal punto di vista della patogenesi ha anche una sua spiegazione razionale, perché la persona ha un'aumentata predisposizione a produrre anticorpi di tipo IgE non necessariamente per un solo antigene, ma anche verso più antigeni. Dal grafico inoltre si evince che la percentuale dei soggetti sensibilizzati risulta elevata già nei primi periodi di esposizione. Il 40% dei soggetti atopici si possono sensibilizzare addirittura in sei mesi e questo è un fattore che va tenuto in considerazione nel programmare la periodicità dei controlli. Gli studi riportano come i soggetti atopici sono 11 volte più a rischio di diventare sensibilizzati rispetto ai soggetti non atopici, quindi un rischio molto maggiore. È fondamentale evidenziare comunque che l'atopia non è un sufficiente fattore predittivo dello sviluppo del-

l'allergia da utilizzare nella fase pre-lavorativa. L'atopia deve essere considerata un importante fattore di rischio, il medico competente deve sapere se il soggetto è atopico, ma l'atopia in quanto tale non è sufficiente ad esempio per non dare un'idoneità. Il principale messaggio da trasmettere è che la persona atopica, anche per allergeni non presenti negli ambienti di lavoro, per esempio allergia a polvere di casa, deve sempre essere considerata maggiormente suscettibile, per cui deve essere soggetta a una più intensa sorveglianza sanitaria e ad una maggiore attuazione delle misure di prevenzione.

Per quanto concerne il fumo possiamo affermare che i soggetti fumatori non hanno un aumentato rischio di sviluppare la patologia. Tuttavia se questa compare, la probabilità che si manifesti nella forma grave come asma può essere persino tre volte maggiore rispetto ai non fumatori, in conseguenza di ciò un soggetto fumatore che comincia ad avere qualche sintomo rino-congiuntivale deve essere considerato maggiormente a rischio per lo sviluppo di asma.

In riferimento al rapporto fra l'esposizione e, chiamiamolo così, l'effetto sappiamo chiaramente che esiste una sorta di correlazione fra le ore di esposizione e la prevalenza di soggetti sensibilizzati, anche se leggendo attentamente in letteratura, per i soggetti atopici questa relazione dose-risposta è meno definita, quindi un soggetto atopico si può sensibilizzare anche per poche ore lavorative a settimana. È bene ricordare, inoltre, che se per la fase soprattutto di sensibilizzazione posso attendermi una certa relazione dose-effetto, quando la persona si è sensibilizzata tale relazione è persa e anche piccole esposizioni possono scatenare i sintomi. Come constatato precedentemente è nei primi anni che iniziano a comparire i sintomi.(Fig.10)

## Comparsa dei primi sintomi

Table 1. – Time-course of work-related symptoms and occupational diseases in apprentices exposed to laboratory animals

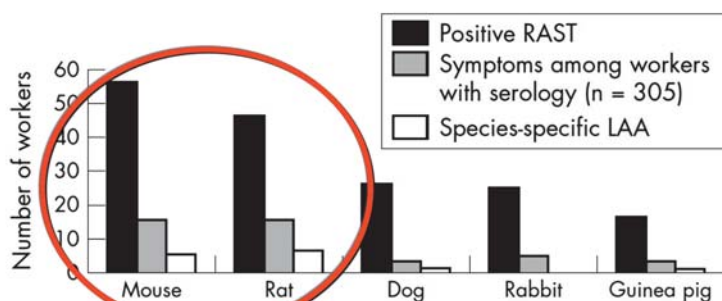
|                           | Years in the programme |           |           |         | Incidence-density* |
|---------------------------|------------------------|-----------|-----------|---------|--------------------|
|                           | 1                      | 2         | 3         | 4       |                    |
| Number present at visit   | 136                    | 345       | 355       | 98      |                    |
| Skin reactivity           |                        |           |           |         |                    |
| Programme-related antigen | 14 (10.3)              | 37 (10.7) | 29 (8.2)  | 5 (5.1) | 85/1075 (7.9)      |
| Mites                     | 4 (2.9)                | 14 (4.1)  | 14 (3.9)  | 1 (1.0) | 33/716 (4.6)       |
| Pets                      | 9 (6.6)                | 7 (2.0)   | 14 (3.9)  | 5 (5.1) | 35/926 (3.8)       |
| Pollens                   | 0 (0)                  | 8 (2.3)   | 8 (2.3)   | 1 (1.0) | 17/788 (2.2)       |
| Work-related symptoms     |                        |           |           |         |                    |
| Skin                      | 4 (2.9)                | 33 (9.6)  | 39 (11.0) | 5 (5.1) | 81/1051 (7.7)      |
| Rhinoconjunctivitis       | 17 (12.5)              | 48 (13.9) | 30 (8.5)  | 4 (4.1) | 99/961 (10.3)      |
| Respiratory               | 1 (0.7)                | 11 (3.2)  | 9 (2.5)   | 1 (1.0) | 22/1115 (2.0)      |
| Occupational              |                        |           |           |         |                    |
| Rhinoconjunctivitis       | 9 (6.6)                | 24 (7.0)  | 29 (8.2)  | 0 (0)   | 62/1096 (5.7)      |
| Asthma                    | 5 (3.7)                | 9 (2.6)   | 13 (3.7)  | 1 (1.0) | 28/1043 (2.7)      |

Data are presented as n (%) or incidence (%). Total number of participants=417 except for the assessment of occupational asthma (n=373) because 44 students refused the methacholine inhalation test. \*: number of cases/person-yr in the programme.

*Gaudrin. ERJ 2001*

La possibilità che un lavoratore sviluppi una sensibilizzazione ad antigeni animali e successiva malattia è massima entro i primi tre anni di lavoro, periodo durante il quale deve essere intensificata la sorveglianza sanitaria. Ancora, non significa che dal quarto anno non sia più a rischio, ma è notevolmente minore perché il sistema immunitario reagisce prontamente all'esposizione. Si può anche dire chiaramente che se non si è sensibilizzato nei primi tre anni, il rischio che abbia una sensibilizzazione futura è veramente molto basso. Un altro aspetto importante da osservare è che esiste anche una sorta di rischio legato al tipo di allergene. Gli animali maggiormente allergenici sono ratti e topolini, in particolare a contatto con queste specie animali, infatti, si ha il maggior rischio di essere sia sensibilizzati che di avere sintomi.(Fig.11)

## Rischio di LAA e tipo di allergene



**L'urina, soprattutto di ratti e topolini, e' una matrice ricca di allergeni, soprattutto nei maschi. I maschi sviluppano una cronica nefropatia causa la capacità delle proteine sieriche di legare sostanze tossiche.**

*Elliot OEM 2009*

Come già anticipato prima l'urina di questi animali è una matrice ricca di allergeni, specialmente nei maschi. Il potere antigenico delle femmine è, di fatto, nettamente differente rispetto ai maschi, visto che questi possono sviluppare una cronica nefropatia causa la capacità delle proteine sieriche di legare sostanze tossiche. A tal proposito si evince che una scelta di particolari animali da laboratorio potrebbe aiutare a ridurre l'incidenza di LAA, per esempio femmine di ratto invece di maschi, criceti invece di ratti, sono tutti approcci per ridurre il carico allergenico di questi animali.

### La sorveglianza sanitaria

La sorveglianza sanitaria può essere distinta in modo classico in un'attività preventiva o in un'attività periodica. Vediamo quindi che cosa è consigliato fare al medico competente sia in fase preventiva che in fase periodica. Nella visita preventiva ovviamente l'anamnesi, l'esame obiettivo, il Prick test, il test di funzionalità polmonare nonché una corretta informazione dei pazienti sui rischi e particolarmente su come riconoscere i segni precoci di malattia. È essenziale per una corretta prevenzione e sorveglianza sanitaria che i lavoratori siano informati sulle mansioni maggiormente a rischio, su come riconoscere i sintomi precoci e quindi su come chiedere eventuali visite straordinarie non appena i sintomi precoci compaiano. Dal punto di vista dell'anamnesi ed dell'esame obiettivo, il medico competente cercherà l'aumentata suscettibilità individuale, patologie allergiche, asma bronchiale e soprattutto utilizzerà uno specifico questionario per la valutazione dei sintomi. Le Linee guida SIMLII sui sensibilizzanti in allegato mettono a disposizione un validissimo questionario che può essere utilizzato come strumento per la sorveglianza sanitaria.

I Prick test sono estremamente utili, almeno quando il lavoratore viene visto per la prima volta. Ricordiamo brevemente che il Prick test è un test per rilevare proprio una ipersensibilità immediata di Tipo I: si inietta una piccola quantità di allergene e successivamente si viene a sviluppare un ponfo clinicamente manifesto. In genere il diametro del ponfo viene confrontato con un controllo positivo, l'istamina, e con un controllo negativo. Le attuali linee guida suggeriscono che in fase preventiva è necessario eseguire almeno una volta i Prick test per allergeni comuni, il medico competente deve sapere se la persona di fronte a lui è atopica oppure no. Nella stessa seduta è consigliabile

testare anche gli allergeni animali, almeno in persone che sono già esposte da qualche tempo. Conseguentemente al fatto che sono state riportate più di una reazione sistemica anche di tipo anafilattico a seguito dei Prick test, è fortemente controindicato eseguirlo in fabbrica. Nel caso in cui il Prick test è negativo, parliamo per il momento per allergeni comuni, essendoci pochissimi casi falsi negativi, ciò consente di definire la persona non atopica; nell'interpretazione della positività anche se, come abbiamo visto prima, l'atopia dimostrata con i test cutanei ha uno scarso potere predittivo per lo sviluppo di LAA, sono comunque molto utili per identificare il personale a maggior rischio. Bisogna ricordare che la diagnosi immuno-allergologica non si basa solo sull'utilizzo dei Prick test, ma anche sui cosiddetti Prick test, vale a dire il dosaggio delle IgE totali, a volte può capitare di avere livelli normali, ma ciò non esclude affatto la diagnosi di allergopatia. Non è possibile pertanto formulare una diagnosi patogenetica di sindrome allergica sulla base della sola determinazione delle IgE totali, anche perché le IgE totali mancano assolutamente di specificità.

Vi è anche una diagnosi immuno-allergologica eseguita con i cosiddetti RAST, *Radio Assay Sorbent Test*, questo è un dosaggio delle IgE specifiche che però attualmente viene considerato sia per motivi di specificità, di sensibilità, e di costo, un esame di secondo livello, da eseguire solo quando il Prick test è dubbio o addirittura non è eseguibile, ad esempio perché il soggetto ha una intensa dermatopatia tale da impedire l'esecuzione del Prick test.

In caso di riscontro di Prick test positivo nei confronti degli allergeni animali, senza tuttavia che vi sia un'evidenza clinica di malattiaci sono due possibilità: la prima, considero la persona non idonea; la seconda, considero la persona idonea ma applico idonee limitazioni e prescrizioni. La letteratura, inerente in maniera specifica alla sorveglianza sanitaria per questi lavoratori, ribadisce il modesto valore predittivo di un test positivo cutaneo ad antigeni animali per un successivo sviluppo di patologia, ne consegue che anche la positività specifica agli antigeni allergenici ha lo stesso comportamento di una generica atopia verso antigeni non da laboratorio. Alcuni Autori sostengono che se questi test fossero utilizzati per decidere l'assunzione o meno di una persona, si rischierebbe di identificare in maniera non corretta due o tre individui per uno solo che forse svilupperà il problema. Rappresenta indubbiamente un fattore di rischio, ma non di per sé sufficiente. Viene dunque indicata l'opportunità, quando esistono lavori alternativi, di indirizzare gli individui che hanno un'elevata probabilità di sviluppare l'allergia, in una posizione in cui l'esposizione o è minima o addirittura non c'è. Spesso nella sorveglianza sanitaria si esegue la spirometria, si valutano i valori funzionali come percentuale del predetto e ci si accontenta che i valori siano nella norma. Questi Autori hanno voluto vedere il declino annuale della funzione respiratoria in lavoratori addetti agli animali da laboratorio e hanno voluto rilevare quanto influente sia la sensibilizzazione e l'esposizione. È stato constatato che il declino annuale della funzione respiratoria nei soggetti sensibilizzati era di 83 ml all'anno, in genere un soggetto normale ha un declino fino a 50 ml all'anno. L'implicazione pratica che ne deriva è che la rimozione dall'esposizione dovrebbe essere considerata anche per quei soggetti sensibilizzati ma asintomatici. Anche perché in alcuni casi, rari ma verificatisi, dei soggetti in seguito ad una puntura durante la manipolazione di animali da laboratorio hanno avuto una grave reazione anafilattica. Il rischio quindi nel continuare ad esporre un soggetto sensibilizzato verso la sostanza verso la quale è allergico è molto elevato, perciò adeguate misure preventive, anche drastiche, andrebbero adottate. Gli accertamenti che il medico competente deve fare nella sorveglianza sanitaria sono i test di funzionalità polmonare: spirometria e test di reattività alla metacolina, raccomandati almeno una volta. Altri test che cercano l'infiammazione, ossido nitrico nell'aria espirata, conta di eosinofili su espettorato indotto, possono essere eseguiti in secondo livello.

Una spirometria è considerata normale se il flusso espiratorio nel primo secondo è maggiore di 80% del predetto, la capacità vitale forzata maggiore di 80% del predetto e il loro rapporto maggiore di 0.7.

I valori spirometrici ottenuti prima dell'esposizione lavorativa sono utilissimi per avere un valore basale da utilizzare per i controlli successivi, in cui posso vedere non solo se queste percentuali si

mantengono, ma se è presente un declino annuale della funzione respiratoria. Questo è talmente importante che è disponibile un programma su internet, messo a disposizione dalla Ausl di Parma, Servizio di Medicina Preventiva, in cui con un semplice programma di Excel il medico competente può vedere l'andamento annuale della funzione respiratoria come FEV1, per rilevare eventuali alterazioni precoci.

Il Test alla metacolina è un test molto importante per valutare l'iperattività bronchiale, durante il quale si fanno inalare dosi successive di metacolina che nel soggetto normale non comportano una grossa caduta della funzione respiratoria, mentre nel soggetto asmatico si avrà un forte calo della funzione respiratoria poiché è iper-reattivo a questa sostanza, spesso ciò è indicativo di asma. Nel 21% dei casi il test è positivo, in realtà però solo in circa il 12% è presente asma, quindi ci sono anche falsi negativi, e inoltre non esistono dati certi relativi al ruolo predittivo di questo test per sviluppare allergopatie, ovvero una persona può essere iper-reattiva alla metacolina ma stare bene tutta la vita. Le linee guida SIMLII affermano che la presenza di atopia e/o di iperattività bronchiale alla metacolina, non è di per sé un fattore sufficiente ad escludere il soggetto da lavorazioni a rischio allergologico respiratorio come questo, ma deve costituire un preciso stimolo ad una maggior prevenzione personale e ad una più frequente sorveglianza sanitaria. In base alla classificazione del rischio, si possono individuare quattro tipi di soggetti: il soggetto non atopico, rischio modesto; il soggetto atopico, rischio importante; del soggetto sensibilizzato, rischio maggiore, abbiamo già parlato, affronteremo anche brevemente come fare nel caso di soggetto asmatico. Nella pratica il medico competente deve considerare a rischio elevato il soggetto atopico, quindi deve informarlo sui rischi specifici e studiare per lui, quando possibile, specifiche procedure, specifiche attività lavorative; collocarlo in mansioni a basso rischio, vedremo poi quali sono, intensificare l'utilizzo di dispositivi di protezione individuale, intensificare la sorveglianza sanitaria. Almeno nei primi tre anni, periodo maggiormente a rischio, eseguire la valutazione due volte all'anno invece della classica valutazione annuale, e soprattutto approfondire in questi pazienti i test diagnostici, spirometria e test alla metacolina. L'atteggiamento da seguire invece nei confronti di un soggetto con asma in fase preventiva è quello di non concedere l'idoneità qualora nella storia anamnestica emerge una precedente diagnosi di asma o anche di rinite indotta dall'agente sensibilizzante in questione, spesso sono lavoratori che hanno già lavorato in altri stabulari. In presenza di un caso di asma extra-professionale è utile valutare lo stato della malattia, intensificare i controlli, adibire il soggetto a mansioni a basso rischio con protezione individuale. Gli accertamenti periodici annuali devono prevedere: il questionario sempre e per tutti, test immunologici, almeno nei soggetti a rischio si consiglia di farli nei primi tre anni, spirometria. In caso di sospetto clinico poi il medico competente potrà valutare test di secondo livello, arresto-ripresa, picco di flusso espiratorio, reattività bronchiale inizio e fine turno, e soprattutto indicatori di flogosi polmonare. Ricordare che la sintomatologia asmatica si manifesta sempre in maniera non esattamente chiara, il paziente può avere una dispnea ogni tanto, una dispnea variabile, un respiro sibilante, tosse in genere secca con scarso espettorato e sensazione di costrizione toracica, sintomo frequentemente riferito dai pazienti. Al fine di rilevare un'asma, in questo caso occupazionale, non è sufficiente chiedere al soggetto se la sua asma peggiora a lavoro ma forse è più efficiente domandare se il respiro migliora durante i fine settimana o durante le vacanze. Questo è un pratico suggerimento molto importante. La ragione per cui è così importante rilevare precocemente i sintomi asmatici è che se viene mantenuta l'esposizione all'agente causale peggiora la prognosi e, ancora, l'asma si può poi auto-mantenere, indipendentemente dall'esposizione. Ricordare ancora che quando nella sorveglianza sanitaria periodica eseguo la spirometria, valutare non solo i valori funzionali come percentuale di predetto, ma soprattutto il declino annuale del FEV1. Circa 50 ml all'anno nel soggetto non fumatore, fino a 80 ml nel soggetto fumatore. Questo è importante perché è il segno precoce che qualcosa non va, più che una semplice valutazione del predetto. Il predetto mi dice se il soggetto è ammalato o è sano, ma la medicina del lavoro non deve rilevare la malattia, deve rilevare i segni precoci che poi possono portare a malattia.

## Il controllo dell'esposizione

Abbiamo visto una sorta di sorveglianza sanitaria, sappiamo che l'altro aspetto della medicina del lavoro è il monitoraggio biologico e qui le linee guida SIMLII sono state molto categoriche su questo aspetto: non esistono dati confrontabili fra diversi laboratori, non sono possibili controlli di qualità, le evidenze epidemiologiche su cui si basano i limiti si riferiscono alla capacità di scatenare i sintomi, ma non abbiamo dati sulla induzione della sensibilizzazione che precede i sintomi. Ci sono limitati studi sulla dose minima efficace, e la relazione fra i dati ambientali e la effettiva esposizione dell'individuo è debole, anche perché differenti e vari sono i fattori che possono influenzare il livello di esposizione. Vediamone alcuni: il tipo di gabbia ovviamente, aperta, chiusa/ ventilata; il livello di ventilazione e soprattutto l'umidità, è ormai chiaro che un ambiente secco favorisce la liberazione di queste particelle e quindi possono essere inalate, un ambiente umido invece abbassa il carico di particelle; il tipo di substrato per le deiezioni, i tutoli di mais sembrano essere forse i migliori come capacità di abbattere il carico antigenico; le modalità di operare del lavoratore, se lavoro su un animale sveglio ho maggior rischio di essere esposto ad allergeni rispetto a quello anestetizzato o morto; e ancora, il tipo di operazione, alcune operazioni - ad esempio la rasatura - sembrano essere a rischio maggiore, ecco perché si consiglia fortemente di eseguirle sotto cappa aspirante. Ci sono poi ancora misure tecniche per il controllo dell'esposizione, come la ventilazione che deve essere molto elevata, così come l'umidità, e anche i tipi di gabbie, con filtro o a pressione negativa, queste sono tutte procedure che abbattano il più possibile il carico antigenico aero-disperso. Per quel che riguarda le misure organizzative ridurre il numero di animali, fare una rigorosa separazione dei locali-stabulario dagli altri locali dell'edificio, eseguire la manipolazione degli animali sotto cappa aspirata e svuotamento delle gabbie con aspiratori. Ovviamente, sempre nelle misure preventive, uso di adeguati dispositivi di protezione individuale, dai guanti alle tute, i calzari, le maschere facciali, le visiere e gli occhiali. Ove possibile utilizzare due armadietti per evitare i contatti fra vestiti, ridurre al minimo i soggetti esposti ed identificarli correttamente, ma ciò che è più importante è una corretta informazione e formazione degli addetti sui rischi, sulle mansioni e sui segni clinici precoci da rilevare al medico competente. In letteratura vengono elencate quelle che sono le mansioni a rischio maggiore o a rischio minore, sono facilmente disponibili, chiaramente nel lavoro su un tessuto morto o su un animale morto o anestetizzato il rischio espositivo è piuttosto basso; in altre mansioni lavorative come svuotare la lettiera, rasare l'animale o altre procedure invasive, il rischio è molto maggiore.

Infine, un nuovo ulteriore strumento a disposizione del medico competente è la misura dell'infiammazione bronchiale. Oggi abbiamo la possibilità di utilizzare un indicatore biologico che quindi è un *biomarker* di effetto che può essere utilizzato in medicina del lavoro. È un indicatore di infiammazione bronchiale, si può misurare facilmente nell'aria espirata, un soggetto normale ha un valore di NO attorno all'8-10, un soggetto asmatico ha fino a dieci volte un valore di NO rispetto al soggetto di controllo. La manovra è molto semplice, il soggetto espira dentro uno strumento, l'espirazione deve essere eseguita a flusso costante per circa 10 secondi, è l'unica collaborazione che viene richiesta, e poi il dato viene graficato online su un computer. Tale misura è utile perché alcuni Autori hanno dimostrato la possibilità di seguire nel tempo un soggetto in cui si sospetta un'allergia da animali da laboratorio. Quindi si può eseguire un test arresto-ripresa, non solo tramite la spirometria, ma anche monitorando l'infiammazione.

In conclusione, l'allergia da animali da laboratorio è una condizione clinica frequente, tuttavia una corretta identificazione dei soggetti a rischio e soprattutto un precoce riscontro dei sintomi previene lo sviluppo di malattia. Di fondamentale rilevanza infine è il fatto che appropriate misure sia preventive che organizzative sono necessarie per ridurre l'esposizione a livelli minimi.

# Biotecnologie, Biosicurezza, Allergeni e Normativa: l'attività dell'ISPESL

Biancamaria Pietrangeli - Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza sul Lavoro (ISPESL), Roma

## Introduzione

Relativamente al settore biotecnologico il Dipartimento Installazioni di Produzione e Insediamenti Antropici (DIPIA) dell'Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza sul Lavoro (ISPESL) svolge attività di studio, ricerca, consulenza alle imprese, proposta normativa, standardizzazione di metodiche e procedure di valutazione dei rischi biologici ai fini della sicurezza e della compatibilità ambientale degli impianti e dei laboratori biotecnologici.

I rischi biologici nel settore non sono solo occupazionali ma anche ambientali, derivanti dalla emissione deliberata nell'ambiente di microrganismi, come nel caso del rilascio deliberato nell'ambiente di organismi geneticamente modificati (OGM), o derivanti da rilasci involontari in seguito ad incidenti. Un esempio a riguardo è l'incidente occorso nel 2007 nel Surrey in Scozia, che ha provocato un'epidemia di "Foot and Mouth" negli allevamenti animali della zona proprio a causa di una serie di eventi casuali riconducibili al rilascio accidentale del microrganismo dall'impianto industriale che aveva avviato la produzione del vaccino specifico (<http://www.hse.gov.uk/news/archive/07aug/footandmouth.htm>).

L'attività di ricerca del DIPIA nel settore biotecnologico è finalizzata alla messa a punto di metodi di monitoraggio biologico ambientale per valutare l'efficacia delle misure di contenimento negli impianti industriali e nei laboratori di ricerca. Tale monitoraggio può essere infatti considerato un metodo di autocontrollo per localizzare nel flusso del ciclo lavorativo i punti o le operazioni in cui può determinarsi, anche solo a seguito di eventi eccezionali, l'esposizione dei lavoratori o dell'ambiente a possibili pericoli biologici. Indagini di monitoraggio effettuate sistematicamente permettono di valutare l'effettiva frequenza con cui si può verificare una contaminazione ambientale dagli agenti biologici di lavorazione. Una volta definite le misure di contenimento, di severità proporzionata alla pericolosità dei microrganismi trattati ed al rischio di contaminazione presente, il monitoraggio costituisce il sistema di verifica dell'efficacia di tali misure.

Oltre a tale attività di ricerca, il DIPIA svolge attività di consulenza e proposta normativa all'interno di gruppi tecnici nazionali e comunitari operanti in campo biotecnologico e attività di formazione nell'ambito dei corsi di laurea di Biotecnologie e dei corsi di laurea per Tecnici della Prevenzione della I Facoltà di Medicina dell'Università di Roma "La Sapienza". Esperti ISPESL partecipano alle Commissioni Interministeriali di Valutazione per le Biotecnologie presso le Autorità competenti, Ministero della Salute per gli aspetti di sicurezza connessi con l'impiego confinato di Microrganismi Geneticamente Modificati (MOGM) e Ministero dell'Ambiente per quanto riguarda i rischi connessi con rilascio deliberato nell'ambiente di Organismi Geneticamente Modificati (OGM).

Il settore biotecnologico in Italia vede presenti circa 260 imprese, con attività prevalente nel settore della cura della salute, con un numero di lavoratori pari a circa 41 mila, di cui 8.500 impegnati nelle attività di ricerca e sviluppo (Tabella. 1).

### Sviluppo dell'industria nel settore Biotec in Italia

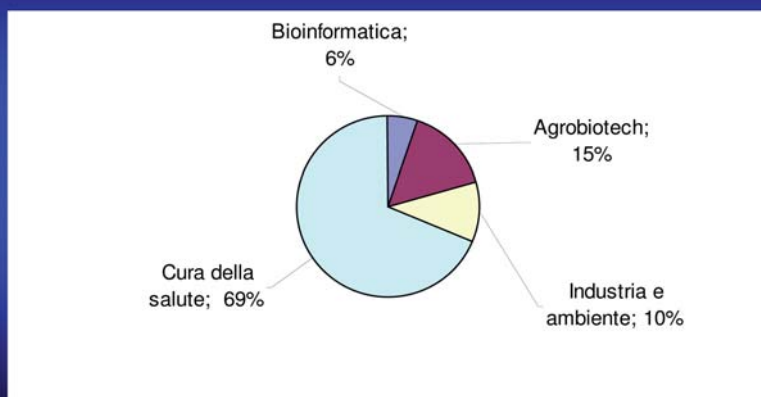
|                               |  |  | Italia           |
|-------------------------------|--|--|------------------|
| Numero totale di imprese      |  |  | 260              |
| Aziende cura della salute     |  |  | 190              |
| Aziende start-up              |  |  | 147              |
| Dipendenti (R&D)              |  |  | 41.000<br>(8500) |
| Entrate (Miliardi di €)       |  |  | 5.4              |
| Spesa per R&D (Miliardi di €) |  |  | 1.5              |

Fonte: Assobiotech, 2009

Anche se finora i metodi biotecnologici hanno dato il contributo maggiore nel settore chimico-farmaceutico (Red Biotechnology), nel prossimo futuro i settori in cui tali metodi sembrano essere più promettenti sono quelli dell'ambiente e dell'energia (White Biotechnology).

I rischi biologici occupazionali ed ambientali sono differenziati a seconda dei settori di attività specifici, che vanno dalle applicazioni nel settore della cura della salute, a quello agro-zootecnico e ambientale (Grafico 1).

### Imprese biotec per settore in Italia



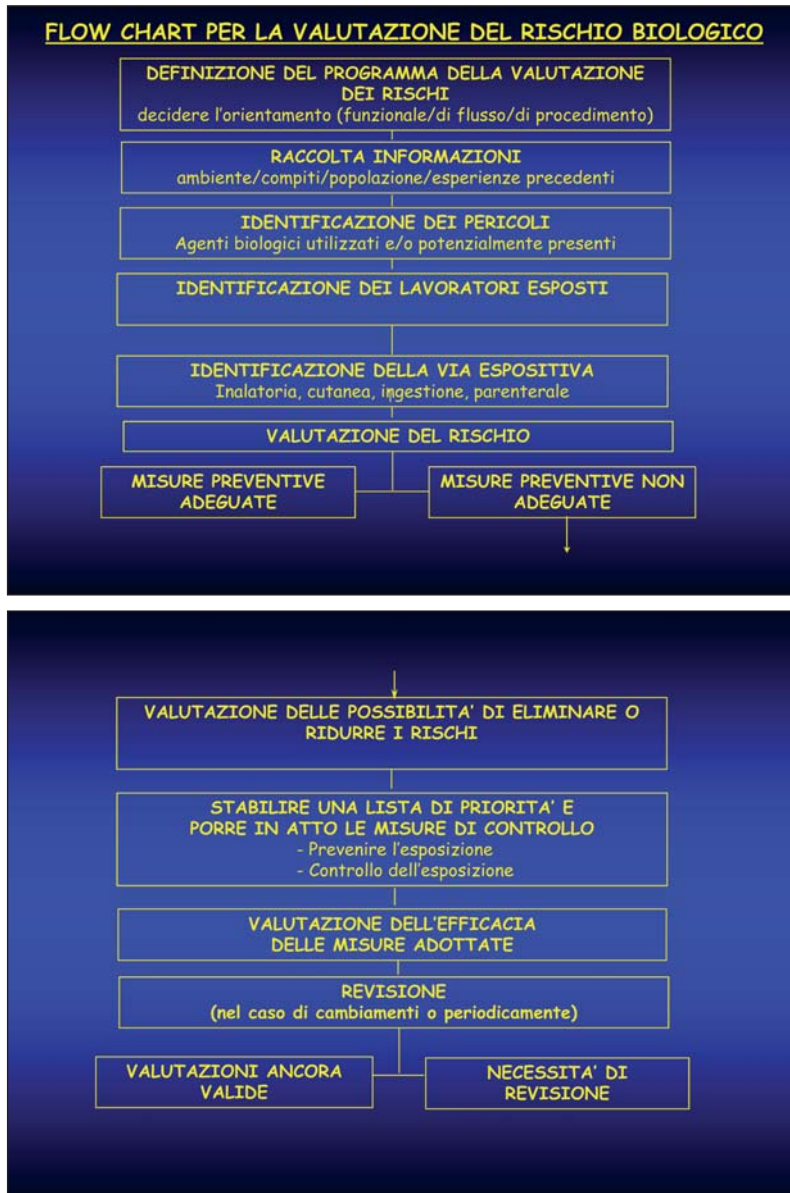
Fonte: Blossom Associati, 2008

### **Rischi biologici occupazionali nel settore biotecnologico**

Per valutare i rischi biologici occupazionali per i lavoratori del settore biotec è necessario integrare i disposti del Titolo X del Decreto legislativo 81 del 09/04/2008 e successive modifiche ed integrazioni apportate dal DLgs. 106/2009, con quelli del Decreto legislativo 206 del 12 aprile 2001 concernente l'impiego confinato di MOGM. Tali rischi sono connessi all'uso deliberato di agenti biologici, cioè quando tali agenti vengono deliberatamente introdotti nel ciclo lavorativo, o deri-

vano da una esposizione involontaria agli agenti biologici e possono essere di natura infettiva, allergica e/o tossica, riconducibili alla esposizione ai microrganismi stessi o ai loro prodotti (tossine, endotossine, enzimi, polveri organiche, ecc.). Nel settore biotecnologico è possibile inoltre identificare rischi connessi con eventuali effetti delle sostanze prodotte, quando queste sono molecole biologicamente attive, dotate di attività farmacologica, antigenica, immunogenica (citochine, interferoni, modulatori di crescita, ecc.).

Primo fra tutti gli obblighi e la base per ogni efficace azione preventiva è la valutazione del rischio biologico, i cui step sono schematizzati nella seguente flow-chart.



### Difficoltà nella valutazione del rischio biologico occupazionale

Se la identificazione dei pericoli biologici può essere effettuata valutando la presenza di agenti biologici nell'ambiente di lavoro, mediante specifici protocolli di monitoraggio, la valutazione del rischio è più complessa per la necessità di valutare adeguatamente l'entità dell'esposizione in termini di frequenza attesa delle diverse manifestazioni patologiche, siano esse di natura infettiva che

allergica o tossica. Quindi deve necessariamente essere considerata la casistica epidemiologica in condizioni di esposizione analoghe e devono essere avviate indagini ad hoc sui lavoratori esposti per comparto d'interesse.

I dati sulle patologie a carico dei lavoratori del settore sono estremamente limitati a causa di una non sistematica registrazione che possa monitorare il numero dei lavoratori e le più ricorrenti manifestazioni patologiche, così come incomplete sono le statistiche delle denunce obbligatorie di malattie riconducibili ad agenti biologici, che spesso non vengono denunciate o che, quando lo sono, non permettono di calcolare gli specifici tassi di incidenza e prevalenza. I recenti Decreti ministeriali (Decreti del Ministero del Lavoro 27 aprile 2004 e 9 aprile 2008, con finalità diverse (rispettivamente statistico-epidemiologica e assicurativa) hanno aggiornato, l'elenco delle malattie professionali riconducibili ad agenti biologici a denuncia obbligatoria, che, se correttamente utilizzato, permetterà di non disperdere dati utili. Ad esempio nel sistema di rilevazione istituito per la malattia dell'apparato respiratorio, che sappiamo essere uno attualmente dei maggiori problemi in igiene industriale, sono stati opportunamente inseriti agenti biologici di origine vegetale, di origine animale, e microbica. Inoltre il DM 9 aprile 2008 aggiorna le tabelle delle malattie professionali che consentono il riconoscimento automatico dell'origine professionale della patologia.

A tutt'oggi, il procedimento di valutazione del rischio biologico è seriamente compromesso dal fatto che non esistono metodi comunemente accettati per la valutazione dell'esposizione ad agenti biologici, né tanto meno, relazioni dose-effetto e valori limite espositivi (OELs) per la maggior parte degli agenti biologici di interesse occupazionale. È necessario inoltre considerare che il rischio biologico occupazionale non è solo quello infettivo, ma spesso quello allergico, tossico e cancerogeno, derivante, spesso, non da un uso intenzionale di agenti biologici, ma da un'esposizione potenziale agli stessi. Sindromi irritative delle mucose e delle prime vie respiratorie sono state associate ad esposizioni lavorative a muffe, funghi, endotossine batteriche. In molti settori lavorativi biotecnologici i rischi di natura allergica e tossica sono associati all'esposizione a bioaerosol; tuttavia, sebbene il ruolo causale di tale esposizione nello sviluppo di alcune patologie (affezioni polmonari, problemi gastrointestinali, reazioni allergiche a carico della pelle, degli occhi e delle prime vie aeree) sia spesso chiaro, le informazioni sulle relazioni dose-effetto risultano limitate. I bioaerosol sono infatti molto complessi, potendo contenere microrganismi vitali e non, così come vari componenti biologicamente attivi, tra cui le endotossine da batteri Gram-negativi, gli 1-3 beta-D-glucani, provenienti dalla parete cellulare di muffe e lieviti, tossine fungine o batteriche, attinomiceti e sostanze ad attività antigenica di origine animale o vegetale (Tabella 2).

### Necessità di implementare le informazioni: il RB non è solo quello infettivo

Table 1. Non-infectious respiratory diseases, potential causal agents and work environments with known or suspected increased risks

| Respiratory diseases                                                                                                                                              | Agents                                                                                                                                                                          | Environments                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Non-allergic</i>                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Non-allergic asthma, non-allergic rhinitis/mucous membrane irritations (MMI), chronic bronchitis, chronic airflow obstruction, organic dust toxic syndrome (ODTS) | Fungi, bacteria, actinomycetes, endotoxin, $\beta(1,3)$ -glucans, peptidoglycans, mycotoxins, and probably many other currently unidentified plant and antimicrobial components | Agriculture and related industries, sewage/manure treatment/handling, food and animal feed industry, vegetable and animal fibre processing, wood industry, paper production, fermentation industry, slaughterhouses, metal machining industries (contaminated metal fluids), garbage collection and composting, buildings with contaminated ventilation/humidifying systems |
| <i>Allergic</i>                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Allergic asthma, allergic rhinitis, hypersensitivity pneumonitis (HP)/extrinsic allergic alveolitis (EEA)/farmer's lung                                           | Fungi, microbial enzymes, plant proteins (soy, wheat, pollen, latex, etc.), mammalian proteins (rat, mouse, cow, etc.), invertebrate proteins (moths, locusts, spiders, etc.)   | Compost facilities, agriculture and related industries, biotechnology industry and enzyme producers, food and animal feed industry, detergent industry, bakery industry, medical and public health sector (latex), veterinarians, pet shop keepers, laboratory animal facilities, biopesticide industry (invertebrates)                                                     |

Fonte: Bouwes J. et al., 2003)

Non esiste una normativa di riferimento che fornisca indicazioni in merito all'esposizione al bioaerosol, da riconoscere almeno come concausa nelle sindromi respiratorie irritativo-allergiche dei lavoratori, proprio a causa della molteplicità dei contaminanti microbiologici potenzialmente presenti. Per molti aeroallergeni non esistono metodi standardizzati di campionamento ed analisi ed ancora scarsi sono gli studi epidemiologici e di sorveglianza dei lavoratori a livello nazionale. È necessario quindi stimolare la pianificazione di tali studi, con la messa a punto di protocolli diagnostici mirati all'esposizione, che prevedano la collaborazione fra i responsabili della sicurezza, i medici del lavoro e specialisti del settore.

A fini preventivi, nella fase di valutazione del rischio, è possibile procedere monitorando i punti o le fasi nel ciclo lavorativo in cui si può determinare l'esposizione e procedere alla definizione delle misure di contenimento, sia tecniche che procedurali, che ci permettano di mantenere a livello più basso tecnicamente realizzabile l'esposizione. È fondamentale stabilire a priori la gestione dei risultati del monitoraggio ambientale, individuando le variabili microbiologiche ed i metodi di campionamento più appropriati in base all'obiettivo che ci si prefigge.

Nelle lavorazioni comportanti utilizzo di MOGM, per esempio, è necessario applicare tecniche di monitoraggio altamente sensibili e specifiche che permettano il riconoscimento del MOGM dagli altri microrganismi, come ad esempio sonde geniche specifiche per i MOGM di interesse.

Considerato che, anche in presenza delle più sofisticate misure di contenimento adottate, una prassi disattenta di laboratorio, un uso errato di apparecchiature, sono fra le cause principali degli incidenti, è necessario definire dei monitoraggio biologici specifici per le diverse tipologie di esposizione che ci consentano di definire i livelli prima che si manifestino eventuali effetti avversi sulla salute.

Risulta di estrema importanza l'istituzione del sistema di registrazione degli esposti e degli eventi accidentali. Senza il riconoscimento dell'evento non possono essere attuate le necessarie misure di profilassi. Inoltre tale registrazione, oltre agli studi statistici sull'andamento del fenomeno necessari per una migliore programmazione degli interventi di prevenzione, consente un più facile riconoscimento del nesso di causalità e quindi il riconoscimento, anche ai fini assicurativi, della malattia professionale.

### **Attività dell'ISPESL nel settore degli allergeni occupazionali**

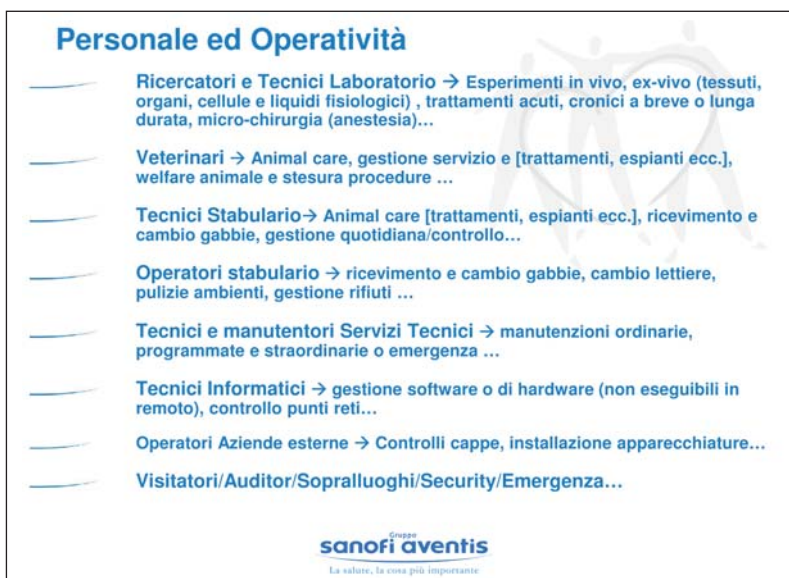
Diversi funghi (muffe, lieviti) possono essere presenti in vari ambienti di lavoro ed essere causa di un'ampia gamma di disturbi respiratori tra cui allergie ed irritazioni. In effetti, numerose proteine di origine fungina sono state identificate come importanti allergeni. L'attività di ricerca del DIPIA dell'ISPESL è finalizzata all'utilizzo dell'approccio molecolare e filogenetico per la caratterizzazione dei ceppi fungini di interesse occupazionale. Inoltre un altro importante obiettivo è quello di analizzare le sequenze aminoacidi che dei principali allergeni fungini per caratterizzarne struttura e funzione. Le analisi molecolari sono basate sulla tecnica dell'amplificazione genica mediante Polymerase Chain Reaction (PCR) e sul successivo sequenziamento del DNA di geni nucleari e mitocondriali di funghi isolati da bioaerosol di ambienti indoor e outdoor. Inoltre, il sequenziamento del DNA e l'analisi degli amminoacidi dedotti sono utilizzati per studiare determinati geni codificanti proteine potenzialmente coinvolte in reazioni allergiche.

L'attività di ricerca del Dipartimento di Igiene del lavoro dell'ISPESL è finalizzata alla valutazione quali-quantitativa dei principali allergeni degli acari della polvere e di alcune muffe in ambienti lavorativi indoor (Der p1, Der f1, Alt a1, Asp f1). Infine, il Dipartimento di Medicina del Lavoro ha avviato lo studio delle linee guida esistenti relativamente all'iter valutativo di patologie respiratorie con metodiche tradizionali, come l'esame spirometrico, e metodiche più recenti, come la ricerca di markers infiammatori.

# Animal Care Unit, problematiche di sicurezza e fattori di rischio di cui tenere conto

Marco Landi - Sanofi Aventis, Milano

In un'industria farmaceutica, in un centro di ricerche, chi vi lavora è esposto a molti rischi, e le allergie si inseriscono appunto tra questi. In questa presentazione si cercherà di avere un approccio globale su quella che è la problematica in esame. Parliamo principalmente di allergie di tipo 1, chiaramente ci sono dei rischi diversi a seconda delle persone, il rischio è infatti più alto nei gruppi sintomatici o atopici. Va sottolineato che in realtà tale problematica non è nuova, già nel 1975 c'erano gruppi che ci lavoravano sopra, quindi se ancora se ne parla, vuol dire che forse non è stata sufficientemente sviluppata. È noto che la questione riguarda specialmente alcuni animali, nello specifico le urine ed i peli di ratti e topi e per lo più dei maschi. Ma non solo, ci sono dei lavori interessanti che dimostrano che strain di animali hanno più o meno allergeni, utilizzare un ratto wistar o un ratto di un altro strain è diverso nel comportamento degli allergeni. L'altra cosa che si può evidenziare tra diversi animali, è che ci sono reazioni crociate conosciute tra ratti e topi e non l'inverso, per cui molti di questi fattori possono essere accresciuti quanto si entra a lavorare in uno stabulario di un centro di ricerca. I principi della prevenzione in questa prospettiva sono: analizzare il rischio, limitare il numero delle persone esposte, impedire la dispersione degli allergeni mediante l'utilizzo di dispositivi di protezione collettiva ed individuale, organizzare il lavoro, formare il personale ed assicurare un protocollo sanitario. Riconosciuto che il fattore di rischio più importante è l'esposizione, tre sono cose sulle quali bisogna incidere per gestirlo: frequenza, durata e quantità di allergene che può essere presente. Se si osservano le persone coinvolte nel nostro ambito ( Fig. 1).



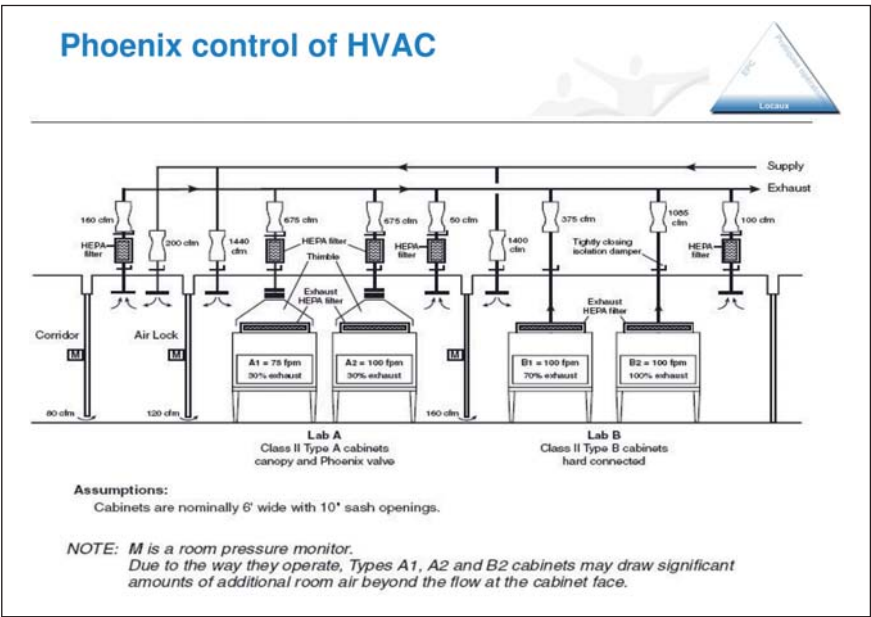
Si evince che molti soggetti possono essere esposti al rischio di allergia. Infatti numerose sono le attività considerate a bassa, media o alta frequenza di possibile contaminazione o possibili contatti per poter sviluppare una esposizione diretta o indiretta, a seconda appunto delle persone che sono presenti e che frequentano i laboratori. Per impedire la dispersione degli allergeni da un punto di vista preventivo gli interventi devono riguardare i locali, i dispositivi di protezione collettiva, le pratiche ed il comportamento.

Per quanto riguarda i locali una delle cose fondamentali da cui partire è verificare quali sono i flussi, perché dai flussi si riesce a capire dove vanno le cose, le persone e come ci si muove all'interno dell'unità. L'altra è il contenimento verso l'esterno. Queste unità devono essere isolate, noi per isolarle abbiamo messo delle docce d'aria, sono delle docce che impediscono agli allergeni di uscire, perché vengono catturati con dei filtri hepa, fatte sia all'ingresso sia all'uscita, sono uno dei mezzi che permette di creare una barriera tra l'interno e l'esterno dei nostri stabulari. Diverse le soluzioni che si possono attuare nelle zone o laboratori dove si trovano gli animali: il numero di ricambi d'aria/ora, l'umidità, la direzione dell'aria dall'alto verso il basso ecc. In alcuni stabulari ad esempio l'aria scende dalla parte centrale e viene ripresa lateralmente in modo da creare un flusso nella parte dove stanno gli animali, i castelli e le gabbie, così che gli allergeni non vengano a occupare la parte dove di solito stanno le persone, che è quella centrale. Altre possibilità, come abbiamo detto, il tasso di umidità. Questa è un'altra questione da affrontare: scegliere se i laboratori devono essere in pressione o in depressione. Un veterinario o magari anche un ricercatore molto attento vorrà che le gabbie stiano in pressione, per evitare che si ammalino gli animali. Questo però comporta di fatto la dispersione degli allergeni in tutti i luoghi. Da un punto di vista della sicurezza quindi i luoghi dove stanno gli animali devono essere in depressione per evitare che gli allergeni possano andare in giro per il resto dei corridoi eccetera. L'opzione che abbiamo stabilito nel caso in cui i ricercatori devono mettere qualcosa in pressione, è di farlo attraverso degli IVC, cioè degli armadi ventilati.

Nei nostri laboratori ad esempio, l'aria esce da un canale che è un flusso laminare, mentre la parete dove vengono alloggiati i castelli, aspira gli allergeni. Dietro questa vi sono dei filtri, che possono essere cambiati, sostituiti in maniera più o meno frequente, e che impediscono ad esempio che le polveri possano intasare e diminuire questa aspirazione. Abbiamo fatto in modo di dividere il luogo dove stanno gli animali da quello occupato dal ricercatore, con le macchine o le apparecchiature che dovrà adoperare, per fare in modo che si possa giocare sul discorso di prima delle pressioni e depressioni.

Per fare tutto ciò chiaramente ci vogliono delle strutture complesse, perché non è facile farlo dove questo non ci sono.

Il nostro sistema di controllo si chiama Phoenix, è un'azienda americana, ce ne sono altre, c'è Trox, TSI, è un sistema che gestisce tutto, quanta aria entra, quanta ne esce, il funzionamento delle cappe e via dicendo. (Fig.2)



Questo ad esempio è fatto per gli stabulari, possono essere gestiti anche gli IVC, una serie di andamenti tra gli airlock, i corridoi eccetera. Questo è il sistema che permette, stanza per stanza di verificare una serie di variabili visualizzabili su un display, tra cui la quantità di aria che entra ed esce, qual è l'umidità, la temperatura che eventualmente si può cambiare. (Fig.3)

LASW



sanofi aventis

La salute, la cosa più importante

**LDU Variables**

Any variable on the Celeris room-level network may be displayed on the LDU. The most common are:

- Space temperature and temperature set point(s)
- Space humidity and humidity set point
- Space offset, offset state and offset set point
- Effective occupancy mode and occupancy state set point
- Air changes per hour
- Total zone supply and exhaust flows
- Effective emergency mode and emergency mode set point

Other variables that may be displayed include:

- Individual valve flow and flow set point (read-only)
- Fume hood data – user status, face velocity, and sash position
- Room-level or device alarm status
- Non-networked devices connected to the Celeris system and scaled for control or monitoring purposes

Veniamo ora ad una delle problematiche più rilevanti: la valutazione quantitativa degli allergeni. (Fig.4)

Valutazioni quantitative allergeni e contenimento DPC



The protection factor (PF) is evaluated from the formula:  

$$PF = (62 \times 10^5) \div n$$

If there are more than 62 spots on ANY ONE filter membrane then the test has failed and the protection factor is less than  $10^5$ .

The convention is that membranes from all sampling heads must EACH have fewer than 62 dots for the cabinet to pass the test

©Professor R. P. Clark & M. L. de Calcinà-Goff

sanofi aventis

La salute, la cosa più importante




Another easy and safe test was needed and KI-DISCUS was developed

Questo è il protocollo del centro di medicina occupazionale inglese, che è l'unico per fare l'analisi e il monitoraggio degli allergeni. In Italia non c'è più nessuno che lo fa con il risultato che per poter fare delle analisi degli allergeni, bisogna andare all'estero.

Fondamentale, inoltre, fare i controlli sulle cappe, per verificare il contenimento. Molti pochi sanno che anche le cappe a flusso laminare devono fare un contenimento, lo si può fare con un lunghissimo test microbiologico che dura giornate e giornate e che impedisce poi dopo di lavorare per 15 giorni, ma esiste un test, che è quello allo ioduro di potassio, che è accettato dalla normativa tecnica di riferimento e che fortunatamente questo invece in Italia viene fatto. Nella fattispecie la Steril, che è la produttrice di un tipo di cappe, si è equipaggiata per poterlo fare.

Altre cose che possono essere fatte da questo punto di vista per fare in modo che gli allergeni non si disperdano riguardano gli alloggiamenti degli animali: gabbie, a coperchio filtrante o con filtro HEPA, armadi ventilati, che possono essere messi in pressione positiva o in pressione negativa. Per la pulizia delle gabbie, ci sono dei sistemi più o meno complessi, di vario tipo, a seconda della complessità o della grandezza degli ambienti. (Fig.5)



Una soluzione molto semplice, adottata in un nostro sito per lo svuotamento di gabbie, è stata quella di inserire degli ugelli che spruzzano in maniera pulviscolare l’acqua, in questo modo si sono abbattuti di quasi il 95% tutti gli allergeni con una spesa di 300 euro.(Fig.5)

Per autopsie o utilizzo di animali in anestesia ci sono dei piani di lavoro aspirati anche mobili che possono essere utilizzati, con aspirazione orizzontale, verticale eccetera. Per trasferire gli animali, e non inquinare i corridoi, ci sono degli armadi ventilati che sono mobili ed è possibile trasportarli avanti e indietro nei vari corridoi. Si può lavorare molto anche sulle lettiere in questo test che è stato fatto, come si può vedere, si può diminuire di quasi 100 volte il tasso di allergeni cambiando la lettiera. (Fig.6)

Importanza delle Lettiere

MUP Release from Bedding

| Bedding        | MUP Specific ELISA OD* |
|----------------|------------------------|
| Shredded Aspen | 0.019                  |
| Isopad         | 0.059                  |
| Aspen SaniChip | 0.185                  |
| Diamond Soft   | 0.270                  |
| Tek Fresh      | 0.464                  |
| Omega-dri      | 0.778                  |
| Soft Cob       | 1.081                  |
| Corn Cob       | 1.353                  |
| Pellet Paper   | 1.469                  |

\* The higher the OD value, the more MUP that was released from the bedding. OD value for clean bedding (each individual type of bedding) was subtracted from the OD value for dirty bedding.

B. Langer Baylor College of Medicine - Texas Medical Center

Per quanto concerne la prevenzione nell'ambito delle pratiche e del comportamento ci sono tante regole, su cui però non mi soffermo.



In riferimento alla sorveglianza sanitaria, con il medico competente, ho messo a punto un questionario, reperito in letteratura ed adattato alle nostre esigenze, che viene fatto a tutte le persone e ciclicamente a ogni visita.

## QUESTIONARIO INDIVIDUALE PER ESPOSTI AD ANIMALI DI LABORATORIO

### Sanofi-aventis S.p.A. Confidenziale PER USO ESCLUSIVO DEL SERVIZIO MEDICO AZIENDALE

Questo form è stato compilato : ☐ Assunzione ☐ Follow-up annuale

#### INFORMAZIONI GENERALI

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

N° Identificativo aziendale: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ Altro: \_\_\_\_\_

Data di Nascita \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Sesso: ☐ M ☐ F

Rispondete alle domande riguardanti il lavoro che state per intraprendere o che eseguite in azienda durante il lavoro:

Dipartimento: \_\_\_\_\_ Laboratorio: \_\_\_\_\_

Posto di Lavoro (Piano; stanze): \_\_\_\_\_

Numero/i di Telefono aziendale: \_\_\_\_\_

Figura professionale: \_\_\_\_\_ Data di entrata in azienda: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### Status:

- |                                     |                                      |                                   |
|-------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| <input type="checkbox"/> CDI        | <input type="checkbox"/> Co Co Pro   | <input type="checkbox"/> Studente |
| <input type="checkbox"/> CDD        | <input type="checkbox"/> Stagista    | <input type="checkbox"/> Post-Doc |
| <input type="checkbox"/> Interinale | <input type="checkbox"/> Altro _____ |                                   |

#### Occupazione:

- |                                      |                                              |                                                 |
|--------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Studente    | <input type="checkbox"/> Tecnico Animal Care | <input type="checkbox"/> Tecnico di Laboratorio |
| <input type="checkbox"/> Ricercatore | <input type="checkbox"/> Veterinario         | <input type="checkbox"/> Operaio                |
| <input type="checkbox"/> Altro _____ |                                              |                                                 |

#### Storia occupazionale di esposizione ad animali

- Avete mai lavorato con animali da laboratorio? ☐ Si ☐ No
- Per quanti mesi avete lavorato con animali da laboratorio? \_\_\_\_\_ (mesi)
- Annota con quali degli animali riportati qui sotto siete stato in contatto. Prego specificare ore/giorni/ durata totale (mesi), e mesi in sanofi-aventis.

| ANIMALE                                     | Precedente               | Attuale                  | Mai                      | Contatto<br>Ore/Giorno | Totale<br>Mesi | Mesi in<br>sanofi-aventis |
|---------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|----------------|---------------------------|
| Ratto                                       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Topo                                        | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Coniglio                                    | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Cavia                                       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Scimmia (Babbuino,<br>Macaco, etc.)         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Scimmia del Nuovo Mondo<br>(Marmoset, etc.) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Gatto                                       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Cane                                        | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Criceto                                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Gerbillo                                    | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Cavallo                                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Pecora                                      | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |
| Anatra/Oca                                  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____                  | _____          | _____                     |

Rana/anfibio ☐ ☐ ☐ \_\_\_\_\_  
 Altro ☐ ☐ ☐ \_\_\_\_\_

Se altro, specificare \_\_\_\_\_

4. Pensi di essere allergico a questi animali? ☐ Si ☐ No

Se SI, per quali di questi pensi possa essere:

☐ Ratto ☐ Topo ☐ Coniglio ☐ Cavia ☐ Scimmia ☐ Gatto  
☐ Cane ☐ Gatto ☐ Criceto ☐ Gerbillo ☐ Cavallo ☐ Pecora  
☐ Anatra/oca ☐ Rana/anfibio ☐ Altro (specificare) \_\_\_\_\_

5. Usi qualcuno dei seguenti Dispositivi Protezione Individuali quando lavori con animali?

|                               |                             |                                        |                             |
|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------|-----------------------------|
| Occhiali di Sicurezza/visiera | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> Qualche volta | <input type="checkbox"/> No |
| Maschera                      | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> Qualche volta | <input type="checkbox"/> No |
| Camice                        | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> Qualche volta | <input type="checkbox"/> No |
| Guanti                        | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> Qualche volta | <input type="checkbox"/> No |
| Soprascarpe                   | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> Qualche volta | <input type="checkbox"/> No |
| Cuffia                        | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> Qualche volta | <input type="checkbox"/> No |

6. Hai mai contratto una malattia da animali od avuto un danno di altro tipo (incluso morsi, graffi ecc.)

☐ Si ☐ No

Se Si, spiega quali: \_\_\_\_\_

7. Sei coinvolto con tecnologie di DNA ricombinante o con microrganismi che contengono DNA ricombinante? ☐ Si

☐ No ☐ Non so

SE Si, la ricerca comporta tecniche nel quale i microrganismi contenenti DNA ricombinante sono usati per infettare animali che richiedono livelli di Biosicurezza 2 o 3 ? ☐ Si ☐ No

No ☐ Non so

Spiega: \_\_\_\_\_

8. Qualcuno dei seguenti agenti pericolosi viene usato in questi animali? ☐

Infettivi ☐ Teratogeni/Cancerogeni ☐ Radioattivi ☐ Altro: \_\_\_\_\_

Per favore farne una lista: \_\_\_\_\_

## Informazioni relative all'ambiente privato

9. Hai qualche animale domestico? ☐ Si ☐ No

Se Si quale animale e da quanto tempo?

| Animale              | 1-2 Anni                 | 2-3 Anni                 | 3-4 Anni                 | >4 Anni                  |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Cani                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Gatti                | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Altro (quale): _____ | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

10. Lista degli Hobby: \_\_\_\_\_

11. Fumi sigarette? ☐ Si ☐ No

Se Si a quale età hai cominciato? \_\_\_\_\_

Per quanti anni hai fumato ? \_\_\_\_\_

Quante sigarette per giorno ? \_\_\_\_\_

Fumi ancora attualmente? ☐ Si ☐ No

Se no da quanti anni hai smesso? \_\_\_\_\_

Per quanti anni hai fumato? \_\_\_\_\_

12. Hai un acquario con pesci d'acqua dolce? ☐ Si ☐ No

13. Hai altri animali non domestici in casa? ☐ Sì ☐ No

## Sintomatologia Medica

14. Hai mai notato uno dei seguenti sintomi ☐ Sì ☐ No  
Se Sì, indicare sintomo e frequenza. Segnalare anche dove od il periodo in cui i sintomi si presentano:

| Sintomo                       | ONSET | FREQUENZA                |                          |                          |                          | SIMPTOMI PRESENTI        |                          |                          |                          |
|-------------------------------|-------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                               | Anno  | Settimanale              | Mensile                  | Annuale                  | Raro                     | A Lavoro                 | A Casa                   | In Vacanza               | Nessuna Differenza       |
| Asma                          |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Compressione al torace        |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Raffreddore                   |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Tosse                         |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Difficoltà nella deglutizione |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Eczema                        |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Febbre da Fieno               |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Naso chiuso                   |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Fastidio agli occhi           |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Starnuti                      |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Naso arrossato                |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Difficoltà respiratorie       |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Sibili respiratori            |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Rossore della cute            |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Naso colante                  |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Sputum Protection             |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Occhi o labbra gonfi          |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Ansimare                      |       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

15. Ha mai comunicato ad un dottore che Lei aveva allergie? ☐ Sì ☐ No

16. Ha mai fatto test cutanei per allergie? ☐ Sì ☐ No  
Se Sì, a quali sostanze è risultato essere allergico o sensibile?

☐ Medicinali ☐ Erba ☐ Alberi ☐ Fiori/frutta ☐ Topo  
☐ Polvere ☐ Gatto ☐ Cane ☐ Altro: \_\_\_\_\_

17. Ha mai fatto terapie contro le allergie (desensibilizzazione/immunoterapia)? ☐ Sì ☐ No

Se Sì, in quale anno e di che tipo? \_\_\_\_\_

18. Un dottore le ha mai detto che Lei ha l'asma? ☐ Sì ☐ No

Se Sì, in quale anno è iniziata? \_\_\_\_\_

Assume attualmente dei farmaci per controllare la Sua asma?

Sì ☐ No ☐

Se Sì, quali farmaci assume? \_\_\_\_\_

19. Un dottore le ha mai detto che nel suo lavoro ci sono condizioni di lavoro che prevedono delle inidoneità? ☐ Sì ☐ No

Se Sì, per quali condizioni di lavoro? \_\_\_\_\_

20. Ha dei parenti di primo grado ( nonni, genitori, fratelli/sorelle) che hanno allergie o asma? ☐ Sì ☐ No

21. È stato trattato mai per le malattie seguenti?

☐ Sì ☐ No

Se sì, per favore controlli per quali malattie:

- |                                                  |                                            |                                                                 |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Enfisema                | <input type="checkbox"/> Diabete           | <input type="checkbox"/> Epilessia                              |
| <input type="checkbox"/> Difficoltà respiratorie | <input type="checkbox"/> Dolore al Torace  | <input type="checkbox"/> Claustrofobia                          |
| <input type="checkbox"/> Acne Facciale rilevante | <input type="checkbox"/> Stress            | <input type="checkbox"/> Bronchiti ricorrenti                   |
| <input type="checkbox"/> Polmonite               | <input type="checkbox"/> Tubercolosi       | <input type="checkbox"/> Malattie al fegato                     |
| <input type="checkbox"/> Malattie cardiache      | <input type="checkbox"/> Febbre reumatica  | <input type="checkbox"/> Soffio al cuore /Malattie alle valvole |
| <input type="checkbox"/> Cancro                  | <input type="checkbox"/> Malattie renali   | <input type="checkbox"/> Lombalgie                              |
| <input type="checkbox"/> Crisi Psicomotoria      | <input type="checkbox"/> Artriti           | <input type="checkbox"/> Disordini gastrointestinali            |
| <input type="checkbox"/> Perdita di conoscenza   | <input type="checkbox"/> Ansietà           | <input type="checkbox"/> Alta pressione sanguigna               |
| <input type="checkbox"/> Bronchite cronica       | <input type="checkbox"/> Aritmie cardiache | <input type="checkbox"/> Altro _____                            |

22. Lista dei farmaci che le sono stati prescritti e delle allergie a medicinali:

| Nome del medicinale | Motivo della prescrizione | Ultima volta presa |
|---------------------|---------------------------|--------------------|
|                     |                           |                    |
|                     |                           |                    |
|                     |                           |                    |
|                     |                           |                    |

23. Ha mai avuto una malattia professionale od un incidente sul lavoro?

☐ Si    ☐ No

Se Sì, quando? \_\_\_\_\_

Che cosa successe? \_\_\_\_\_

24. La causa di questo danno era:

☐ Continuo cambiamento di posizione    ☐ lavoro temporaneo    ☐ Altro

25. Ha mai ricevuto una compensazione per il danno ricevuto?

☐ Si    ☐ No

## IMMUNIZZAZIONE

26. Segnalate ed indicate la data dell'ultima vaccinazione ricevuta o di test che documentino lo stato anticorpale.

Morbillo    ☐ \_\_\_\_\_    Orecchioni    ☐ \_\_\_\_\_    Rosolia    ☐ \_\_\_\_\_

Epatite A    ☐ \_\_\_\_\_    Epatite B    ☐ \_\_\_\_\_    CMV(citomegalovirus)    ☐ \_\_\_\_\_

Toxoplasmosi    ☐ \_\_\_\_\_    Febbre gialla    ☐ \_\_\_\_\_    BCG(tubercolosi)    ☐ \_\_\_\_\_

Rabbia    ☐ \_\_\_\_\_    (Vaccino)    ☐ \_\_\_\_\_    Varicella    ☐ \_\_\_\_\_

Data ultimo richiamo della anti-rabbica: \_\_\_\_\_    Data dell'ultimo richiamo anti-tetanico: \_\_\_\_\_

Se non immunizzata quali malattie trasmissibili ha avuto?

## SCREENING della TUBERCULOSI

27. Data dell'ultimo test cutaneo alla Tubercolina: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ ☐ Positivo    ☐ Negativo

Se Positivo, data dell'ultima schermografia: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Se Positivo, in passato ha presentato uno dei seguenti sintomi ?

☐ Diminuzione del peso    ☐ Difficoltà respiratorie    ☐ Tosse cronica    ☐ Sangue nell'espettorato    ☐ Febbre

Registrata da: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

# Procedure di Prevenzione e Controllo della LAA:

## Aspetti Pratici

Andrea Tamellini - Laboratorio Animal Science GSK, Verona

L'intervento verte sull'importanza delle procedure di prevenzione e controllo della *Laboratory Animal Allergy*, intese sia come procedure, come documenti cartacei, che come pratiche operative quotidiane, di cui si illustreranno alcuni esempi pratici. Partendo dall'esposizione dei punti caratterizzanti e significativi di un programma di prevenzione e controllo, il discorso si indirizzerà sul sistema procedurale, sull'importanza delle linee guida, sulle procedure di controllo in stabulario e infine sul training del personale. Come è noto quando si parla di LAA si fa riferimento soprattutto ai ratti e ai topi, perché sono gli animali che vengono più spesso utilizzati, non va però dimenticato il fatto che ogni specie animale con cui ci si trova a lavorare può essere fonte di allergeni e quindi può dare una sensibilizzazione. Se si considera l'incidenza della patologia a tutt'oggi, essendo conosciute oramai l'eziopatogenesi e comunque anche l'importanza del controllo dell'esposizione nella insorgenza di *Laboratory Animal Allergy*, è significativo che vi sia ancora un 30% di lavoratori che riportano sintomatologia. Ciò indica che il problema è a volte sottovalutato o non preso sufficientemente in considerazione, anche dagli stessi lavoratori. Tutto questo ha un impatto sociale ed economico non indifferente poiché, manifestandosi la sintomatologia generalmente nei primi tre anni di attività lavorativa, evidentemente poi può creare delle complicazioni anche nella gestione del personale e nell'operatività. Ogni programma di sicurezza e salute dei lavoratori quindi dovrebbe avere come obiettivo principale quello di prevedere un serio programma di prevenzione e controllo per la *Laboratory Animal Allergy*. È importante che un'istituzione abbia un sistema procedurale, in quanto il controllo della *Laboratory Animal Allergy* è un processo complesso che richiede l'impegno dell'istituzione e il coinvolgimento di varie figure professionali, quindi non è solo un problema del medico competente, dello stabularista, del veterinario, del lavoratore, ma richiede un coordinamento, e questo si può avere attraverso appunto l'implementazione di un valido sistema procedurale. Gli aspetti fondamentali in un sistema procedurale sono: le politiche e le linee guida che danno delle indicazioni generali, una chiara definizione delle responsabilità e poi anche delle procedure specifiche in stabulario che possono declinare in modo più puntuale e più preciso i dettami generali che sono identificati nelle politiche e nelle linee guida. Da ultimo, non certo per importanza ma perché corona un po' tutto quello che sta alla base, ovviamente, il training del personale perché si può avere un ottimo sistema procedurale o, dal punto di vista ingegneristico, un'ottima struttura, però se il personale non è adeguatamente addestrato e non è in grado di operare correttamente o non è a conoscenza di quelle che sono le procedure da impiegare, viene vanificato tutto il sistema. I punti principali che dovrebbero ricoprire le linee guida sono quindi la valutazione del rischio, le misure di controllo e di prevenzione, i dispositivi di protezione individuale, indicazioni sull'istruzione e il training del personale, le norme generali di igiene che possono andare più o meno nel dettaglio, a seconda poi di quello che viene ripreso nelle procedure operative specifiche. E poi anche dare delle indicazioni sui programmi di sorveglianza sanitaria o sull'osservatorio epidemiologico, a seconda delle situazioni, e sulla gestione del personale sensibilizzato. Una delle cose fondamentali è definire anche le responsabilità all'interno di una istituzione, prima di tutto quella del datore di lavoro e del management che dovrebbero assicurarsi che ogni lavoro che viene svolto con animali da laboratorio sia valutato e che le misure di controllo identificate siano adeguate e vengano utilizzate. I lavoratori hanno ovviamente la responsabilità di operare secondo quelle che sono le procedure definite, il medico competente è responsabile dell'anamnesi e anche del follow-up, nel caso si manifestino fenomeni di sensibilizzazione, e il servizio di sicurezza e ambiente, di prevenzione e protezione è responsabile di verificare l'applicazione di idonee misure di controllo, dell'esecuzione dei monitoraggi e della definizione del sistema di prevenzione. Prima di passare alle procedure operative in stabulario, va ribadito un concetto relativo alla valutazione dei livelli di esposizione, l'importanza cioè di partire dalla conoscenza della propria realtà lavorativa e operativa. Come

vedremo il controllo della *Laboratory Animal Allergy* richiede l'applicazione di vari accorgimenti all'interno di uno stabulario, è fondamentale concentrarsi sulle attività e sulle aree che sono maggiormente a rischio, in cui quindi c'è una possibilità di esposizione maggiore. Bisogna dunque conoscere la propria realtà e identificare quali sono i livelli di esposizione del personale. Per quello che riguarda le procedure operative in stabulario, volevo presentare alcuni esempi, tenendo appunto presente che non c'è una soluzione unica e magica alla riduzione della esposizione della *Laboratory Animal Allergy*, ma vi sono una serie di piccoli accorgimenti che portano poi al risultato, e l'elemento umano ovviamente rimane uno dei fattori principali, quindi l'importanza anche di avere delle procedure definite su come vanno svolte alcune attività, aiuta a fare chiarezza sia per il datore di lavoro che per il lavoratore. Di seguito alcune situazioni in cui si può contribuire alla riduzione dell'esposizione: accesso alle aree animali separato da altre aree, e deve essere data la possibilità agli operatori di accedere solo dopo avere eseguito un training, come minimo ci devono essere anche degli spogliatoi che funzionano da airlock con una separazione anche tra area pulita e area sporca, la possibilità di avere degli armadi in cui depositare il proprio vestiario e l'utilizzo di vestiario dedicato. Un'altra attività molto a rischio da un punto di vista di esposizione sono le attività di arrivo animali, in quanto le scatole in cui arrivano gli animali ovviamente hanno una concentrazione di allergeni elevata perché contengono molti animali, quindi bisognerebbe evitare la loro distribuzione all'interno delle stanze o nei corridoi, ma eseguirla in locali dedicati, con una parte verso l'esterno dello stabulario e una parte verso l'interno. Per la movimentazione di animali, oltre ad armadi ventilati, è possibile utilizzare anche per brevi tragitti degli armadi chiusi, si dovrebbe assolutamente evitare la movimentazione di animali con le gabbie aperte, o ad esempio anche delle soluzioni abbastanza semplici come dei contenitori in cui viene inserita la gabbia, che in questo modo viene poi trasportata all'interno dello stabulario. Per quanto concerne l'utilizzo di dispositivi di protezione individuali, una vestizione minima adeguata per garantire la protezione di un operatore comprende la cuffia o il cappuccio della tuta per proteggere i capelli, l'utilizzo della mascherina, una tuta che copra tutto il corpo e non solo la parte superiore, quindi evitare i camici, guanti e soprascarpe. Una menzione particolare alla mascherina, che dovrebbe essere sicuramente una mascherina adatta a filtrare e a proteggere dalla inalazione di polvere e quindi non utilizzare, come si vede ancora in alcuni stabulari, la mascherina chirurgica, perché questa non protegge assolutamente dall'eventuale inalazione di polveri da allergeni. I guanti devono coprire anche la zona del polso, perché non è cosa poco comune avere personale che lamenta dermatiti o allergie nella zona di contatto di cute libera tra il guanto e la tuta, possono essere utilizzati anche dei guanti con una manica più lunga nel caso ci siano persone sensibilizzate.



Abbiamo accennato alle norme igieniche, queste dovrebbero essere sicuramente definite sia come metodologia che come frequenza di esecuzione ed è importante il divieto di consumo di cibi e bevande nelle aree animali, ovvio anche il divieto di fumo e di applicazione di cosmetici. Sono cose scontate ma capita a volte di trovare persone che non rispettano queste norme. Un aspetto rilevante, che riguarda anche il training delle persone, è l'adeguata procedura di rimozione dei dispositivi di protezione indi-

viduale quando si esce dall'area, mascherina e guanti dovrebbero essere gli ultimi ad essere tolti. Sul tipo di gabbia in parte volevo solo sottolineare il fatto che è vero che vi sono dei sistemi come le IVC, non considererei le filter top visto che comunque hanno delle controindicazioni da un punto di vista di microclima e di welfare degli animali, o isolatori che sicuramente contribuiscono a ridurre la diffusione degli allergeni, molto però dipende da come questi vengono impiegati e anche da come gli operatori poi lavorano quando fanno la manipolazione con gli animali. Un altro fattore fondamentale all'interno di uno stabulario è la pulizia, lo svuotamento delle gabbie non dovrebbe essere assolutamente svolto nei locali di stabulazione o nei corridoi, ma in locali dedicati da personale ovviamente anche questo dedicato sia per motivi di controllo delle allergie, ma anche per motivi di controllo microbiologico all'interno dello stabulario, utilizzando dispositivi, ad esempio un adattamento di una cappa, ma ve ne possono essere altri, che limitino al massimo la diffusione di allergeni e anche la dispersione delle lettieri. Da tenere in considerazione rispetto ai metodi di pulizia è che gli allergeni sono spesso proteine solubili, quindi la pulizia ad umido è sicuramente da preferire, da evitare assolutamente la pulizia con la scopa o a secco delle lettieri perché questo favorisce la risospensione degli allergeni, senza dimenticare di definire anche la frequenza, sulla base della propria esperienza, sulla base della concentrazione di animali e delle attività che vengono svolte in una determinata area. Ove si utilizzino aspiratori a batteria per aspirare pelo o residui di segatura è opportuno che questi siano dotati di filtri HEPA, poiché evitano la risospensione in aria degli allergeni. Inoltre, il cambio dei filtri di aspirazione a ripresa nelle stanze, che dovrebbe essere procedurizzato in modo da evitare che chi fa questa attività sia esposto poi a tutti gli allergeni che sono stati catturati dal filtro. Medesimo accorgimento di separazione delle stanze anche per le attività sperimentali questo sia per il benessere dell'animale, ma anche perché questo contribuisce a ridurre l'esposizione degli operatori e il training del personale in questo è fondamentale perché alcune pratiche sbagliate di manipolazione possono comunque favorire o aumentare il rischio di esposizione. Quando vengono fatte attività tipo la rasatura degli animali per prepararli alla chirurgia è bene dotarsi di sistemi che evitino la diffusione di polveri, una soluzione potrebbe essere l'utilizzo di tavoli aspirati o cappe. Il controllo dell'allergia ha un altro aspetto importante, una corretta gestione dei rifiuti dello stabulario, è necessario avere dei contenitori omologati e specifici per ogni tipologia di rifiuto, quindi le lettieri dovrebbero essere appunto messe in contenitori omologati, sufficientemente resistenti per evitare rotture e spandimenti, con chiusura ermetica e non riapribile. Stessa cosa per guanti, mascherine o cuffie, anche queste dovrebbero essere raccolte in contenitori dedicati. Per il materiale invece di tipo riutilizzabile, quindi le tute che vengono lavate, al fine di evitare una esposizione del personale interno o esterno dedicato al lavaggio, dotarsi di contenitori con sacchi idrosolubili che permettono la chiusura e quindi il lavaggio delle tute senza una successiva manipolazione.

Uno degli ultimi aspetti è quello della verifica del corretto funzionamento del sistema di ventilazione sia questo semiautomatico, automatico o manuale, ma è sicuramente rilevante, soprattutto laddove ci si affida al controllo dei differenziali di pressione per garantire una riduzione della diffusione degli allergeni, controllare che le pressioni teoriche corrispondano a quelle che effettivamente si osservano nelle stanze. Abbiamo visto come la temperatura ed in particolare l'umidità giochino un ruolo importante nel diminuire l'esposizione, quindi anche qui un controllo di questi parametri, e una definizione dei limiti per gli allarmi. Nel caso di sistemi automatici dovrà essere eseguito un controllo, una calibrazione periodica dei sensori. Concludo dando un accenno all'importanza dell'istruzione, del training del personale, perché tutto lo staff che manipola o è potenzialmente esposto agli animali da laboratorio deve ricevere un training appropriato per minimizzare una potenziale esposizione ad allergeni animali. Le procedure di erogazione del training dovrebbero essere definite così come la sua certificazione e soprattutto anche con la identificazione del personale che, nuovo assunto o nuovo personale, ha necessità di accedere all'area. Contenuti specifici di un training per il personale di controllo della *Laboratory Animal Allergy* dovrebbero essere come minimo una conoscenza e una descrizione dell'eziopatogenesi, quindi anche del rischio che rappresenta la *Laboratory Animal Allergy* con una descrizione dei sintomi, i metodi che vengono impiegati nella struttura per ridurre l'esposizione, un accenno all'importanza dell'osservatorio epidemiologico e come questo funziona, in modo che i lavoratori siano informati e, non da ultimo, la descrizione del sistema procedurale, in modo che i lavoratori sappiano dove andare anche a reperire le informazioni.

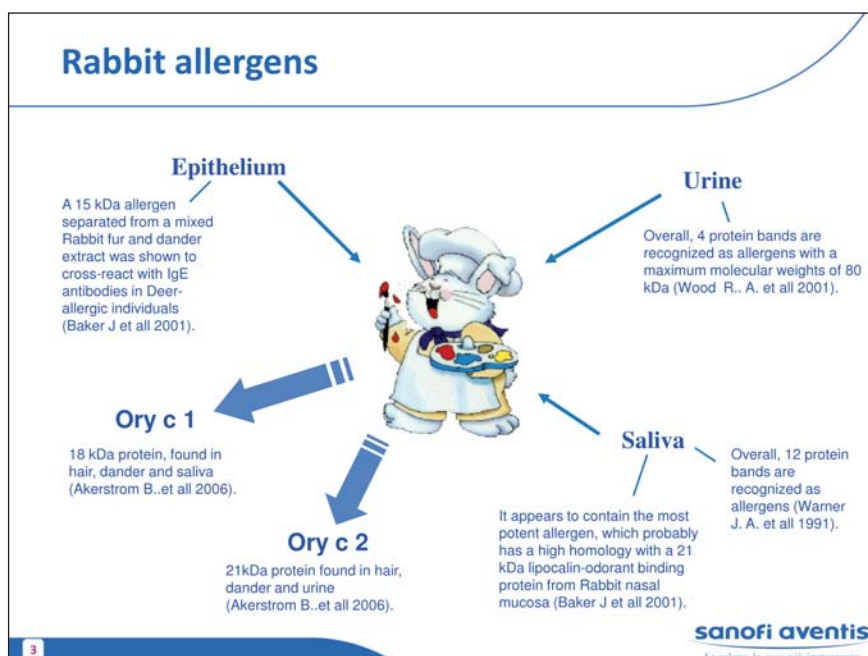
# Gli allergeni del coniglio: un problema sottovalutato?

Massimiliano Bardotti - Centro Ricerche Sanofi Midy, Sanofi Aventis, Milano

L'*Oryctolagus cuniculi* è diffuso nel mondo, sia come animale selvatico, l'Australia ne è un esempio, sia come animale da compagnia, e, soprattutto, come animale di interesse zootecnico e come animale da laboratorio, in particolare utilizzato a livello di Asia e Giappone (1), ma anche da noi.

## Quali sono gli allergeni del coniglio?

Gli allergeni attualmente riconosciuti e isolati dal coniglio sono due, Ory c1 e Ory c2, che prima del 2006 erano chiamati Ag1 e Ag2 (4, 5, 16, 17, 18), poi in un libro sulle lipocaine sono stati ri-classificati e rinominati (2). In realtà nel coniglio le fonti di allergeni sono diverse (Fig. 1), dagli epiteli (3) alle urine (22) alla saliva (3, 20), fonti che sono facilmente raggiungibili da chiunque operi sui conigli, sia nel cambio gabbie, sia perché si lavora sperimentalmente sugli animali, sia perché si possono prelevare liquidi biologici, sangue e urine (15).



Quindi l'esposizione è effettivamente presente e può essere alta. Se noi andiamo a valutare, in una normale vita di uno stabulario, le particelle emesse nelle stanze dedicate agli animali, in questo caso ai conigli, si vede come le particelle sono tantissime e i picchi sono particolarmente elevati durante le attività di stabulario, e questo considerando solo l'attività degli stabularisti, quindi il cambio gabbia, l'ingresso e l'uscita degli animali, il cambio delle bottiglie, il normale housing degli animali (9, 10).

## Case reports

Non esiste, a tutt'oggi, una vera e propria ricerca sulle allergie derivate dall'esposizione ai conigli, quello che la letteratura propone in realtà sono dei case report, nazione per nazione, cioè ci sono stati dei medici, neanche dei veterinari, che si sono impegnati nello studio degli allergeni del coniglio nelle loro nazioni. Di seguito ne vengono citati solo alcuni esempi.

STATI UNITI D'AMERICA: è stato dimostrato che sul 46% dei lavoratori con animali, il 21% sono

stati sensibilizzati agli allergeni del coniglio e sviluppano sia asma che rinite allergica, quindi sono manifestazioni comunque cliniche (21).

Anche in GIAPPONE abbiamo manifestazioni di rinite allergica, di asma, addirittura è stato dimostrato che circa il 26% dei lavoratori esposti è stato sensibilizzato agli allergeni del coniglio (1). La COREA, l'Est Pacifico e l'Asia sono, secondo la letteratura, Paesi in cui lo studio dei conigli è particolarmente approfondito e sono stati descritti numerosi casi, anche importanti, si parla di numerosità abbastanza elevate, 150 stabularisti o comunque allevatori. Ci sono anche casi in cui in persone singole sono state rilevate manifestazioni cliniche di sensibilizzazione al coniglio, indipendentemente dall'età, persone che non necessariamente erano a contatto con l'animale ma con persone che lavoravano coi conigli, o anche, c'è un caso molto particolare di una persona che ha avuto problemi di sintomatologia clinica, ma in realtà la sua famiglia non ha mai avuto conigli, frequentava però persone che avevano conigli in casa. Si parla perciò di trasmissione indiretta della sintomatologia e della sensibilità (6). La stessa casistica si ha in INGHILTERRA (8). Considerando, però, i Paesi della COMUNITÀ EUROPEA, come Inghilterra (8, 19) ed Olanda (11), si nota che i casi sono un po' più sporadici e gli studi anche meno numerosi, probabilmente perché il coniglio non è così utilizzato e così presente nella pratica quotidiana.

### **Situazione in Italia**

La Gazzetta Ufficiale (7), nel rapporto triennale sull'utilizzo di animali in sperimentazioni pubblicato dal Ministero per il triennio 2004-2006, evidenzia come il coniglio sia in Italia sicuramente in decrescita come gli altri animali, non è prevalente come i topi e i ratti, ma è molto presente: si tratta della quarta specie di mammifero più utilizzata nel nostro Paese in ricerca scientifica.

In Italia esiste un gruppo di ricercatori allergologi, a Napoli, che si è particolarmente dedicato allo studio delle allergie dei conigli. Hanno diviso l'Italia per vari centri di riferimento per allergie (12, 14), e hanno studiato, in questi centri, quali fossero le incidenze di patologie allergiche legate all'esposizione del coniglio. Non solo, ma questo gruppo di studio ha dimostrato anche che la sensibilizzazione non avviene soltanto per contatto diretto (13), quindi non sono solo gli stabularisti o i ricercatori che lavorano sul coniglio i più esposti, ma in realtà sembra che esposti, e anche in maggiore misura, siano coloro che sono direttamente a contatto con persone che lavorano col coniglio. Di conseguenza l'esposizione sui vestiti, sui capelli, sulle scarpe ma anche sulle mani, può portare il contatto con l'allergene e quindi la sensibilizzazione. Nel 2004 (12), si è verificato un case report di un ragazzo che non aveva mai visto un coniglio in vita sua, ma ha avuto una reazione allergica anche molto forte a seguito di un contatto casuale con le proteine di coniglio. Nella anamnesi di questo soggetto, si è evidenziato un amico stabularista, che quindi può averlo messo a contatto facendolo diventare a rischio.

### **Conclusioni**

Ciò che va sottolineato in questa sede è di non soffermarsi solo su ratti e topi: sicuramente questi sono i più rappresentati nella nostra realtà sperimentale, ma non sono gli unici animali. La scelta di specie è sicuramente una strada da percorrere per affrontare tale problematica, dove la sperimentazione lo permette, visto che ci sono alcune sperimentazioni legate ai ratti e ai topi ove non può essere utilizzata una specie alternativa. Va opportunamente considerato, comunque, che possono esserci casi in cui vi sono persone allergiche, anche se non lavorano con ratti e topi o nel nostro ambiente.

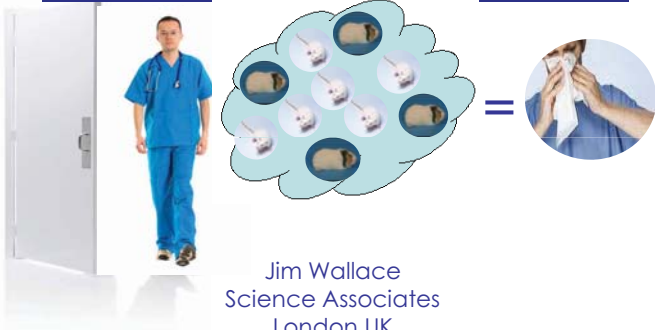
## Bibliografia

1. Aoyama K., Ueda A., Manda F., Matsushita T., Ueda T., Yamauchi C.: Allergy to laboratory animals: an epidemiologic study. *Br J Ind Med.* 1992; 49: 41.
2. Åkerstrom B, Borrengaard N., Flower R. D., Saller J. P. eds: Lipocalins. LANDIES. Bioscience 2006
3. Baker J., Berry A., Boscato L. M., Gordon S., Walsh B. J., Stuart M. C.: Identification of some rabbit allergens as lipocalins. *Clin. and Exp. All.*, 2001; 31: 303
4. Bush R.K., Stave G.M.: Laboratory animal allergy: an update. *ILAR Journal* 2003; 44: 28.
5. Bush R.K., Wood R.A., Eggleston P.A.: Laboratory animal allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1998; 102:99–112.
6. Choi J. H., Kim H. M., Park H. S.: Allergic Asthma and Rhinitis Caused by Household Rabbit Exposure: Identification of Serum-Specific IgE and Its Allergens. *J Korean Med Sci* 2007; 22: 820
7. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana, serie generale n 243 del 16-8-2008, pag 20
8. Gordon S., Preece R.: Prevention of laboratory animal allergy. *Occupational Medicine* 2003; 53: 371
9. Kaliste E., Linnainmaa M., Meklin T., Nevalainen A.: Airborne contaminants in conventional laboratory rabbit rooms. *Lab. Anim.* 2002; 36: 43
10. Kaliste E., Linnainmaa M., Meklin T., Torvinen E., Nevalainen A.: The bedding of laboratory animals as a source of airborne contaminants. *Lab. Anim.* 2004; 38: 25
11. Kapur P, Khadavi A., Silverman B., Schneider A.T.: Rabbit Anaphylaxis – An Interesting Case Report. *Pediatric Asthma, All. & Immunol.* 2008; 21: 31
12. Liccardi G., D'Amato G., Canonica W., Dente B., Passalacqua G.: Severe respiratory allergy induced by indirect exposure to rabbit dander: a case report. *Allergy* 2004; 59:1237
13. Liccardi G., Passalacqua G.: Sensitization to Rabbit Allergens in Italy – A Multicentre Study in Atopic Subjects without Occupational Exposure. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 141: 295
14. Liccardi G., Piccolo A., Dente B., Salzillo A., Noschese P., Gilder J.A., Russo M., D'Amato G.: Rabbit allergens: A significant risk for allergic sensitization in subjects without occupational exposure. *Resp. Med.* 2007; 101: 333
15. Ooms T. G., Artwohl J. E., Conroy L. M., Schoonover T., MFortman J. D.: Concentration and Emission of Airborne Contaminants in a Laboratory Animal Facility Housing Rabbits. *AALAS J.*, 2008; 47: 39
16. Price JA, Longbottom JL.: Allergy to rabbits. I. Specificity and non-specificity of RAST and crossed-radioimmuno-electrophoresis due to the presence of light chains in rabbit allergenic extracts. *Allergy* 1986; 41: 603.
17. Price JA, Longbottom JL.: Allergy to rabbits. II. Identification and characterization of major rabbit allergen. *Allergy* 1988; 43: 39.
18. Price JA, Longbottom JL.: ELISA method for measurements of airborne levels of major laboratory animal allergens. *Clin Allergy* 1988; 18: 95.
19. Ruoppi P, Koistinen T., Susitaival P, Honkanen J., Soininen H.: Frequency of allergic rhinitis to laboratory animals in university employees as confirmed by chamber challenges. *Allergy* 2004; 59: 295.
20. Warner J.A., Longbottom J.L.: Allergy to rabbits. III. Further identification and characterization of rabbit allergens. *Allergy* 1991;46:481–491.
21. Wolfle T, Bush RK. The Science and Pervasiveness of Laboratory Animal Allergy *ILAR J* 2001; 42(1):1-3
22. Wood RA. Laboratory animal allergens. *ILAR J* 2001;42(1):12

# Engineering: a solution to LAA?

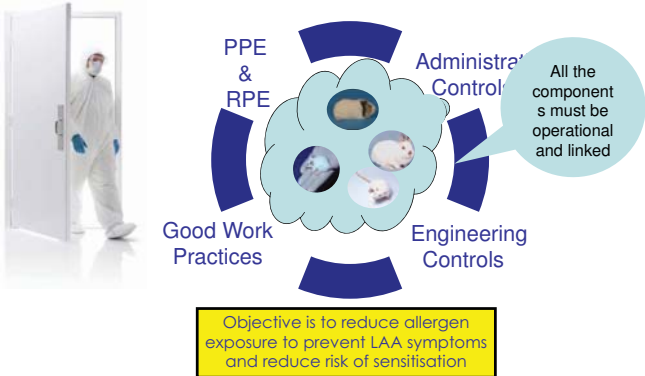
Jim Wallace - Science Associates, London UK

## Engineering: a solution to LAA?



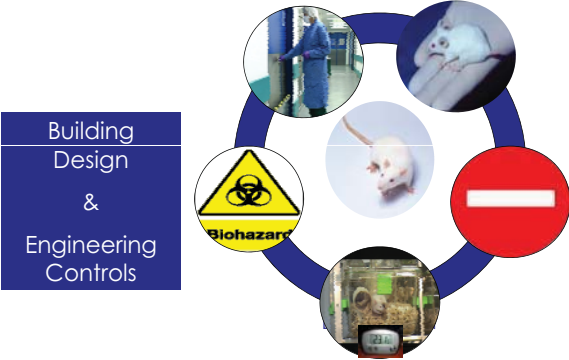
Jim Wallace  
Science Associates  
London UK  
scienceassociates@yahoo.co.uk

## Components of a successful LAA Control Programme



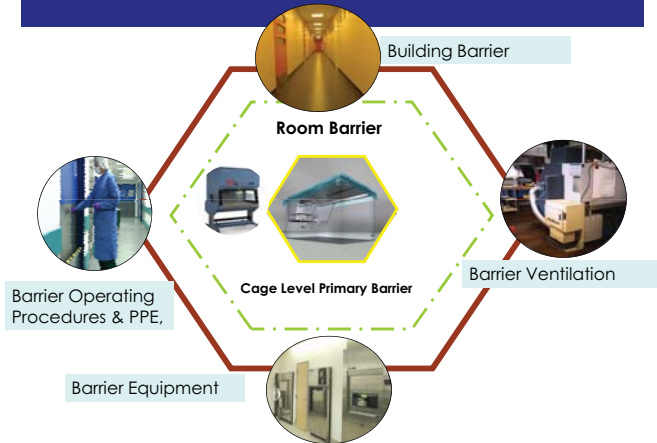
Objective is to reduce allergen exposure to prevent LAA symptoms and reduce risk of sensitisation

## Animal Facility Bio-Security Barrier/s



Building Design & Engineering Controls

## Animal Facility Bio-Security Barrier



## Engineering Controls & Allergen Avoidance:



## Potential Allergen Exposure Routes

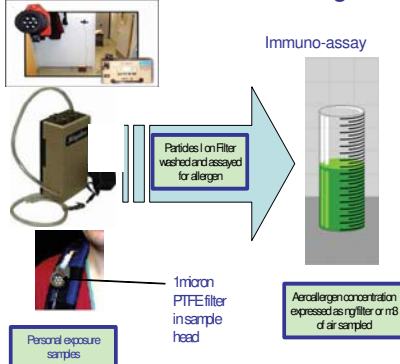
- Background (Room) Exposure- animal rooms/cage-wash-operating rooms-offices
- Task (Personal ) Exposure
- Secondary/Incidental Exposure



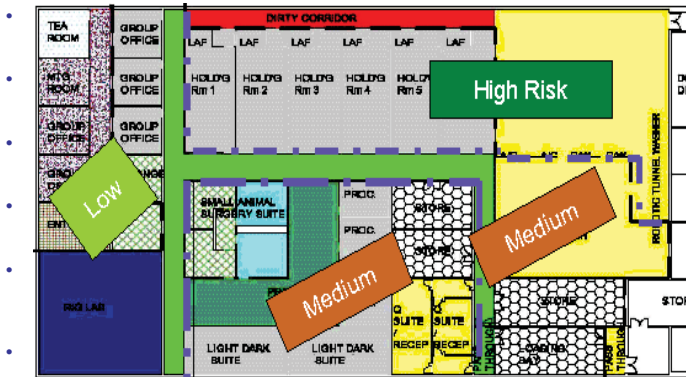
## Risk Assessment: Measuring (Aero)Allergen Exposure

- Allergen levels expressed as ng/m3 of filter/ m<sup>3</sup> air
- Allergen exposure pathways
- Allergen zones
- Measure personal exposure
- Quantify control measures and equipment
- Identify & profile risk to individuals and groups

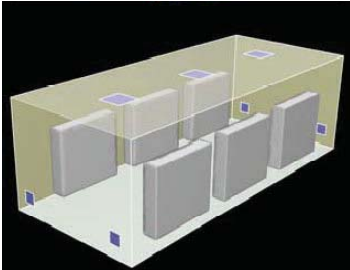
## Measuring Environmental Aeroallergens



# Building Design -Ventilation & Air Flows

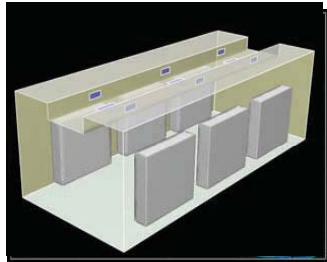


## HVAC -High Supply - Bulkhead Exhausts ...



### Conventional Animal Room – High Supply – Low Exhaust

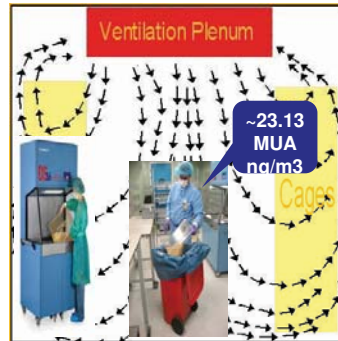
Permission of Scott Reynolds



Minimum particle dispersal  
Maximum capture

## HVAC -High Supply - Bulkhead Exhausts

- HVAC alone may not be able to reduce allergen exposure during work activity
- Do not rely on HVAC systems alone to protect from allergen exposure
- Supplement with
  - Primary Cage Barrier
  - LEV
  - Good Work Practices
  - PPE



## LAA Background exposure: Open Cage & Care Systems

- Open cage systems & Local Exhaust Ventilation (LEV)
- Use of screens and negative air flows isolates animals and captures allergens



Permission of NovoNordisk

## Allergen Avoidance : Primary Cage Barrier Containment

- Use of Cage Top with Reemay Filter = 4 fold reduction in Background RUA Levels

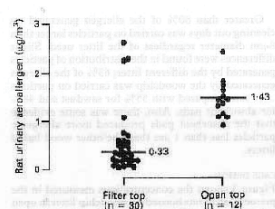
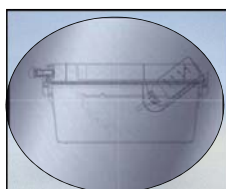


Figure 3 Comparison of cage design. Rat urinary allergen concentrations measured when 30 rats were housed in working building in filter top and open top cages, excluding those measurements made on cleaning out days for the open top cages. The geometric mean (GM) is indicated.

Chardon, Yee, Lotuosen, Wallace, Neuman-Taylor

## Job/Task /Personal Exposure

### Relative potential exposures of typical husbandry tasks

- **Low**
  - post mortem or with tissues
  - Procedures on unconscious animals
  - Procedures involving few animals
  - Automated cage cleaning
- **Medium**
  - Cleaning within animal unit
  - Indirect contact in animal room
  - Feeding animals
- **High**
  - Injections and other invasive procedures
  - Shaving fur
  - Handling animals
  - Box changing
  - Disposal of soiled litter
  - Changing filters of local exhaust ventilation or room ventilation
  - Washing cages



## Allergen Avoidance: LEV & Experimental Procedures

| ACTIVITY                                | MUP Conc ng/m <sup>3</sup>                      |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Blood sampling – Downflow bench         | 1.64                                            |
| Mouse Manipulation-Open Bench           | 4.50<br><small>G Childs</small>                 |
| Mouse manipulation-open bench           | 87.20<br><small>20&lt;40 fold reduction</small> |
| Mouse manipulation- in ventilated bench | 2.10 ( 0.6>9.8)<br><small>Renstrom 2000</small> |



## Personal Exposure: Allergen Avoidance

| Area        | Cage Type                        | Sample   | Sample Period ( Shift) – (Mouse m1/ng/m <sup>3</sup> ) |
|-------------|----------------------------------|----------|--------------------------------------------------------|
| Cage Change | Open Cages                       | Personal | 17.55<br><small>26 fold reduction</small>              |
| Cage Change | Open Cages plus Laminar Air Flow | Personal | 0.67                                                   |

Adapted from Reisdiesel et al 2008 UMG de

# Allergen Avoidance: Cage Waste Removal



## LEV : Dust Extraction units

- Dust extraction units can be placed close to soiled cage dump areas to reduce personal exposure and workplace contamination with animal allergens.

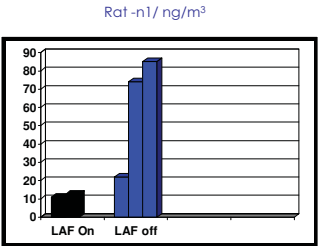
| Cage Wash Area                  | MUP 1 ng/m <sup>3</sup><br>Shift Exposure |
|---------------------------------|-------------------------------------------|
| No dust extractor               | 84.93                                     |
| After installing dust extractor | 2.59                                      |

30 fold reduction



Data from Reideisel H et al 2008

## Laminar Air Flow Cabinets : Cage Waste Removal



Personal Exposure to Rn 1 during cage waste removal



Adapted from Krohn T & Hansen A. Scand J LAS 2004

## Appropriate LEV Equipment : Validate under in use conditions

| Equipment-<br>Personal Sample                                                | MUP<br>Ng/m <sup>3</sup> |                                                                                   |
|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Cage changing IVC<br>cages – Class 2<br>cabinets                             | 4.50                     |  |
| Cage changing IVC<br>cages – Cage<br>Change Station<br>(Class 2 performance) | 0.15                     |  |

30 fold  
reduction

Permission G Childs

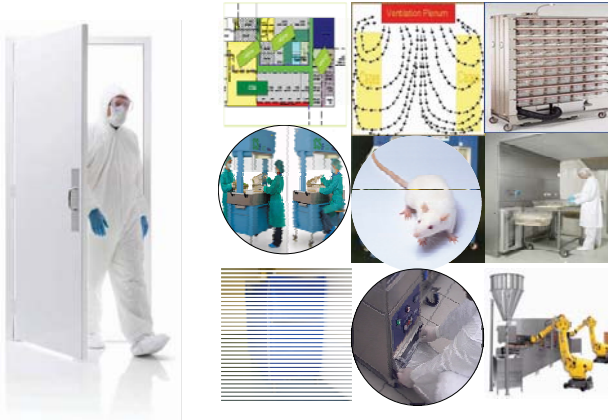
## LEV : Cage waste removal & washing: Robotics & Automation

- Process Substitution =
- Robotic cage washing and handling systems –
- Removal of workers from high-level aeroallergen environments
- 



Robotic systems can virtually remove human contact with bedding removal and transport

## Building an Engineering Barrier to Allergens



# Reducing Laboratory Acquired Allergy

Michael Sidelsky Sr - Rodent Facility & Housing Specialist Allentown, Inc., NJ, USA

## Prevention of Laboratory Animal Allergy: An Overview of Best Practices in Facility Design, Program Oversight and IVC Performance Testing

Presented by:  
Everett A. Mount, CIH, CSP,  
President, Safety Synergy LLC

© 2007 - Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. - Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## There is no “silver bullet” .....



### Management Practices

- ♦ Commitment
- ♦ Resources and Planning
- ♦ Performance Measures



### Workforce Integration

- ♦ Employees
- ♦ Supervisors
- ♦ Support Team



### Technical Expertise

- ♦ Medical Management
- ♦ Job Placement
- ♦ Education and Communication
- ♦ Hazard Reconition, Evaluation, Control

Copyright 2005 - Safety Synergy, LLC - All Rights Reserved

© 2007 - Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. - Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## This issue is not limited to one issue...

### Selected Allergens in the Laboratory Environment

#### Common Lab Animal Allergens<sup>2</sup>

Mouse: MUP, Mus m1, Musm2, albumin  
Rat: Rat n 1a, Rat n 1b, albumin, a2u-globulin  
Guinea Pig: Cav p 1, Cav, p 2  
Rabbits: Ag1 and Ag2  
Cats: Fel d 1, albumin  
Dogs: Can f 1, albumin

#### Other Allergens Present in Labs

Latex - Present in some gloves and PPE  
Formalin - Used as a positive control and fixative  
Cedar - Some forms of animal bedding  
Proteolytic Enzymes - Present in some detergents

#### Possible Research Test Materials

Chemical Intermediates  
Pharmaceuticals  
Industrial Chemicals  
Food Additives

© 2007 - Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. - Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

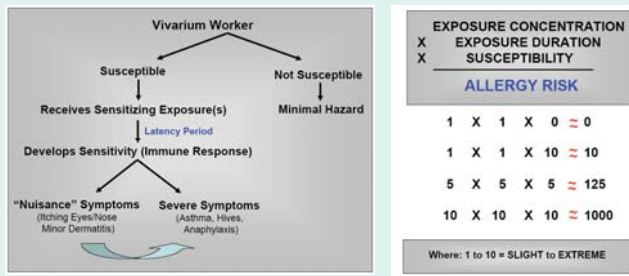
## Why so much concern?

- Over 90,000 US Workers Are At-Risk\*
- Over 30,000 UK Workers Are At Risk\*
- Thousands More in Other Countries
- Most Employed At “Cutting Edge” Institutions
- Prevalence Varies:
  - ~ 25% Report Symptoms, ~15% Have Positive PST)\*
- Direct and Indirect Costs Include:
  - Lost Work Days, Medical Costs, Career Interruption,
  - Litigation, Training Costs, Loss of Experienced Employees

\* Bush and Stave, “Laboratory Animal Allergy – An Update” ILAR Journal, Volume 44, Number 1, 2003

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## Development of Allergy – A Simple Overview



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Over a period of years, Harvard University studied various approaches to expand and improve its facilities to support research with laboratory animals



Photo courtesy of Shavaka

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

[illegible]

Courtesy of TK&A

Courtesy of TRISA

Photo courtesy of Sharmila

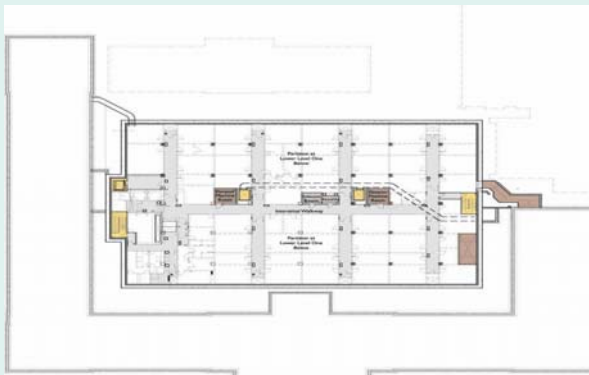
The BRI provides two barrier animal housing levels (LL1 & LL2).



Photo courtesy of Arden Grasset

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

The BRI also provides a separate interstitial mechanical service level; the entire building is provided with Hepa-filtered supply air.



Courtesy of TK&A

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

The design goal of the interstitial mechanical level was to allow ease of maintenance and service of MEP components without accessing the barrier, limiting allergen exposure.



Photo courtesy of Arden Grasset

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Lower level 1 (LL1): 8 animal pods suites with 34,000 cage spaces in 36 animal holding, 12 procedure and 10 behavioral testing rooms, and the Transgenic Core Lab.



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Before being granted barrier access all personnel must document that ...



- Their name appears on an IACUC approved protocol.
- They have undergone Occupational Health Evaluation
- Have been oriented to use the facility
- Have taken the IACUC course for work with laboratory animals.

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Visitors entering the barrier must pass through two secured entry points, don PPE (booties, jumpsuit, head bonnet, gloves, mask and eye protection), and enter the barrier through an air shower.



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Specially outfitted procedure rooms allow researchers a designated space to conduct research activities, minimizing traffic and allergen exposure in animal rooms.



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Animal Holding Rooms have high density, direct-connected supply/exhaust, micro-ventilated IVC racks equipped with automated watering, limiting the need for cage access.



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Each holding room contains nine racks (840 cage spaces) connected to an interstitial blower system. All husbandry and animal manipulation must be carried out in an ATS



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Lower Level 2 (LL2): Quarantine and ABSL2 Pod with 4,200 cage spaces in 7 animal holding and 3 procedure rooms, and the cage wash/processing area.



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Lower Level 2 (LL2): Quarantine and ABSL2 Pod. Allentown P/NC Racks in use. All husbandry and animal manipulation must be carried out in a Class II Biosafety Cabinet.



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Cage wash/processing features automation including gantry robots for cage dumping into a down-draft funnel, loading and unloading, vacuum systems for transport of waste bedding and the delivery of clean bedding to bedding dispensers.



Photo courtesy of Anton Gressel

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

All equipment is then autoclaved before being placed back into service



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

Prior to exiting, all visitors remove their PPE inside the exit airlock. All equipment is wiped down before removal from the barrier.



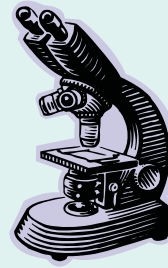
© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

- In summary, Harvard University has a comprehensive laboratory animal allergen control program and state-of-the-art facility. Their program involves a system of controls including:
  - Special ventilation system, IVC racks, animal transfer stations etc.)
  - Worker Training
  - Personal Protective Equipment
  - Medical Surveillance
  - Controlled Access
- The next section of this presentation will focus on IVC performance testing that was conducted at Harvard.

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## Details Matter!

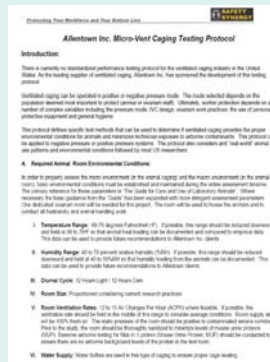
- Suggested exposure limit:  
5 nanograms per cubic meter (MUP)
- A cubic meter of air is 39" W x 39" D x 39" H
- A nanogram is 1 billionth of a gram  
A grain of sand weighs 10 milligrams  
10,000,000 times more than one nanogram
- Airborne particulate is polydisperse, (ultra fine fibers, feed dust, skin cells etc.)  
Some of the particulate is respirable  
Allergy can develop from skin contact
- Testing must be done using absolutely perfect techniques and using fully validated methods.



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## Key Elements of the IVC Testing at Harvard

- Testing followed comprehensive experimental protocols
- Analytical methods were fully validated prior to the studies
- Protocols use “Best Practices” of Industrial Hygiene.
- Analysis methods are new and cost effective.
- Analytes included:
  - Urine Protein Levels (MUP)
  - Ammonia
  - Carbon Dioxide
  - Temperature
  - Humidity



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

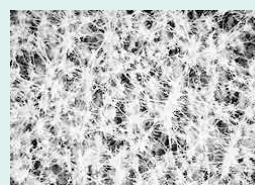
## MUP Analysis

- Method:
  - 37 mm PTFE (Teflon) Filters in Leak Free Disposable Cassettes
  - Programmable Air Sampling Pumps
  - Analysis by 2 site immunometric assay (IEMA)
- Method Validation included:
  - Extensive use of “field blanks”
  - Reference Standards
  - Development of Filter Desorption Efficiency
  - Ultra-low detection limit. (0.5 ng)
  - Accurate and time proven.
  - Flow rates checked before, during and after sampling
- Analysis by DACI\* Laboratory.
  - Developed and analysis overseen by Robert Hamilton, PH.D, DAMBLI
  - Accredited by numerous agencies

\*Johns Hopkins University Dermatology, Allergy and Clinical Immunology (DACI) Reference Laboratory



Magnified Animal Allergen



PTFE Filter – Electron Microscopy

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

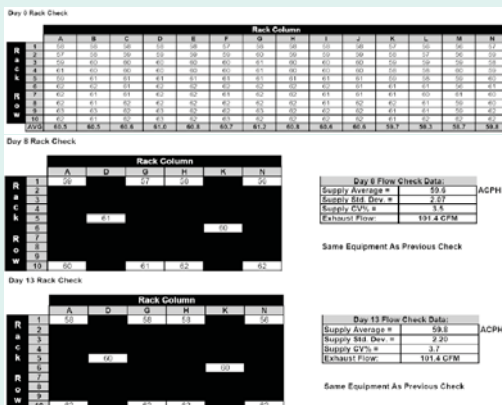
## Background Contamination Check

|      |            |                      | MUP Result (ng) | Air Volume (m3) | MUP Concentration (ng/m3) |
|------|------------|----------------------|-----------------|-----------------|---------------------------|
| B-1  | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.994           | None Detected             |
| B-2  | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.994           | None Detected             |
| B-3  | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.994           | None Detected             |
| B-4  | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.994           | None Detected             |
| B-5  | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | 3.8             | 0.994           | 4.6                       |
| B-6  | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.994           | None Detected             |
| B-7  | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.994           | None Detected             |
| B-8  | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.994           | None Detected             |
| B-9  | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.994           | None Detected             |
| B-10 | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.994           | None Detected             |
| B-11 | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.973           | None Detected             |
| B-12 | 37 mm PTFE | SKC 2097-TD6PASK-223 | <0.5            | 0.973           | None Detected             |

- MUP levels checked in a brand new, never used area at the facility.
- Levels also checked in common areas (halls, cage wash etc.)

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## Rack Performance Validation



## Temperature and Humidity Measurement

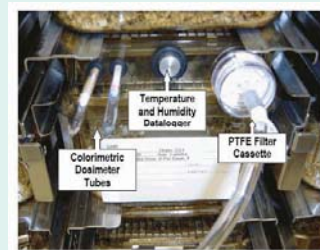
- Method Used:
  - Omega RH-Temp Datalogging Meters
- Method Validation included:
  - NIST Traceable Equipment Calibration.
- Allows assessment over long durations (up to several months)
- Equipment was used in occupied caging.
- Thousands of results were datalogged automatically



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## Rack Sampling and Operation Patterns

- Rack operation regularly verified
- 10 sets of samples per study day
  - 6 sets of in cage measurements
  - 3 sets of rack face race measurements
  - 1 set at 10 feet from rack
- Allentown Inc. Microvent System
  - 140 Cage Unit
  - Run in **Positive** pressure
  - 80% male 20% female
  - 4 animals per cage
  - All cages occupied



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## MicroVent Results – Temperature and Humidity

| MicroVent 140 Cage Rack System (Positive Pressure) |     |                               |                |      | Temperature (°F)   |         |         |  |
|----------------------------------------------------|-----|-------------------------------|----------------|------|--------------------|---------|---------|--|
| Cage                                               | Sex | Run Time                      | Total Readings | Mean | Standard Deviation | Maximum | Minimum |  |
| 1                                                  | M   | 12 Days, 13 Hours, 35 Minutes | 3620           | 73.2 | 0.93               | 77.4    | 71.2    |  |
| 2                                                  | M   | 12 Days, 13 Hours, 40 Minutes | 3621           | 73.9 | 1.09               | 76.8    | 71.2    |  |
| 3                                                  | F   | 12 Days, 13 Hours, 40 Minutes | 3621           | 73.0 | 0.75               | 75.7    | 71.2    |  |
| 4                                                  | F   | 12 Days, 13 Hours, 45 Minutes | 3622           | 73.7 | 0.81               | 77.7    | 71.8    |  |
| 5                                                  | M   | 12 Days, 13 Hours, 45 Minutes | 3622           | 74.5 | 0.95               | 76.8    | 72.3    |  |
| 6                                                  | M   | 12 Days, 13 Hours, 50 Minutes | 3623           | 74.7 | 1.01               | 77.2    | 72.1    |  |

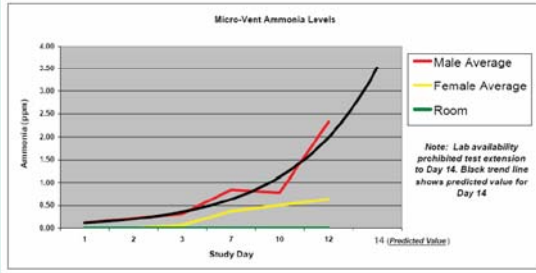
  

| MicroVent 140 Cage Rack System (Positive Pressure) |     |                               |                |      | Humidity (% RH)    |         |         |  |
|----------------------------------------------------|-----|-------------------------------|----------------|------|--------------------|---------|---------|--|
| Cage                                               | Sex | Run Time                      | Total Readings | Mean | Standard Deviation | Maximum | Minimum |  |
| 1                                                  | M   | 12 Days, 13 Hours, 35 Minutes | 3620           | 50.5 | 4.95               | 63.9    | 30.0    |  |
| 2                                                  | M   | 12 Days, 13 Hours, 40 Minutes | 3621           | 50.3 | 4.48               | 61.3    | 33.6    |  |
| 3                                                  | F   | 12 Days, 13 Hours, 40 Minutes | 3621           | 50.2 | 5.01               | 65.4    | 31.9    |  |
| 4                                                  | F   | 12 Days, 13 Hours, 45 Minutes | 3622           | 48.1 | 4.49               | 59.0    | 28.9    |  |
| 5                                                  | M   | 12 Days, 13 Hours, 45 Minutes | 3622           | 50.5 | 4.99               | 63.5    | 31.2    |  |
| 6                                                  | M   | 12 Days, 13 Hours, 50 Minutes | 3623           | 50   | 5.07               | 64.3    | 32.0    |  |

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## MicroVent Results – Ammonia

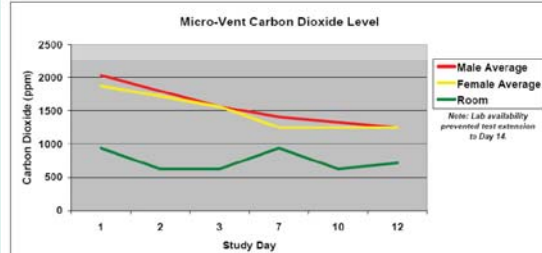
| Study Day | Male<br>Cage 1 | Male<br>Cage 2 | Male<br>Cage 5 | Male<br>Cage 6 | Male<br>Average | Female<br>Cage 3 | Female<br>Cage 4 | Female<br>Average | Room |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------|------|
| 1         | 0.00           | 0.19           | 0.13           | 0.13           | 0.11            | 0.00             | 0.00             | 0.00              | 0.00 |
| 2         | 0.13           | 0.25           | 0.25           | 0.25           | 0.22            | 0.00             | 0.00             | 0.00              | 0.00 |
| 3         | 0.13           | 0.38           | 0.38           | 0.38           | 0.32            | 0.13             | 0.00             | 0.07              | 0.00 |
| 7         | 0.50           | 1.00           | 1.00           | 0.88           | 0.85            | 0.50             | 0.25             | 0.38              | 0.00 |
| 10        | 0.38           | 1.25           | 1.00           | 0.50           | 0.78            | 0.53             | 0.38             | 0.51              | 0.00 |
| 12        | 0.43           | 6.60           | 1.14           | 1.14           | 2.33            | 0.71             | 0.57             | 0.64              | 0.00 |



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## MicroVent Results – Carbon Dioxide

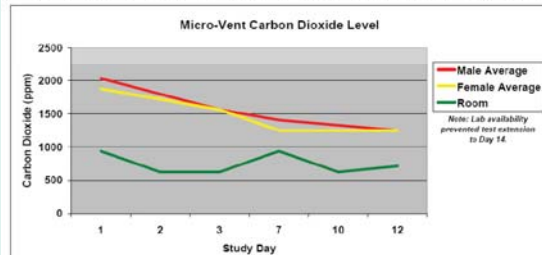
| Study Day | Cage 1<br>Male | Cage 2<br>Male | Cage 5<br>Male | Cage 6<br>Male | Male<br>Average | Cage 3<br>Female | Cage 4<br>Female | Female<br>Average | Room |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------|------|
| 1         | 1875           | 2188           | 1875           | 2188           | 2032            | 1875             | 1875             | 1875              | 938  |
| 2         | 1875           | 2188           | 1563           | 1563           | 1797            | 1875             | 1563             | 1719              | 525  |
| 3         | 1250           | 1875           | 1875           | 1250           | 1563            | 1563             | 1563             | 1563              | 525  |
| 7         | 1250           | 1875           | 1250           | 1250           | 1406            | 1250             | 1250             | 1250              | 938  |
| 10        | 1250           | 1563           | 1250           | 1250           | 1328            | 1250             | 1250             | 1250              | 525  |
| 12        | 1429           | 1429           | 1071           | 1071           | 1250            | 1429             | 1071             | 1250              | 714  |



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## MicroVent Results – Carbon Dioxide

| Study Day | Cage 1<br>Male | Cage 2<br>Male | Cage 5<br>Male | Cage 6<br>Male | Male<br>Average | Cage 3<br>Female | Cage 4<br>Female | Female<br>Average | Room |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------|------|
| 1         | 1875           | 2188           | 1875           | 2188           | 2032            | 1875             | 1875             | 1875              | 938  |
| 2         | 1875           | 2188           | 1563           | 1563           | 1797            | 1875             | 1563             | 1719              | 525  |
| 3         | 1250           | 1875           | 1875           | 1250           | 1563            | 1563             | 1563             | 1563              | 525  |
| 7         | 1250           | 1875           | 1250           | 1250           | 1406            | 1250             | 1250             | 1250              | 938  |
| 10        | 1250           | 1563           | 1250           | 1250           | 1328            | 1250             | 1250             | 1250              | 525  |
| 12        | 1429           | 1429           | 1071           | 1071           | 1250            | 1429             | 1071             | 1250              | 714  |



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## MicroVent MUP Results – Days 7, 10, 12

|      |            |        |        |        |       |         |         |                |
|------|------------|--------|--------|--------|-------|---------|---------|----------------|
| D-1  | Cage 1     | 2929.0 | 2929.0 | 3312.2 | 1.932 | 1714.41 | 1180.13 | 99.90          |
| D-2  | Cage 2     | 478.9  | 478.9  | 842.0  | 1.913 | 231.33  |         |                |
| D-3  | Cage 3     | 765.9  | 765.9  | 855.7  | 1.939 | 441.35  |         |                |
| D-4  | Cage 4     | 2026.3 | 2026.3 | 2859.8 | 1.939 | 1217.87 |         |                |
| D-5  | Cage 5     | 3141.1 | 3141.1 | 3556.7 | 1.918 | 1853.87 |         |                |
| D-6  | Cage 6     | 2179.3 | 2179.3 | 2465.8 | 1.878 | 1313.01 |         |                |
| D-7  | Room 1     | 2.6    | 2.6    | 2.9    | 1.932 | 1.52    | 1.23    |                |
| D-8  | Room 2     | 1.8    | 1.8    | 2.0    | 1.941 | 1.08    |         |                |
| D-9  | Room 3     | 1.9    | 1.9    | 2.2    | 1.924 | 1.12    |         |                |
| D-10 | Air Supply | 1.5    | 1.5    | 1.7    | 1.944 | 0.87    | 0.75    | Not Applicable |
| D-11 | Blank      | -0.50  | -0.50  |        |       |         |         |                |
| E-1  | Cage 1     | 2923.8 | 2923.8 | 3208.7 | 1.944 | 1702.64 | 1182.68 | 99.94          |
| E-2  | Cage 2     | 354.2  | 354.2  | 401.0  | 1.927 | 209.07  |         |                |
| E-3  | Cage 3     | 586.1  | 586.1  | 663.5  | 1.927 | 344.35  |         |                |
| E-4  | Cage 4     | 2008.9 | 2008.9 | 2840.1 | 1.942 | 1465.43 |         |                |
| E-5  | Cage 5     | 2580.1 | 2580.1 | 2920.7 | 1.932 | 1511.74 |         |                |
| E-6  | Cage 6     | 3156.7 | 3156.7 | 3673.4 | 1.914 | 1866.97 |         |                |
| E-7  | Room 1     | 1.6    | 1.6    | 1.8    | 1.933 | 0.96    | 0.75    |                |
| E-8  | Room 2     | 1.2    | 1.2    | 1.4    | 1.954 | 0.70    |         |                |
| E-9  | Room 3     | 1.0    | 1.0    | 1.1    | 1.939 | 0.58    |         |                |
| E-10 | Air Supply | 0.8    | 0.8    | 0.9    | 1.939 | 0.47    | 0.67    | Not Applicable |
| E-11 | Blank      | -0.50  | -0.50  |        |       |         |         |                |
| F-1  | Cage 1     | 637.7  | 637.7  | 721.8  | 1.917 | 276.57  | 582.04  | 99.89          |
| F-2  | Cage 2     | 776.2  | 776.2  | 878.8  | 1.907 | 480.27  |         |                |
| F-3  | Cage 3     | 155.5  | 155.5  | 176.0  | 1.908 | 92.26   |         |                |
| F-4  | Cage 4     | 1629.2 | 1629.2 | 1844.3 | 1.908 | 966.59  |         |                |
| F-5  | Cage 5     | 2239.6 | 2239.6 | 2535.2 | 1.903 | 1332.33 |         |                |
| F-6  | Cage 6     | 431.7  | 431.7  | 488.7  | 1.963 | 262.31  |         |                |
| F-7  | Room 1     | 1.0    | 1.0    | 1.1    | 1.952 | 0.60    | 0.83    |                |
| F-8  | Room 2     | 1.3    | 1.3    | 1.5    | 1.921 | 0.77    |         |                |
| F-9  | Room 3     | 0.9    | 0.9    | 1.0    | 1.905 | 0.53    |         |                |
| F-10 | Air Supply | 0.6    | 0.6    | 0.8    | 1.921 | 0.47    | 0.67    | Not Applicable |
| F-11 | Blank      | -0.50  | -0.50  |        |       |         |         |                |

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## Proceed with Caution

- **Your exposure control plan must include MUP assessment and control practices.**
- **Scrutinize, Scrutinize, Scrutinize**
  - Use certified industrial hygienist or toxicology specialists
  - Data must include a comprehensive description of work
  - Make sure there are no study interferences
  - Make sure study methods are flawless
  - Was the study conducted by a independent “third-party”
- **Beware of statements like “below detectable limits” unless:**
  - You know what the detection limits are...
  - Have a complete report of how the study was conducted....
- **Avoid Marketing Hype:**
  - Smoke Demonstrations – Smoke is not vivarium particulate
  - Computational Fluid Dynamics diagrams are theoretical
  - IVC performance is important but only part of your control plan



© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## Special Thanks!

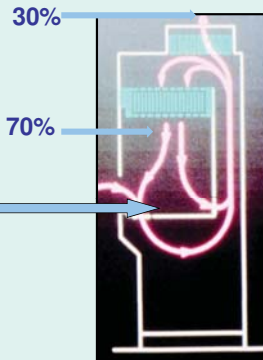
**Peter Brown and the staff at Harvard BRI**  
**Robert Hamilton and the staff at DACI**  
**Michael Coiro and the staff at Allentown Inc.**

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

## Class II Biosafety Cabinet (BSC)

Environment, Personnel,  
and Product protection  
provided by HEPA filtration  
which bathes work area in  
sterile air

70% Re-circulated, 30%  
Exhausted



Proper disposable garb being worn



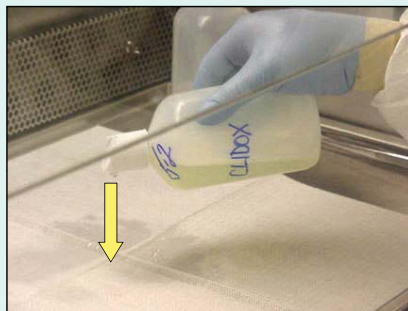
The first fiber towel is placed on BSC work surface



## The second fiber towel is put in place



- Preparation of an aseptic field
- Application of Chlorine Dioxide to sport towel
- Use a fresh solution daily



**Removing a single irradiated cotton sheet for placement into empty sterilized cage**



**Forceps wiped with chlorine dioxide dampened fiber towel prior to transferring mice to clean cage**



**Mouse being transferred via forceps to clean sterilized cage, with new cotton sheet in place**



**Animal Health Technician,  
wearing standard disposable  
garb, including shoe covers  
(double set), Tyvek gown, 3M  
surgical mask\*, and buffon  
cap**

**\*Note- N95 Fitted mask  
may be substituted for  
allergen protection**



### ***Why so much concern?***

- Over 90,000 US Workers Are At-Risk\*
- Over 30,000 UK Workers Are At Risk\*
- Thousands More in Other Countries
- Most Employed At “Cutting Edge” Institutions
- Prevalence Varies:
  - ~ 25% Report Symptoms, ~15% Have Positive PST)\*
- Direct and Indirect Costs Include:
  - Lost Work Days, Medical Costs, Career Interruption,  
Litigation, Training Costs, Loss of Experienced Employees

\* Bush and Stave, “Laboratory Animal Allergy – An Update” ILAR Journal, Volume 44, Number 1, 2003

© 2007 – Safety Synergy, LLC, Allentown Inc. – Unauthorized use or distribution of this presentation is strictly prohibited without written consent.

# Importanza dei protocolli di manutenzione in una animal facility

*Marco Bagno - GlaxoSmithKline, Verona*

L'importanza dei protocolli di manutenzione in una Animal Facility può sembrare argomento interessante ma abbastanza scontato, ovvio, al massimo paragonabile a quanto previsto in alcune aree e/o sistemi critici di altri settori industriali.

Quando però lo si associa alla complessità di una Animal Facility, alle relative procedure di gestione oltretutto di manutenzione impiantistica, alle rigide e singolari condizioni ambientali richieste dalla contemporanea presenza di diversi tipi di animali, alle molteplici attività scientifiche svolte all'interno della stessa area con interferenza diretta verso l'ambiente circostante, alle svariate attività di supporto con impatto diretto su sistemi ed attrezzature strettamente legate all'operatività scientifica, alle varie "catene di controllo" dei diversi processi manutentivi, si intuisce che il termine "protocollo di manutenzione" assume grande rilievo per tutte le attività di una Animal Facility, vista quest'ultima come insieme.

Gli stessi processi manutentivi, inoltre, sono processi multi-steps, quindi spesso eseguiti da persone diverse in fasi diverse, e naturalmente gli stessi attori possono essere sia interni che esterni in tali attività. Per quanto riguarda l'interno si tratta di manutenzioni e set-up, quindi di affinamenti fatti dagli stessi ricercatori piuttosto che dai tecnici di laboratorio che operano con loro magari in tempi diversi, di funzioni di supporto eseguite dagli operatori stessi della sala di controllo che oltre a gestire gli impianti operano anche all'interno delle manutenzioni per le attività di settaggio molto fine, e naturalmente di quelle che sono le attività interne di officina elettrica, meccanica e quant'altro. Non sono da meno i supporti esterni quali i fornitori abituali dei servizi, i cosiddetti partners che quotidianamente lavorano e gestiscono anche in queste attività, contrattisti abituali che intervengono con contratti specifici e fornitori ad hoc, specialisti chiamati in occasioni molto particolari.

I protocolli di manutenzione riguardano: impianti - di condizionamento inteso in questo caso come flussi di mandata e di estrazione, di controllo delle pressioni differenziali nel contenimento delle aree, di condizioni ambiente intese come temperatura e umidità, di filtrazione, cappe chimiche nonché biohazard e prove di contenimento. Impianti di pulizia naturalmente e altri non meno critici nella gestione complessiva di un'area qual è l'animal facility - ; macchinari – autoclavi, lavagabbie, box UV – ; utilities - quali impianti di abbeverazione e l'impianto di vapore pulito essenziale nelle attività a supporto - e alcuni sistemi dedicati quale il sistema LUX, così chiamato dagli operatori, per la gestione del ciclo di illuminazione giorno-notte all'interno delle varie aree di stabulazione.

Se analizziamo quelle che sono le procedure di riferimento a cui ci si rivolge troviamo le imposizioni di legge (norme, decreti, norme GMP e GXP), le imposizioni specifiche (AAALAC), le norme interne (SOP, linee guida e politiche in generale sviluppate all'interno dell'azienda), le schede tecniche e naturalmente le raccomandazioni del costruttore, e non da ultimo l'esperienza aziendale e sul campo. Per entrare un po' più nel concreto, vi presento un case study relativo all'impianto di condizionamento, il quale parte dalla classificazione delle aree, come detto prima una delle prime caratteristiche è la complessità logistica. Le aree, nel nostro Centro Ricerche, sono classificate in base al loro utilizzo e alle caratteristiche e si dividono quindi in aree comuni – corridoi, magazzini, spogliatoi ed altro – aree convenzionali normali, che sono relative alla stabulazione, viceversa aree convenzionali ad alta filtrazione, per la stabulazione con caratteristiche molto più specifiche e molto più stringenti come impianti di risonanza magnetica di tipo imaging e i laboratori di ricerca. Inoltre un'area molto ampia detta in gergo SPF, Specific Pathogen Free, che è un'area con filtrazione assoluta per attività particolari. Brevemente passando alle caratteristiche, la specificità di queste aree è molto dissimile o perlomeno presenta delle peculiarità di cui i protocolli di manutenzione devono tenere conto e differenziarsi per questo.

Come si può vedere anche solo riferendosi alla filtrazione, si riscontra una netta differenza tra aree comuni, aree ad alta filtrazione e specifiche. Lo stesso vale per le condizioni di temperatura e umidità che possono variare da un range elevato ad un range molto più ristretto. (Fig.1)

| Case study: impianto di condizionamento - 2                                                                  |                                                                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| <b>Caratteristiche</b>                                                                                       |                                                                         |
| <b>• Aree comuni: filtrazione 85%</b><br>Trattamento termo-igrometrico normale:                              | T=20°C ± 1°C (inverno)<br>T=26°C ± 1°C (estate)<br>H=50% ± 10% (sempre) |
| <b>• Aree convenzionali normali: filtrazione 85%</b><br>Trattamento termo-igrometrico spinto:                | T=20°C ± 1°C (sempre)<br>H=50% ± 5% (sempre)                            |
| <b>• Aree convenzionali ad alta filtrazione: filtrazione 95%</b><br>Trattamento termo-igrometrico spinto:    | T=20°C ± 1°C (sempre)<br>H=50% ± 5% (sempre)                            |
| e talvolta dedicato:                                                                                         | T=25°C ± 1°C (sempre)<br>H=50% ± 5% (sempre)                            |
| <b>• Aree SPF (Specific Patogen Free): filtrazione HEPA 99,999%</b><br>Trattamento termo-igrometrico spinto: | T=20°C ± 1°C (sempre)<br>H=50% ± 5% (sempre)                            |

Al fine di ottenere e mantenere determinati livelli dobbiamo basarci sui sistemi di controllo. Va premesso che nelle aree di stabulazione l'impianto di condizionamento è sempre "a giorno", quindi funziona sempre al 100%, per garantire sia il benessere ambientale che il mantenimento e il controllo dei delta-p, che abbiamo visto essere una condizione assolutamente indispensabile all'interno di una animal facility. La tipologia di controllo e di regolazione variano di volta in volta a seconda delle aree, per il controllo della temperatura ad esempio, si passa da un controllo e una regolazione con un termostato locale nelle aree comuni ad un controllo con regolazione remoti, quindi direttamente dalla sala controllo con impianti e sistemi di tipo elettronico.

In merito alla strumentazione e alla regolazione è importante capire che nonostante la criticità sia diversa all'interno delle diverse aree, tutte sono a rischio, quindi la qualità degli strumenti installati deve essere indifferentemente elevata all'interno di esse. Cambia invece la tipologia dei sistemi ed impianti di regolazione. (Fig. 2)

| Case study: impianto di condizionamento - 5                                                                                                                                                                                                                                            |  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>Esempio</b>                                                                                                                                                                                                                                                                         |  |
| <b>Strumentazione</b>                                                                                                                                                                                                                                                                  |  |
| <b>• Sonde di Temperatura</b>                                                                                                                                                                                                                                                          |  |
| Sono uguali in ogni area. Annualmente vengono verificate tramite confronto con sonda campione certificata, in accordo alle modalità descritte dal protocollo, ed eventualmente ri-calibrate.                                                                                           |  |
| <b>Regolazione</b>                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <b>• Termostato</b>                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |
| <b>Aree comuni:</b> la verifica è di tipo indiretto, mediante rilievo della temperatura del locale con termometro certificato e confronto con il set del termostato ed eventuale ri-calibrazione.                                                                                      |  |
| <b>Aree convenzionali e SPF:</b> regolazione elettronica da sala controllo, con verifica sia dell'integrità del loop di regolazione che della temperatura letta da sistema rispetto a quella rilevata in campo che dell'attivazione di un allarme per ΔT superiore al limite previsto. |  |

Arriviamo quindi ai protocolli di manutenzione, per capire le caratteristiche in generale quali sono. La manutenzione è naturalmente di tipo predittivo per tutte le aree. Si differenzia solo per modalità e tempistiche, quindi con frequenze diverse tra di loro. La lista della strumentazione e dei sistemi/impianti, relativi alla facility, è raccolta in un'apposita procedura che ha una revisione annuale e che comunque viene aggiornata in occasione di ogni variazione in campo. La pianificazione degli interventi di manutenzione viene gestita tramite SAP, che è un sistema validato GMP. Questo rappresenta una chiave di volta per quel che riguarda una animal facility all'interno di una azienda farmaceutica, in quanto risponde all'esigenza di garantire per qualunque ispezione e richiesta che l'impianto sia validato. Tra l'altro il sistema provvede a gestire il calendario degli interventi, ad archiviare tutti i protocolli di manutenzione, ad emettere quindi quotidianamente gli ordini di lavoro e, assieme agli ordini, a rendere disponibili quelli che sono i relativi protocolli. Non ultimo a recepire l'avvenuto completamento dei singoli ordini e soprattutto a gestire le non conformità fino alla loro soluzione. Fatte tutte queste premesse, quindi avendo effettuato una classificazione precisa delle varie aree, avendo delle caratteristiche ben definite per ognuna, garantendo sistemi di controllo calibrati ed in ordine, quindi capaci di rispondere ai requisiti-utente, avendo messo in campo delle strumentazioni di elevata qualità e con un sistema di gestione della manutenzione anche validato, possiamo dire che i rischi specifici di una animal facility sono annullati? La domanda è lecita e la risposta in questo caso è abbastanza ovvia: annullati naturalmente no, ma mitigati sì. Di conseguenza a questo punto ci si dovrà chiedere quali sono le attività che hanno un maggiore impatto e vanno considerate con particolare attenzione nella gestione di una animal facility. Personalmente non ho dubbi sul fatto che la risposta è le attività di supporto. Parliamo di attività di gestione del materiale di stabulazione (gabbie, bottiglie, vassoi e quant'altro), attività di svuotamento, lavaggio e sterilizzazione degli stessi materiali mediante autoclavi, che richiedono un'esecuzione perfetta e completa. La sostituzione delle lettiere, la disinfezione dei sistemi di abbeverazione, la stessa banalissima pulizia e disinfezione dei pavimenti delle aree di stabulazione ha un rischio che è veramente rilevante se non è effettuata nella maniera opportuna. La raccolta di vestiario sporco, il rinnovo dei fogli di tappeti battericidi, la disinfezione mediante panno imbevuto di disinfettante dei Box-UV, la sostituzione dei filtri dell'impianto di sterilizzazione dell'acqua. I rischi derivanti da una esecuzione non adeguata di tali attività sono molteplici e di varia natura: allergie, focus di questo convegno, contaminazione, interruzione possibile del servizio, invalidazione di un test o di uno studio. Considerando le attività di supporto alla ricerca farmaceutica i rischi possono scaturire per esempio da un'attività condotta male, nel caso di lavaggio e disinfezione non accurati, è chiaro che una possibile causa potrebbe essere la mancanza di addestramento. Da un'attività incompleta, come la preparazione o sostituzione di attrezzature fatta in modo parziale la cui causa si può ricondurre a risorse insufficienti di chi esegue questa attività, spesso e volentieri una società esterna all'azienda. Da attività rese in ritardo, quindi materiale non disponibile per tempo, e anche qui una possibile causa è la mancanza di una corretta e adeguata pianificazione delle attività. In ultimo da un'attività non eseguita, ad esempio gabbie e bottiglie non lavate, attribuibile ad una mancata responsabilizzazione da parte degli operatori e dei loro manager che sono esterni. Pertanto bisogna individuare quali controlli possono essere attuati a garanzia, che per le attività di supporto, tutte le attrezzature e le strumentazioni siano adeguate ad esse. Sicuramente una delle tipologie di controllo più efficace è l'attività di audit, che è una verifica tecnica puntuale di quelle che sono le attività definite nel capitolato tecnico d'appalto, quindi è un'attività che va prevista in fase di appalto e riferita alla quantità, qualità e rispetto dei tempi delle attività che sono state appaltate. Per rimanere all'esempio concreto, in GSK Verona l'audit alle attività di supporto avviene con una cadenza fissa trimestrale e si svolge coinvolgendo alcuni ricercatori, sempre diversi tra loro, per garantirne l'oggettività. L'audit prevede l'utilizzo di alcuni questionari composti da una serie di verifiche da effettuare per ogni attività. L'esito di ogni verifica viene valutato con un punteggio. Il punteggio medio di ogni questionario alla fine, media delle valutazioni di tutte le verifiche, concorrerà a formare il punteggio dell'audit.

In passato molte volte sono stati effettuati degli audit che hanno dato una giusta valutazione delle attività svolte, hanno fatto emergere il reale rischio delle attività all'interno di una animal facility. Le soluzioni a tale proposito possono essere molteplici e per concludere ve ne accenno due:



GlaxoSmithKline

## Attività' di supporto: quali soluzioni ?

1. Legare la quota variabile del contratto al punteggio medio dell'Audit.  
(a tale scopo il contratto per la fornitura delle Attività' di Supporto prevede le seguenti condizioni economiche:
  - quota fissa (in 12 rate mensili)
  - quota variabile (**legata al risultato dell'Audit !!**)
2. Pianificare alcuni incontri con il personale addetto alle Attività' di Supporto per
  - addestramento tecnico
  - **responsabilizzazione e motivazione**

# Monitoraggio degli allergeni: esperienza in animal facility di ricerca

*Jessica Tibasco - GlaxoSmithKline, Verona*

La presentazione è suddivisa in 2 parti:

- una parte iniziale generale di descrizione degli aspetti connessi alle allergie animali ed ai relativi sistemi di controllo;
- una seconda parte connessa alle attività di monitoraggio eseguite all'interno dello stabulario e nelle aree esterne adiacenti e gli esempi dei miglioramenti apportati in due specifiche aree.

I dati in letteratura evidenziano che la percentuale di lavoratori aventi sintomi connessi agli allergeni animali è nell'ordine del 15-30%.

La possibilità di fenomeni allergici più importanti con sviluppo di asma si abbassa al 5-10%.

In generale l'incidenza dei sintomi delle allergie tende ad aggravarsi al permanere della persona a contatto con la fonte allergizzante. Risulta perciò estremamente importante prevenire ed eventualmente riconoscere nel più breve tempo possibile i sintomi per gestire il rischio e permettere alla persona di poter continuare a lavorare in condizioni di sicurezza.

È fondamentale ricordare che la valutazione deve assolutamente tenere in considerazione non solo gli aspetti di sicurezza e salute, ma anche l'impatto di un eventuale demansionamento con perdita dell'expertise acquisita. Ciò assume una rilevanza ancora più forte se parliamo di ricercatori che si sono focalizzati su questo tipo di carriera. Per cui la stretta collaborazione tra il Medico competente ed il Servizio di Prevenzione risulta essere cruciale.

I sintomi comuni di allergia (LAA) sono:

- Occhi lacrimanti
- Scolo nasale
- Naso chiuso
- Starnuti
- Emicranie
- Tosse
- Difficoltà respiratoria
- Respiro a fischio
- Fiato corto
- Eruzioni cutanee
- Grave reazione allergica: shock anafilattico

Nei training è necessario sottolinearli al fine di permettere il loro riconoscimento precocemente.

In letteratura è riportato che statisticamente i più colpiti sono i tecnici di laboratorio che sono maggiormente a contatto con animali e lettieri, a seguire gli altri lavoratori. Inoltre, anche se la più rilevante incidenza di sintomi tende a comparire nei primi due anni di attività, si possono evidenziare dei fenomeni di sensibilizzazione anche dopo molti anni di lavoro a contatto con animali.

Ciò che è assodato è che vi è una diretta proporzionalità tra esposizione ad allergeni e rischio di sviluppo di LAA. Vi sono, invece, posizioni contrastanti per quanto riguarda gli aspetti di predisposizione genetica, pregresse allergie, atopia e fumo.

L'esposizione ad allergeni animali può avvenire per contatto con o inalazione di proteine presenti nelle:

- urine

- forfora/peli
- siero
- saliva

Le lettiere rappresentano un veicolo importante per la propagazione di allergeni e quindi la scelta deve tenere conto non solo degli aspetti di benessere dell'animale, ma anche degli aspetti di polverosità e non tossicità per gli operatori.

In generale una buona valutazione e gestione dell'eventuale rischio residuo, deve seguire la filosofia alla base della "Gerarchia dei Controlli". Sono identificabili normalmente sei diversi tipi di controlli:

1. Eliminazione sostanza
2. Sostituzione sostanza
3. Contenimento mediante sistemi ingegneristici
4. Controlli amministrativi (istruzioni, training, ecc.)
5. Norme di comportamento (es. buone pratiche)
6. Dispositivi Protezione Individuale (DPI)

Ovviamente è un processo in cui i diversi punti riportati sono presenti e strettamente connessi. I DPI risultano essere l'ultima scelta, quando il rischio residuo non può essere eliminato in nessun altro modo.

Qual'è lo scopo dei monitoraggi eseguiti in R&D Verona?

Nella slide è riportato un breve riassunto delle dimensioni e dei regimi pressori nello Stabulario. Il numero di ricambi ora ed i regimi pressori hanno il duplice scopo di proteggere l'operatore e di salvaguardare il welfare degli animali.



## STARTING POINT

● L'area Stabulari in R&D Verona è in un unico piano:

- personale operante ~ 80
- ampiezza area 5000 m<sup>2</sup>
- area nord a pressione positiva nelle stanze animali (+) e nel corridoio pulito (++), pressione zero nel corridoio sporco
- area sud tutta a pressione positiva, corridoi (++), stanze di stabulazione zero, stanze sperimentazione (+)
- area di lavaggio gabbie pressione negativa, spogliatoi pressione zero
- arrivo animali pressione negativa
- ventilazione generale ~ 15 -20 ricambi l'ora.

Nel 2000 è iniziata una survey mondiale in tutti i siti R&D.

Lo scopo è stato quello di:

- definire e valutare tramite monitoraggi igienistici gli stabulari
- eventualmente migliorare e rafforzare i sistemi di controllo esistenti in funzione dei dati ottenuti
- implementare le valutazioni dei rischi esistenti e soprattutto armonizzare le strategie di controllo degli allergeni nei diversi siti.

Da un punto di vista scientifico è stato dimostrato che l'urina di topi e ratti adulti, i maschi secernono quantità di allergeni 4 volte superiore alle femmine, risulta essere una fonte importante di allergeni, molti dei quali appartengono alla superfamiglia delle glicoproteine lipocaine che sono coinvolte nel trasporto di sostanze a basso peso molecolare.

Per quanto riguarda il campionamento personale e statico esistono metodi standard, mentre per l'analisi degli stessi esistono più metodi. In realtà questo campo è in continua evoluzione, dei metodi comunemente usati, in particolare l'IOM test ed il KI sono quelli più comunemente diffusi per l'attendibilità dei risultati.

È importante sottolineare che, diversamente dai monitoraggi chimici dove esistono dei limiti ufficiali legislativi sia in Italia che in Europa e nel mondo, per quanto riguarda i LAA tale limite non è stato ufficialmente pubblicato. Questo può essere attribuibile anche alla difficoltà di definire un limite al di sotto del quale non vi possa essere una risposta allergica.

Comunque in letteratura e a livello della comunità mondiale degli Igienisti Industriali, si ritiene che un  $OEL < 5 \text{ ng/mc}$  permetta un adeguato controllo della LAA.

A Verona sono stati utilizzati sia l'IOM che il KI test per l'analisi dei campioni ed a livello WW è stato commissionato uno studio per la comparazione di tutti i dati ottenuti con questi due metodi di analisi.

Il campionatore usato è lo IOM SKC con filtri Sartorius in PTFE (Politetrafluoroetilene) da 25 mm ed il flusso aspirato è pari a 2 l/min.

I monitoraggi eseguiti a Verona hanno avuto come scopo la valutazione dei sistemi di controllo ingegneristici in essere unitamente ad una valutazione delle operatività e dei relativi aspetti procedurali.

Sono stati raccolti 70 campioni tra monitoraggi personali e statici durante le normali attività sperimentali (cambi gabbia, chirurgie, autopsie, studi comportamentali) e campionamenti statici, nelle aree interne e limitrofe allo stabulario (corridoi, uffici, spogliatoi, ecc.).

Da questa prima Survey si è potuto concludere che il sistema è integro e ben funzionante visto che si sono evidenziate:

- 1) basse concentrazioni di allergeni sia durante le attività di stabulazione, che durante le attività di ricerca (chirurgie, autopsie, ecc)
- 2) basse concentrazioni di allergeni negli uffici, corridoi e spogliatoi a conferma che i sistemi di controllo ingegneristici ed i relativi controlli pressori funzionano in modo adeguato, così come i controlli procedurali e comportamentali.

I dati hanno inoltre dimostrato due aspetti critici relativamente alle attività di pulizia gabbie ed al ricevimento animali, come in realtà ci si aspettava.

A livello di standard aziendale WW, si definiscono 3 livelli nel controllo degli allergeni:

- Basso se  $< 5 \text{ ng/mc}$
- Medio se tra 5 e 50 ng/mc
- Alto se  $> 50 \text{ ng/mc}$

Le azioni intraprese per l'area di lavaggio gabbie sono state molteplici.

È stato eseguito uno studio di microclima secondo le due norme tecniche UNI EN ISO 7933 ed UNI EN ISO 7730, visto che qualitativamente si era percepita una condizione di discomfort sia in termini di umidità che di temperatura. Ovviamente ciò comportava da parte degli operatori dell'area una maggiore difficoltà nel seguire le regole di vestizione obbligatorie.

Sono stati fatti dei monitoraggi gravimetrici per misurare l'esposizione del personale alla polverosità delle lettiere (veicolo per la diffusione degli allergeni animali).

Tutti questi dati, hanno permesso di attuare i miglioramenti sotto riportati:

- variazioni strutturali e di aspirazione sulla cappa per lo scarico delle gabbie
- modifiche tecniche sulla macchina lavagabbie di ventilazione.

I monitoraggi condotti dopo l'attuazione delle modifiche hanno permesso di raggiungere un livello basso in termini di concentrazione di allergeni e condizioni di microclima soddisfacenti (da 67% di insoddisfatti si è raggiunto un valore inferiore al 20%, non ulteriormente abbassabile visto l'obbligo dei Dispositivi di protezione individuale).

L'attività di ricevimento animali monitorata veniva eseguita in un corridoio definito con relativo svuotamento delle scatole di ricevimento nell'area lavagabbie e finale eliminazione delle stesse.

In virtù dei risultati ottenuti con la Survey sono state attuate delle importanti modifiche sia tecniche che operative.

Più precisamente il ricevimento delle scatole con gli animali è svolta in una stanza limitrofa al magazzino ricevimento merci. Nella stessa stanza viene eliminato il filo di chiusura delle scatole e le stesse, tramite una bussola chiusa di passaggio, arrivano in una cappa biohazard di classe II. All'interno della cappa avviene il passaggio degli animali nelle gabbie ed il ripassaggio delle scatole nella precedente stanza per la sigillatura e conferimento del rifiuto per incenerimento. Le gabbie vengono poi distribuite nelle diverse stanze di stabulazione tramite l'uso di armadi carrellati chiusi.

Tali cambiamenti hanno permesso il passaggio da un livello alto ad un livello basso di allergeni inferiore a 5 ng/mc.

La survey ha permesso anche di valutare il sistema di training, le procedure esistenti ed il sistema di gestione dei rifiuti.

Sono state riviste sia le categorie che la tipologia dei contenitori ed è stata modificata la relativa procedura con inserimento di un allegato esplicativo con foto per permettere un'ideale gestione degli stessi.

È stato introdotto un training in collaborazione tra il LAS ed il Servizio Prevenzione e protezione sulle zoonosi/LAA per tutti i new starter (nuovi assunti, stagisti, studenti, interinali, ecc.), così come sulle buone pratiche di lavoro e gli aspetti etici gestito internamente dal LAS. Vengono eseguiti annuali refresher training su LAA o qualora si evidenzino da ispezioni o a casua di incidenti un calo di attenzione su tali aspetti.

Va ricordato che tutto il personale della manutenzione operante nello stabulario segue un training su LAA e viene istruito sulle regole vigenti all'interno dello Stabulario.

Inoltre è stato introdotto il fit test per mascherine usa e getta per tutte le persone operanti nell'area.

Il fit Test permette qualitativamente di dimostrare se la mascherina è stata indossata correttamente o meno. Tale valutazione viene eseguita nebulizzando una soluzione di saccarina all'interno del cappuccio con la contemporanea esecuzione di una serie di esercizi definiti all'interno del HSE inglese (282/28) che mimano i normali comportamenti e movimenti di una persona che usa una mascherina durante il lavoro.

Il test viene eseguito a tutti i new starter ed alle persone operanti della manutenzione e viene poi ripetuto con cadenza biennale, salvo modifiche conformazionali della persona stessa o eventualmente altre cause.

Specificatamente nella nostra realtà ha permesso di selezionare una mascherina che soddisfa il 95% degli utenti dando inoltre una maggiore consapevolezza sull'importanza di un uso corretto della mascherina per avere un'ideale protezione laddove non sia possibile una soluzione tecnica.

Concludendo, le valutazioni e relativi monitoraggi igienistici hanno permesso di rivalutare il sistema in essere ripercorrendo la gerarchia dei controlli e razionalizzando il processo. Sono perciò risultati un ottimo strumento per attuare dei miglioramenti importanti sia da un punto di vista della sicurezza che della salute.

# Gestione del rischio e controllo delle LAA in una drug discovery company

*Luca Nelli - Siena Biotech, Siena*

La presentazione è indirizzata alla descrizione del sistema di prevenzione e gestione del rischio LAA predisposto in Siena Biotech. Saranno inoltre esposti i risultati ottenuti, ad oggi, con il monitoraggio sugli allergeni nella animal facility.

Come abbiamo già sentito dai precedenti speakers il controllo e la gestione del rischio di LAA presenta grandi difficoltà. Per condizioni oggettive, legate alla mancanza di specifiche normative o regolamenti, di metodi di valutazione del rischio, di monitoraggio, di sorveglianza sanitaria sul personale ed anche per particolari conflitti che possono crearsi tra le procedure operative di animal care e le procedure di protezione del personale.

Per condizioni legate al soggetto, quale la diversa suscettibilità che ogni persona può avere ad allergeni animali e per mancanza delle dovute competenze. Una Drug Discovery Company può aggiungere a tutto questo, elementi che fanno aumentare la complessità della gestione del rischio LAA. Complessità dovute, ad esempio, alle grandi variazioni e discontinuità che hanno i cicli di lavoro nel giornaliero o alla flessibilità necessaria per soddisfare picchi di lavoro o per sviluppare nuovi modelli sperimentali. La presenza e la frequenza nell'animal facility di persone aventi differente background formativo e personale esterno, quali ad esempio studenti, stagisti, concorrono ad accrescere ancora questa complessità. Dall'altro lato, tuttavia, esistono quelle che abbiamo indicato come opportunità per il controllo e la gestione del rischio LAA:

- Un impegno dell'azienda verso la prevenzione ed il controllo dei rischi, enunciato anche nella Politica di salute sicurezza ed ambiente.
- L'esistenza e la disponibilità di soluzioni ingegneristiche, di contenimento e di protezione del personale.
- La possibilità della sorveglianza sanitaria per il personale addetto.
- La disponibilità di metodi e kits per poter eseguire rilievi, monitoraggi, sui livelli di allergeni in ambiente di lavoro e per determinare i livelli di esposizione di particolari mansioni o attività a rischio e di poterne, così, seguire il trend temporale.

Comunque, la sensibilizzazione e la LAA può essere prevenuta con un'adeguata metodologia e strategia di controllo.

Nella considerazione di queste complessità e di queste opportunità, la nostra azienda ha sviluppato un proprio sistema di valutazione e gestione del rischio LAA.

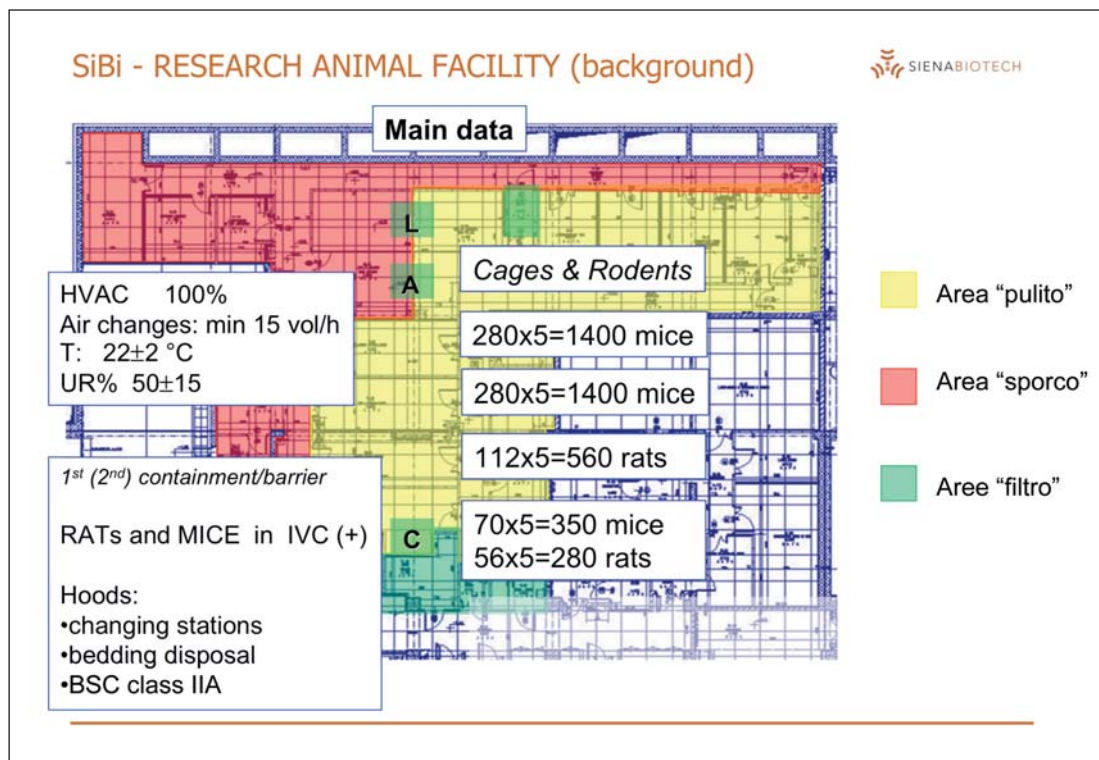
Prima, alcuni dati principali inerenti l'animal facility.

In linea generale, la struttura e l'organizzazione dello stabulario sono finalizzate al raggiungimento, tra altri, dei seguenti obiettivi:

- Mantenimento dello stato sanitario e delle condizioni di benessere degli animali
- Tutela della salute degli operatori che esercitano attività lavorative all'interno dello stabulario e degli operatori che, pur non accedendo in modo continuativo alla struttura di stabulazione, possono essere esposti indirettamente ai rischi correlati all'utilizzo dell'animale ad esempio agli allergeni.

L'area complessiva ha un lay-out tipico con doppio corridoio, è suddivisa in "Area Sporca" e "Area Pulita" come evidenziato in figura. I locali di stabulazione sono suddivisi per specie e per tipologia di animale. È presente un locale di arrivo animali e di quarantena. Sono state predi-

sposte separate zone filtro di ingresso/uscita di materiali e personale in entrambe le aree: “sporca” e “pulita”.



Il sistema di ventilazione/condizionamento è del tipo a “tutt’aria” con ricambio al 100% senza ricircolo d’aria, neanche parziale. In ogni locale vi è una portata aria in mandata costante, con un minimo di 15 ricambi/ora nei locali di stabulazione, nei laboratori annessi e nei corridoi. Le condizioni microclimatiche di temperatura ed umidità mantenute in un range controllato.

Fin dalla progettazione della facility sono stati adottati specifici sistemi di barriera e contenimento primario e secondario, con l’obiettivo rivolto all’animal welfare ma contestualmente anche al limitare il più possibile la diffusione negli ambienti di lavoro degli allergeni animali, soprattutto durante quelle operazioni che sono ormai riconosciute universalmente più a rischio di esposizione: cambio gabbia, svuotamento lettieri, manipolazione animali.

La stabulazione ed il mantenimento degli animali avviene solamente all’interno di gabbie isoventilate Individually Ventilated Cages (IVC), le operazioni, quali il cambio gabbia, lo svuotamento della lettiera o la manipolazione degli animali, vengono eseguite in specifiche e dedicate cappe aspiranti che consentono la protezione degli operatori e dell’ambiente di lavoro.

Nella definizione del sistema di valutazione e gestione del rischio LAA ciò che abbiamo fatto non è stato altro che acquisire la letteratura disponibile e le esperienze riportate da altri Autori, contestualizzandolo alla realtà della nostra azienda.

Abbiamo cercato di creare un sistema che (fig. 1 e 2):

- permettesse un’immediata individuazione di eventuali sintomi di sensibilizzazione del personale, attraverso una specifica sorveglianza sanitaria periodica, ma anche creando la necessaria consapevolezza nel personale interessato. Il personale deve essere informato sulla sintomatologia e sulla LAA in modo che possa nell’immediato riconoscere e far presente eventuali problematiche;

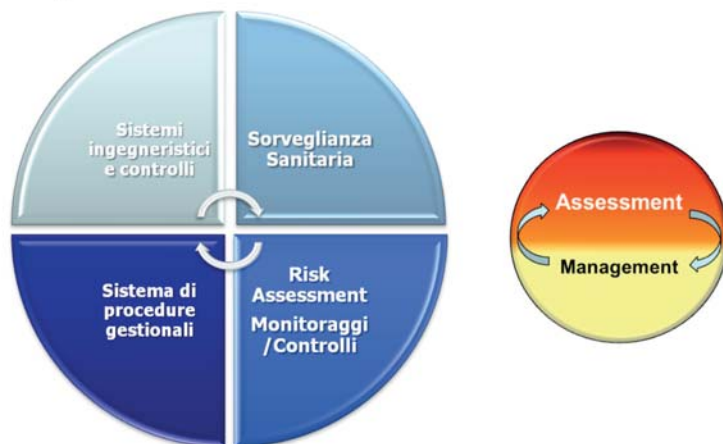
## RISK MANAGEMENT (1)



- operasse in termini di prevenzione del rischio: partendo, come abbiamo visto, dalla progettazione della facility e dalla scelta delle opportune equipments da adottare. Dalla definizione dell'organizzazione del lavoro, sviluppando quelle che sono le procedure operative delle attività di stabulario in genere e quelle specifiche legate ad operazioni più a rischio di esposizione allergeni, come, ancora, lo svuotamento delle lettiere e la raccolta dei rifiuti, il cambio gabbia, le fasi sperimentali e così via. Fondamentale, nella parte di prevenzione del rischio, è ancora la formazione del personale.

## RISK MANAGEMENT (2)

Su tali basi e con tali scopi, si è sviluppato un sistema di prevenzione e controllo composto da



Il sistema è “chiuso” dalle attività di controllo dei livelli di allergeni. Cioè da un programma di determinazione della concentrazione di specifici allergeni di origine animale negli ambienti di stabulario: da noi stabilito sia perché può fornire una “indicazione” di esposizione, sia perché può essere un modo per verificare le performance delle procedure e dei sistemi adottati.

I quattro pilastri che compongono il sistema totale di gestione sviluppato sono quindi:

- le scelte di ingegneria e di controllo
- la sorveglianza sanitaria
- la valutazione del rischio ed il monitoraggio degli allergeni
- le procedure gestionali

Vediamo una descrizione sintetica di ognuno di essi:

Relativamente alle scelte di ingegneria siamo stati agevolati dal fatto che la animal facility è di nuova realizzazione ed è stato possibile, quindi, progettarela adeguatamente partendo dall’analisi dei cicli di lavoro e definendo, così, in modo funzionale il lay-out, la successione dei vari locali e laboratori, l’impiantistica generale.

Nella prevenzione e controllo del rischio di allergie e dell’esposizione ad allergeni è di fondamentale importanza l’adozione di sistemi di contenimento primario in grado di limitarne al minimo la diffusione nell’ambiente di lavoro (locali di stabulazione o locali laboratorio). A questo scopo le IVC hanno proprietà di contenimento ben superiori a gabbie di tipo tradizionale. La scelta su cui ci siamo indirizzati è stata quella di realizzare un contenimento a livello di gabbia, adottando solo gabbie isoventilate, IVC.

Parafrasando il decreto legislativo 81/08, abbiamo adottato scelte che riducono i rischi alla fonte e danno priorità alle misure di protezione collettiva rispetto a quelle di protezione individuale. Inoltre sono stati pianificati sistemi di controllo degli accessi, per consentire solo alle persone autorizzate e, quindi, formate adeguatamente e sotto sorveglianza sanitaria, di poter accedere alla facility. Un programma di manutenzione periodica e preventiva, sia per gli impianti generali che per le attrezzature specifiche volto ad accertarne il corretto funzionamento ed il mantenimento delle performance di contenimento originarie per il controllo dell’esposizione agli allergeni animali. Questi sistemi non includono solamente le cappe biohazard o le cabine di svuotamento lettiera o cambio gabbia, ma anche i sistemi centralizzati di ventilazione (HVAC) e i contenimenti primari come le gabbie IVC. Del sistema fa parte anche una procedura di cui ci siamo dotati per gestire i cambiamenti infrastrutturali. Ogni cambiamento della infrastruttura o l’adozione di nuove attrezzature viene preventivamente analizzato dalle funzioni coinvolte (il servizio di prevenzione e protezione, il settore ingegneria e l’utente) contestualmente, per verificare l’impatto delle modifiche previste sul controllo in essere delle LAA.

Per quanto riguarda il “pilastro” della sorveglianza sanitaria, ovviamente, visite preventive per la mansione specifica e visite periodiche. Ogni persona che deve svolgere attività in Animal Facility o con animali come componente del loro lavoro, è tenuta a completare un controllo sanitario preventivo all’inizio attività/mansione e periodico su base regolare.

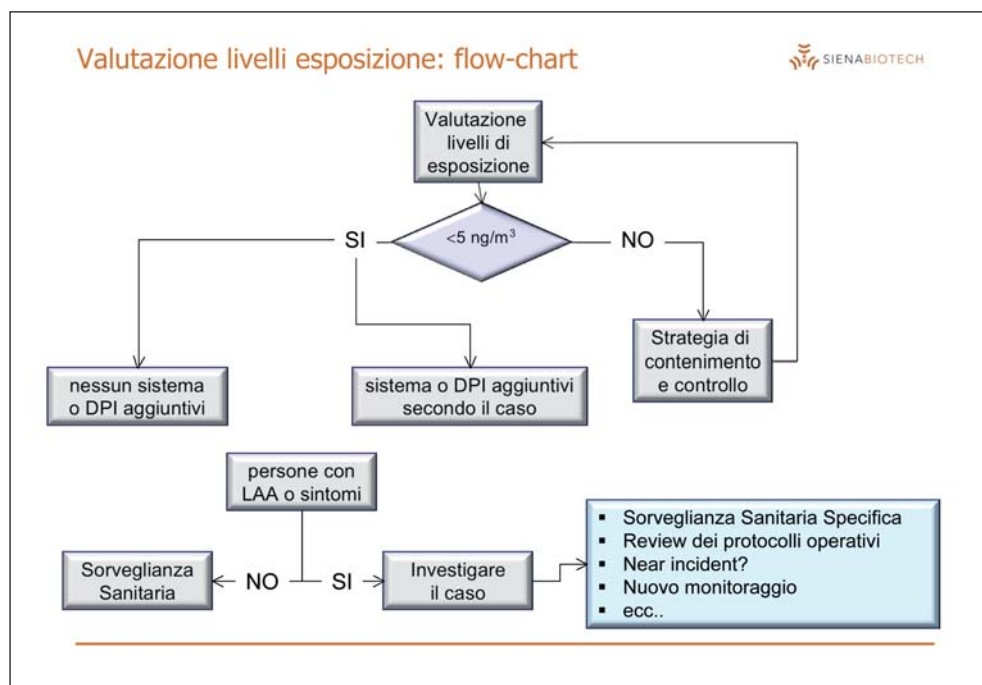
Una sorveglianza che abbiamo definito di “tipo aperto”. In realtà può essere considerata una visita a richiesta così come previsto dalla normativa, ma abbiamo cercato di renderla meno formale possibile. Per farla percepire più friendly al personale e far in modo che gli operatori si sentano più liberi di far presente ogni possibile problematica. Anche per questo ogni nostro addetto ha a disposizione il numero di telefono cellulare del nostro medico competente.

Durante la visita preventiva e periodica è il medico competente che fa attività di informazione al lavoratore in merito agli aspetti legati alla sintomatologia delle LAA.

Per quanto riguarda gli aspetti del “pilastro” di risk assessment e monitoraggio. Questo si compone di una fase di valutazione del rischio iniziale, nella quale sono stati analizzati e scomposti i cicli operativi costituenti le attività eseguite nello stabulario: dalle attività di ricezione animali a quella

di eliminazione dei rifiuti. Tra queste sono state individuate quelle potenzialmente più a rischio di esposizione e le mansioni lavorative connesse. La durata e la frequenza delle operazioni (e conseguentemente dell'esposizione potenziale), le sorgenti e le possibili vie di esposizione contestualizzate al ciclo operativo specifico, la vestizione del personale ed i dispositivi di protezione adottati. Altro componente essenziale è, appunto, l'esecuzione del monitoraggio degli allergeni di origine animale. Nel nostro sistema di gestione, basandosi sulla letteratura disponibile, è stata identificata la concentrazione limite di  $5 \text{ ng/m}^3$  quale "limite di esposizione" per gli ambienti/operazioni con animali. Anche se la definizione di "limite di esposizione" è impropria, non essendoci limiti di esposizione occupazionale ufficiali: i dati scientifici riportano come valore per un controllo degli allergeni negli ambienti di lavoro il dato  $<5 \text{ ng/m}^3$ .

Infine abbiamo anche stabilito una periodicità con la quale eseguire tale monitoraggio. Sono state stabilite le seguenti frequenze: annuale, ad insorgenza di casi di LAA, variazioni o modifiche significative dei sistemi impiantistici e di controllo, variazioni significative dei parametri di rischio, come ad esempio l'aumento del numero di animali.



Con questo schema, si vuol rappresentare la valutazione dei livelli di esposizione adottata in Siena Biotech. Se il risultato del monitoraggio dà valori di concentrazione superiori ai 5 nanogrammi metro cubo, si rende necessaria l'adozione di ulteriori misure tecniche e/o operative di miglioramento e controllo. Ed un nuovo monitoraggio di controllo successivo.

Comunque, anche nel caso di valori ambientali inferiori ai  $5 \text{ ng/m}^3$ , per i quali l'adozione di sistemi o dispositivi di protezione individuale aggiuntivi non è considerato necessario, se nei lavoratori dovessero insorgere sintomi collegabili alla LAA deve essere investigato lo specifico caso. Non solo da un punto di vista sanitario, ma predisponendo anche un nuovo monitoraggio degli allergeni nell'ambiente di lavoro e/o per la mansione specifica.

Altro aspetto, le procedure gestionali. Soprattutto rivolte ad ottenere un livello di funzionalità organizzativa tale da ridurre al minimo il tempo e la frequenza delle operazioni con animali o ridurre al minimo il numero di persone che possono essere esposte ad allergeni.

Componente fondamentale ed irrinunciabile è la formazione del personale. Abbiamo puntato su

una formazione che includesse aspetti pratici, che uscisse dal ripetitivo elenco di norme, disposizioni eccetera. È stata realizzata internamente all'azienda poiché avevamo la necessità di addestrare un numero consistente di persone allo stesso tempo e di essere operativi in tempi brevi. Questa condizione ci ha in qualche modo fatto fare di necessità virtù.

Il training sul personale ha previsto una parte teorica, fatta in aula, il cui programma è riportato di seguito. Particolare risalto è stato dato agli aspetti di salute e sicurezza ed all'uso corretto dei dispositivi di protezione individuale.

Ed una parte pratica, un training on the job, fatta "sul campo", composta dagli argomenti e dal programma di seguito riportato.

Training Plan



### Parte Teorica

- **Part. 1: Rodents Biological Features**
  - History and domestication
  - Strains
  - Anatomy & Physiology
- **Part 2: Husbandry**
  - Housing
  - Identification and registration
  - Workflow within Animal Facilities
- **Part 3: Basic methodologies**
  - Restraint
  - Sampling and Administration
  - Euthanasia and Necropsy

- **Part. 4: Safety and Biosafety**
  - Occupational Risks
  - Risk assessment
  - BioContainment
  - PPE
  - LAA
- **Part 5: Regulations**
  - Facility Authorization
  - Project Licence
  - EU directive 86/609 revision

Training Plan



### Parte Pratica

- **Part. 1: Assessment**
  - Verifica sul campo del grado di addestramento individuale
  - Eventuale divisione del personale in gruppi omogenei per grado di addestramento
- **Part. 2: Handling**
  - Corretta presa dell'animale
  - Trasferimento da una gabbia all'altra
  - Manipolazione e Ispezione esterna dell'animale
  - Riconoscimento aspetto normale ed eventuali anomalie esteriori
  - Peso animali
  - Misurazione con calibro

- **Part. 3: Dosing**
  - Trattamento orale
  - Trattamento sottocute
  - Trattamento intraperitoneale
  - Trattamento Intravenoso
- **Part. 4: Sampling and Necropsy**
  - Prelievo terminale sangue (animale in anestesia)
  - Necroscopia e Prelievo organi e tessuti

Aspetto molto importante per la protezione del personale, ed incluso nel nostro sistema di gestione, è la vestizione dello stesso e, soprattutto i dispositivi di protezione personale da adottare. È stata stabilita una vestizione specifica per gli operatori di stabulario; vestizione fatta da componenti disposable (usa e getta), come ad esempio i guanti, i calzari, le cuffie ed i facciali filtranti. E da componenti riutilizzabili quali le tute. Abbiamo adottato tute lavabili/riutilizzabili per il personale operativo di animal facility. I ricercatori che frequentano per le fasi sperimentali lo stabulario adottano tute anch'esse usa e getta in tyvek.

Considerando le vie di esposizione agli allergeni, particolare rilievo rivestono i dispositivi di protezione delle vie respiratorie. In Siena Biotech sono adottati facciali filtranti FFP2. Per ogni persona viene eseguito uno specifico Fit-Test volto alla determinazione dell'efficienza di protezione del facciale filtrante da impiegare. Il Fit-test è eseguito in conformità alla linea guida dell'Health and Safety Executive inglese.

In merito all'esperienza di monitoraggio allergeni eseguita in azienda, come detto è parte integrante del nostro sistema di gestione e controllo per le LAA.

È stato rivolto alla determinazione della presenza e concentrazione di proteina urinaria di ratto (RUP) e di topo (MUP) nei locali dello stabulario e durante delle specifiche operazioni. In un'ottica di screening preliminare sui livelli di allergeni eventualmente presenti.

In realtà il monitoraggio ha avuto anche altri scopi. La determinazione analitica è stata eseguita con metodo ELISA seguendo il protocollo elaborato da Korpi e collaboratori nel 2004. Uno degli scopi del monitoraggio è stato anche quello, quindi, di verificare sia l'applicabilità del metodo di campionamento che dello stesso protocollo analitico.

Sia il monitoraggio che le determinazioni analitiche sono state fatte internamente, in una sorta di autocontrollo, non avendo trovato all'esterno competenze terze in grado di provvedere per nostro conto. Il protocollo ELISA è stato elaborato ed eseguito dall'unità di Proteomics di Siena Biotech. In ultimo vi era anche l'obiettivo di verificare, attraverso lo stesso monitoraggio, l'efficacia dei sistemi e delle procedure adottate nella conduzione delle attività di stabulario e controllo degli allergeni. Il campionamento è stato eseguito utilizzando un campionatore IOM e filtri in PTFE da 25 mm, con un sistema di aspirazione che garantiva una portata costante di 2 litri al minuto.

In totale sono stati eseguiti 35 campioni, tra campioni statici (in ambiente) e dinamici (sul personale). Il tempo di campionamento è variato da un minimo di 20 minuti fino a 206 minuti. I tempi più lunghi sono relativi al prelievo dei campioni di tipo statico (ambientali). Non abbiamo adottato un tempo standard di campionamento. Soprattutto per i campionamenti dinamici, sul personale, quello che era importante era determinare l'esposizione legata alla durata dell'operazione specifica.

Le determinazioni analitiche sono state eseguite con il metodo ELISA seguendo il protocollo elaborato da Korpi e collaboratori. Sono stati utilizzati dei KIT ELISA commerciali e specifici per la proteina Rat n1 e la proteina Mus m1.

Il campionamento è stato realizzato sia su postazione fissa, nei vari ambienti costituenti lo stabulario, allocando il sistema di prelievo su un tre piedi, che sul personale durante specifiche operazioni individuate durante la fase iniziale di valutazione dei rischi.

In particolare il campionamento sul personale è stato eseguito su queste specifiche fasi operative, tipiche di un'animal facility di ricerca: sulle operazioni di cambio gabbia, svuotamento lettiera, arrivo animali e controllo parametri fisiologici, per la determinazione della proteina urinaria sia di ratto che di topo; solo per la proteina urinaria di topo, durante le fasi sperimentali di inoculo sottocute. E per quanto riguarda la determinazione della proteina urinaria di ratto, durante l'esecuzione degli studi comportamentali.

I campioni statici (in ambiente) sono stati prelevati in alcuni dei locali costituenti lo stabulario. I punti di campionamento sono qui indicati.(Fig. 5)

## Campionamento allergeni aerodispersi MUP/RUP (3)



● Punti di campionamento statico

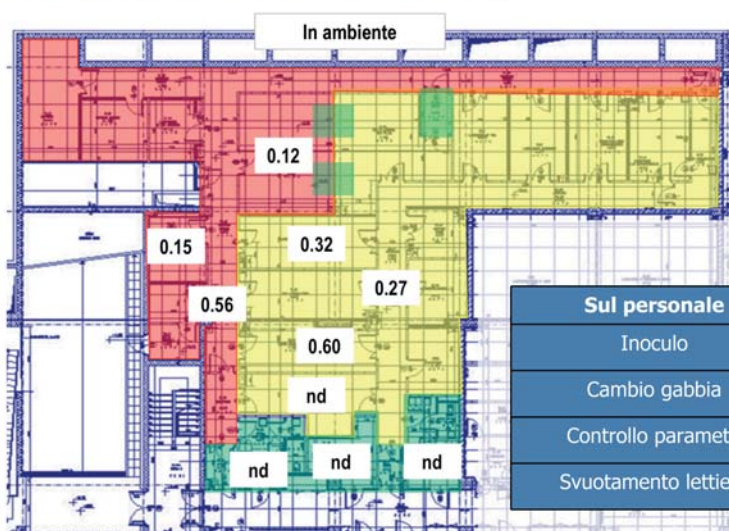
MUP e RUP

(+ campione blank)

Sono stati eseguiti, quindi, campionamenti sia in locali dell'area pulita che dell'area sporca dell'animal facility: in particolare nei locali di stabulazione topi e ratti, nel locale quarantena, nel laboratorio di studi comportamentali, nel laboratorio sperimentazione, nel locale di svuotamento lettiera e lavaggio gabbie, nei corridoi, nel locale di ricezione animali e negli spogliatoi del lato "sporco" e del lato "pulito".

I risultati ottenuti, ad oggi solo quelli relativi alla proteina urinaria di topo, sono esposti nella figura seguente (Fig. 6).

## Concentrazioni rilevate MUP (Mus m1)



**Mus m1**  
(ng/m<sup>3</sup>)

| Sul personale        | ng/m <sup>3</sup> |
|----------------------|-------------------|
| Inoculo              | 1.56              |
| Cambio gabbia        | 1.91              |
| Controllo parametri  | 0.33              |
| Svuotamento lettiera | 2.15              |

ELISA kit from Indoor biotechnologies with improved sensitivity following Korpi *et al.*, 2004

Quelli relativi ai campionamenti statici (in ambiente) sono riportati direttamente sul lay-out in corrispondenza del locale relativo.

Nella tabella sono riportati i risultati dei campioni dinamici, sul personale, relativi a specifiche operazioni. È opportuno sottolineare che questi risultati devono essere considerati con una valenza indicativa. Pur non avendo una significatività statistica e pur trattandosi di risultati preliminari, riteniamo possano comunque dare delle indicazioni importanti sulla distribuzione e sui livelli di allergeni nello stabulario indagato.

Le indicazioni possono essere così riassunte.

L'indiscutibile bontà e valore aggiunto al processo di risk assessment del controllo eseguito non deve comunque far dimenticare che quanto determinato è in veste di risultato preliminare.

Tutti i campioni risultano avere una concentrazione inferiore al limite dei 5 ng/m<sup>3</sup>.

I campioni di tipo statico (ambientale) mostrano valori di concentrazione nel complesso inferiori a 0.7 ng/m<sup>3</sup>. Questi dati confermerebbero la validità e la funzionalità dei sistemi/impianti presenti e costituenti l'animal facility, sia generali come HVAC sia puntuali come l'adozione delle IVC. Le operazioni (i momenti in cui l'operatore manipola direttamente gli animali o manipola residui venuti in contatto con animali, come la lettiera esausta) si sono mostrate essere condizioni di maggiore esposizione rispetto alle condizioni ambientali. In linea, per altro, con quanto ben noto in letteratura. Comunque per quanto riguarda MUP, Mus m1, i valori rilevati per le operazioni di cambio gabbia, svuotamento lettiera, trattamento/inoculo, pesatura, si sono evidenziati pur sempre inferiori al limite dei 5 ng/m<sup>3</sup>. Considerando anche la frequenza e la durata delle operazioni: le condizioni valutate risultano, quindi, inferiori a quelle di attenzione o indicate per l'insorgenza sensibilizzazione. I risultati relativi alle concentrazioni di proteina urinaria di ratto (Rat n1) confermano quanto evidenziato dai risultati su Mus m1. Ad oggi però non sono ancora stati elaborati nel loro complesso.

Quali sono le conclusioni che possiamo trarre?

- Avere un sistema di gestione che consenta: la prevenzione dell'esposizione, la possibilità di individuare subito sintomatologie LAA correlate/bili, il controllo dei livelli di esposizione ad "agente pericoloso" negli ambienti di lavoro;
- Tale sistema include ed integra: controlli ingegneristici, sorveglianza sanitaria, risk assessment, sistema di procedure operative;
- Può essere funzionale solo se vi è condivisione e proattività di funzioni chiave: HSE/Servizio di Prevenzione e Protezione, Medico Competente, Animal Facility, Ingegneria/Manutenzione, Personale;
- Monitoraggio/controllo dei livelli di allergeni come valutazione dell'esposizione e quale metodo di validazione del sistema di gestione nel suo complesso;
- Metodo ELISA con Kit Mus m1 (e Rat n1) può essere impiegato in una Animal Facility di ricerca
  - I risultati ottenuti dal monitoraggio possono essere un importante aiuto non solo:
  - come mezzo di validazione di sistemi & procedure ..... o per
  - l'individuazione di miglioramenti di prevenzione e protezione..... *ma anche per*
  - la valutazione rischi interferenza in caso di accesso di personale esterno, es. ditte appaltatrici/manutenzione (ref. D.Lgs 81/08).... *e, non ultimo, per la*
  - sorveglianza sanitaria
- In tutto questo quadro ci deve essere sempre la formazione spinta del personale che opera all'interno delle animal facilities, perché possiamo avere tutti i migliori sistemi del mondo, tutti i sistemi di controllo migliori, ma se non creiamo anche persone con la dovuta competenza per poter gestire in modo adeguato questi sistemi tutto il "castello" rischia di crollare.

## AAALAC Accreditation: Valutazione delle strategie messe in atto negli stabulari per il controllo degli allergeni

*Patrizia Costa - Fondazione Parco Biomedico San Raffaele di Roma*

Volevo ringraziare gli organizzatori dell'opportunità di presentare AAALAC International nel corso di questo evento. In particolare cos'è AAALAC, che cosa viene valutato nel corso di un accreditamento AAALAC e quali sono i criteri di valutazione. Nello specifico, l'intervento è focalizzato su quest'ultima parte relativa proprio all'argomento che stiamo trattando, quindi la Laboratory Animal Allergy. In primo luogo l'AAALAC International, Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, è un'organizzazione senza scopo di lucro che promuove il trattamento umano e responsabile degli animali utilizzati a fini sperimentali, attraverso un sistema di accreditamento volontario. Nasce negli Stati Uniti nel 1965 ed è formata da 68 organizzazioni, rappresentate nel board dei tesorieri. Tra i rappresentanti a livello europeo ci sono: ESLAV, ICLAS, FELASA, IAT, lo svolgimento dell'attività di accreditamento viene invece eseguita dal Council of Accreditation. Nel 2002 l'AAALAC è diventata International e nel 2009 si è organizzato anche un Council of Accreditation nel Sud-Est asiatico.

Attualmente - dati del 30 settembre 2009 - sono state accreditate 781 facilities: 670 in nord-America, 50 in Europa dal 2002 ad oggi, 53 nel Sud-Est asiatico, 1 nell'America del Sud, 7 in Africa, per un totale di 781 centri e siti accreditati. Le categorie dei siti accreditati sono CRO, siti governativi, no-profit organizations, siti ospedalieri, università pubbliche e università private. Abbiamo in tutto 31 diversi accreditamenti in altrettanti paesi del mondo. Il processo di accreditamento è volontario e condotto da specialisti nel settore secondo rigorosi criteri della peer review, cioè un rapporto alla pari. Questo verifica che gli standard interni rispondano e superino in qualità quanto richiesto dagli standard delle legislazioni nazionali, europee e internazionali. Il sistema di accreditamento è costituito da rigorosi principi di base comuni per tutti. L'AAALAC nel processo di valutazione dell'Animal Care and Use Program considera importanti e fondamentali anche gli aspetti legati alla salute del personale in quanto trattandosi di specialisti del settore, e conoscendo esattamente i processi, sono in qualche modo corresponsabili della salute del personale che opera negli stabulari. Pertanto se si rileva un rischio va denunciato e posto rimedio. Come references ha tutte le Direttive europee, la convenzione ETS 123, le legislazioni nazionali, le linee guida e i documenti importanti a livello internazionale, tipo la AVMA Panel on Euthanasia e le Felasa guidelines,. Tale è l'approccio del Council on Accreditation a livello europeo. Vediamo che cosa valuta AAALAC quando entra all'interno di un site, all'interno di una struttura. (Fig.1)



## Elementi valutati

### Organizzazione e supervisione del programma

Regole , procedure e comitati etici (IACUC)  
 Organizzazione delle cure veterinarie e della tutela del benessere animale  
Competenza e formazione del personale  
Sicurezza e salute occupazionale (OHSP)

### Condizioni di mantenimento degli animali

Gestione delle colonie animali  
Ambiente fisico  
 Arricchimenti ambientali e benessere  
Pulizie , cura degli animali , processi e flusso delle operazioni

### Cure veterinarie

Fornitori e Trasporto degli animali  
 Medicina preventiva  
 Chirurgia e asepsi  
 Controllo del dolore e pratiche eutanasiche  
 Farmaco verterinario  
 Efficienza della comunicazione  
 Gestione delle emergenze e sorveglianza continua

### Struttura

Criteri di costruzione , qualita' e manutenzione delle strutture  
Efficienza dell' HVAC  
Aree funzionali e attrezzature  
 Allarmi e sistemi di sicurezza  
 Disaster recovery plan


 AAALAC INTERNATIONAL | EUROPE@AAALAC.ORG | WWW.AAALAC.ORG

Focalizzando l'attenzione sulla Laboratory Animal Allergy, di seguito sono elencate alcune responsabilità che dovrebbe avere l'istituzione e che poi vengono valutate.(Fig.2)



## L.A.A e responsabilita' dell'istituzione

### Programma di sicurezza e salute occupazionale (OHSP)

- come e' organizzato
- Valutazione del rischio
- Individuazione del personale a rischio
- Prevenzione . Screening periodici . Questionario su allergie pregresse , asma . Strutture e attrezzature
- Organizzazione del lavoro
- Sorveglianza sanitaria e reclutamento dei soggetti potenzialmente esposti
- Formazione e informazione
- SOP
- DPI


 AAALAC INTERNATIONAL | EUROPE@AAALAC.ORG | WWW.AAALAC.ORG

Innanzitutto va considerato il programma di sicurezza e salute occupazionale, nello specifico l'organizzazione del programma, come e se viene fatta una corretta valutazione del rischio, se viene individuato il personale a rischio, come viene fatta la prevenzione, quindi gli screening periodici, i questionari, se una persona cambia attività da una sede a un'altra, o da un'area funzionale a un'altra, è importante che venga riproposto un questionario sulle allergie pregresse, sull'asma e poi la prevenzione per esempio attraverso le strutture e le attrezzature e l'organizzazione del lavoro. Sorveglianza sanitaria e reclutamento dei soggetti potenzialmente esposti.

Un punto veramente caldo è, infatti, l'organizzazione della sorveglianza sanitaria. Molte volte, nel corso di site visit, si rilevano grandi problemi su questo aspetto, la sorveglianza sanitaria normalmente è jeopardizzata, proprio perché non c'è il coordinamento da parte della struttura ad organizzarla per tutti gli individui in posizione permanente, contrattisti, studenti che in qualche modo sono esposti agli allergeni, o comunque che potrebbero avere problemi di salute occupazionale. Come è organizzata poi la formazione e informazione del personale, se ci sono procedure operative standard e se vengono forniti gli adeguati dispositivi di protezione individuale. In sede di site visit, l'AAALAC Team incontra anche i responsabili del programma di sorveglianza sanitaria, i responsabili delle istituzioni e i membri dell'IACUC, quelli che poi organizzano effettivamente il lavoro sul campo, responsabili proprio del monitoraggio. È un momento veramente informale dove però è possibile in qualche modo capire quanto è capillare effettivamente il programma di Occupational Health and Safety. Successivamente si effettua una visita nella struttura domandando direttamente al personale riguardo le procedure e osservando poi le operazioni e i vari indumenti di protezione individuali che vengono indossati. Nel caso emergesse un qualche eventuale problema, oppure ci fosse qualcosa di non molto chiaro si richiedono opportuni chiarimenti sul programma presentato e su quanto osservato nel corso della visita. Ciò viene poi discusso in sede di riunione del Consiglio Plenario dell'AAALAC, quindi non è soltanto un giudizio dato dalle due persone che effettuano la site visit, ma condotto in modo plenario da ben dieci membri. In relazione alla potenziale esposizione ad allergeni gli elementi di valutazione sono: le aree funzionali, la qualità e la pulizia degli ambienti, in particolare le aree di lavaggio e le stanze di stabulazione che sono quelle più critiche, l'organizzazione del lavoro, presenza di attrezzature idonee, e la corretta manutenzione. Di frequente accade di accreditare delle università o dei siti che non hanno, come l'industria privata, molte risorse. Allora lì si cerca di andare nel dettaglio su quelle che sono le procedure operative che vengono adottate e se gli indumenti di protezione e la formazione del personale è effettivamente sufficiente per garantire la protezione. Un'altra cosa importante è l'efficienza degli impianti e la manutenzione. È noto, che il sistema di condizionamento dell'aria è fondamentale, cioè all'interno di una stanza di lavaggio per esempio devono essere garantiti ricambi d'aria tali che non permettano la formazione di polveri, per cui 30-35 minimo ricambi aria/ora. Per quanto riguarda l'attività svolta e il flusso delle operazioni, come lo svuotamento delle gabbie o il cambio delle gabbie, spesso si rileva che le gabbie degli animali vengono cambiate all'interno delle stanze di stabulazione e questa è una pratica che espone moltissimo il personale. Oppure c'è un dumping fatto, cioè uno svuotamento gabbie, in ambiente dove i ricambi d'aria sono bassi, ce ne accorgiamo dall'umidità, dalla temperatura, dalle polveri che stanno all'interno dell'ambiente, e di conseguenza l'operatore è completamente esposto. Comunque quello che noi esaminiamo sono le azioni intraprese per minimizzare il rischio, la modalità di valutazione del rischio dell'azienda, i questionari, i DPI, la formazione, la sorveglianza sanitaria e le risorse.

I criteri di valutazione di quanto osservato sono di due tipi: osservazioni di tipo grave carenza, oppure dei suggerimenti che vengono dati. La grave carenza è considerata mandatory, cioè è obbligatorio il rimedio, non è possibile accreditare quella struttura se non è messa in atto un'azione per rimediare alla carenza. Il suggerimento invece è una suggestion for improvement, per cui è fortemente consigliata un'azione migliorativa. La struttura quindi non viene accreditata in caso di gravi carenze. Tra i settori industriali accreditati, nel periodo di riferimento 2002-2009, l'industria farmaceutica la fa da padrone.

Questo è un generale sulle osservazioni, in pratica quella che noi andremo a valutare è l'Occupational Health and Safety. (Fig.2)



Come si osserva dal grafico abbiamo trovato come mandatory il 10% e circa il 19% come suggestion for improvement, nel settore dell'Occupational Health and Safety. Nella categoria di Occupational Health and Safety rientrano la sperimentazione animale con sostanze pericolose, le attrezzature, cioè attrezzature non adeguate oppure utilizzate in modo non corretto, le procedure e il monitoraggio dei parametri, l'identificazione dei rischi e la valutazione del rischio, ad esempio praticamente jeopardizzata oppure non esistente oppure sottostimata, una carenza nei controlli medici e nella valutazione e nella medicina preventiva, igiene del personale e magari dei problemi con i dispositivi di protezione individuale, una carenza nella formazione e la qualità del programma di sorveglianza sanitaria. In particolare questi sono i deficit, nessuna o poca considerazione del personale a rischio in relazione alle operazioni che avrebbero poi eseguito, quindi esposizione all'allergenico, persone già allergiche, mancanza di meccanismi capaci di assicurare che a tutto il personale a rischio fosse offerta la partecipazione al programma di sorveglianza sanitaria, e in particolare per i contrattisti oppure per i manutentori, una carenza di coordinamento, una mancanza di informazione e formazione sui rischi da allergeni e sulla Laboratory Animal Allergy, una inadeguata o inconsistente valutazione del rischio relativo all'esposizione agli allergeni e alla protezione delle vie respiratorie dovute alla mancanza di personale medico qualificato, quindi non veniva data la corretta informazione sui dispositivi di sicurezza e i pericoli da esposizione, le operazioni di svuotamento delle lettine in ambiente o in mancanza di attrezzature atte a minimizzare l'esposizione ad allergeni, lavaggio manuale di gabbie e potenziale esposizione ad allergeni, scarsi ricambi d'aria e produzione di polveri. Questi sono tutti esempi riferibili a mancanze trovate.

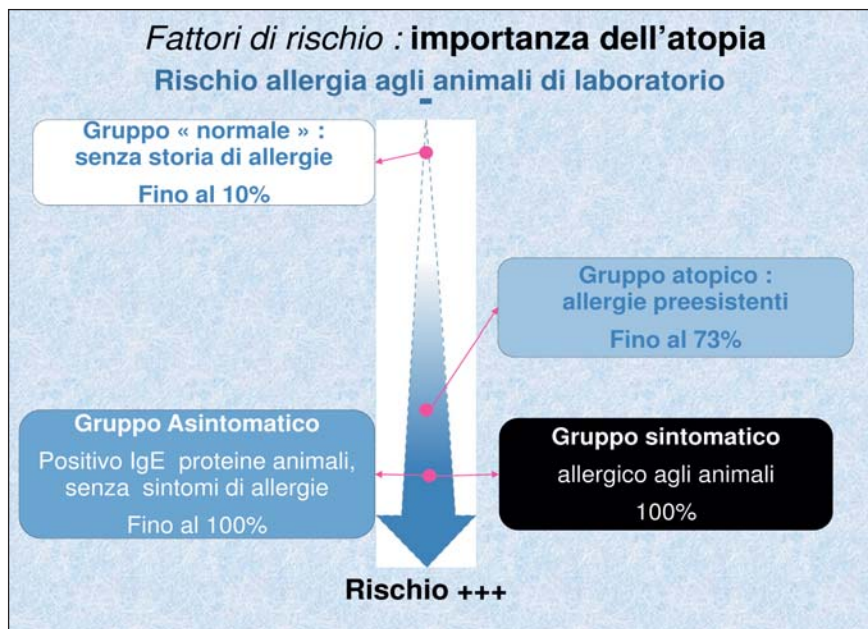
In caso di molteplici osservazioni, e se sono riferibili a suggestion for improvement, si procede formulando un'unica osservazione come mandatory e quindi come una grave carenza.

Come ultima considerazione, non possiamo parlare di benessere animale se poi non tuteliamo e rispettiamo la salute del personale.

# Approccio pratico all'ideoneità specifica alla mansione di lavoratore esposto ad allergeni di animali da laboratorio

Carlo G. Bulgheroni - Sanofi-Aventis, Milano

La medicina del lavoro ha sempre tenuto presenti quelli che sono anche gli aspetti dell'esposizione. In questo caso specifico ci sono due aspetti che entrano a far parte dei fattori di rischio: uno è l'allergene, quindi l'animale, e l'altro è l'uomo che lavora con l'animale. Ma proprio come potenziale rischio non sono tutti uguali, e su questo aspetto c'è stata una grossa diatriba soprattutto con i colleghi anglosassoni. Questi ultimi sostengono che tutti sono idonei a lavorare e che non si può negare un lavoro a nessuno, e noi tutto sommato concordavamo pur evidenziando che se ci sono dei rischi è importante conoscerli, individuarli e mettere le persone in condizioni di non ammalarsi e quindi di far sì che il rischio diventi accettabile. Diciamo che oggi si è arrivati, con la valutazione del rischio a fare una sintesi di questo, in cui anche il medico è stato costretto a ragionare proprio in questi termini in cui deve lui stesso partecipare alla valutazione del rischio e quindi dire fin dove il rischio diventa accettabile e quando si deve intervenire con la sorveglianza sanitaria. L'altro aspetto riguarda i DPI ed il medico competente, tra i suoi compiti, ha anche quello di andare ad individuare, verificare, e consigliare i mezzi adeguati. Un altro fattore molto importante è l'organizzazione del lavoro: nell'ambito dell'attività, il lavoratore (ricercatore o stabularista) non svolgerà sempre lo stesso lavoro. Nella cartella in allegato al Testo Unico ci sono delle informazioni che i datori di lavoro devono fornire al medico quali la tipologia e la durata dell'esposizione. Dal punto di vista epidemiologico (Figura 1) tra gli individui non atopici, vi è un 10% che può presentare problemi: è dunque un rischio estremamente ridotto. Nel caso di individui atopici, dimostrato da anamnesi o test, il rischio diventa estremamente importante: il 73%. La questione diventa seria nel caso di persone che sono asintomatiche che però hanno, ad esempio, IgE elevate; in questo caso il rischio si alza fino al 100%. Il rischio è altissimo nel caso di soggetti sintomatici.



Nelle Figure 2, 3 e 4 vengono riportate alcune considerazioni relativamente all'influenza del livello di esposizione e le lavorazioni a diversi livelli di rischio.

## L'influenza del livello di esposizione : Proposta di Livello sicuro

E' riportata una evidenza diretta e indiretta che la sensibilizzazione agli allergeni può avvenire a livelli di esposizione più bassi di quelli richiesti per provocare sintomi.

Uno studio prospettico di 458 lavoratori esposti al topo suggerisce che il rischio di sensibilizzazione relativo al gruppo di esposizione più basso (es. lavoratori coi tessuti di topo) aumenta ad esposizioni  $>5 \text{ ng/m}^3$ ;

Il livello di esposizione capace di provocare sintomi era in questo studio da due a tre volte più alto

### A proposito del target "livello di esposizione"

- Evidenza del livello di sensibilizzazione nei non-atopici diviene significativo intorno ai  $5 \text{ ng/m}^3$  (Gordon)
- Gli atopici sono sensibilizzati a livelli inferiori e ci sono rischi residui per i non-atopici intorno a questo livello
- □□ Raccomandazioni degli Inglesi
- Esposizione in area di lavoro con Animali
- □□  $<3 \text{ ng/m}^3$   
Johns Hopkins University/Department of HSE
- Esposizione in area di lavoro senza presenza di Animali
- □□  $<1 \text{ ng/m}^3$
- Non c'è dubbio che è essenziale ridurre l' esposizione al più basso livello ragionevolmente praticabile
- Studi hanno mostrato che i seguenti livelli sono raggiungibili:
  - Stabulari  $6 \text{ ng/m}^3$
  - Corridoi e uffici  $1 \text{ ng/m}^3$

limite di esposizione =  $5 \text{ ng/m}^3$

#### Rischio Alto : $>50 \text{ ng/m}^3$

Lettiere sporche  
Cambio e lavaggio gabbie  
Rasatura  
Studi del comportamento

#### Rischio Moderato : $5-50 \text{ ng/m}^3$

Ricevimento animali  
Messa dimora degli animali  
Somministrazione Dosi  
Perfusioni, Chirurgia a certi livelli, e Sanguinamento,  
Altre operazioni lavaggio gabbie con panni & pulizia gabbie  
(questo ultimo riferito a specie non-roditori),

#### Rischio basso: $<5 \text{ ng/m}^3$

Osservazione  
Analisi Urine  
Lavori con Tessuti & Organi  
Telemetria  
Anestesia  
Eutanasia  
Necropsie  
Incenerimento

Nelle Figure 5, 6 e 7 vengono riportate le indicazioni relative alla sorveglianza sanitaria, in occasione della prima visita medica. La visita di pre-assunzione diventa infatti estremamente importante, per identificare eventuali pregresse allergie. È necessario inoltre identificare i casi di atopica quale fattore predisponente.

Fondamentale l'utilizzo di un questionario per la raccolta di informazioni mediche specifiche quali riniti, asma, manifestazioni oculari e cutanee. Quindi un'anamnesi della sintomatologia personale pregressa per valutare eventuali allergie a pollini, ad animali, eczemi giovanili piuttosto che a nichel, familiarità di atopica e stili di vita (animali domestici, fumo ed eventuali aspetti di tipo infiammatorio diventano fattori predisponenti).

### **Prima visita medica per l'idoneità specifica alla mansione**

**Obbiettivo di questa visita medica è:**

- **Identificare eventuali pregresse LAA**
- **Identificare casi di atopica, quale fattore predisponente a LAA,**
- **mirare la sorveglianza e monitoraggio sanitario**
- **informare la persona sulle precauzioni da adottare.**
- **Identificare eventuali controindicazioni al lavoro con animali**
- **Raccogliere dati che potrebbero essere utili in futuro nello sviluppo delle condizioni di salute**

### **Prima visita medica per l'idoneità specifica alla mansione**

#### **Metodo**

- **Questionario mirato su riniti, asma, manifestazioni oculari e/o cutanee**



- **Anamnesi di sintomatologia personale pregressa (identificazione di predisposizione atopica, precedenti di asma, riniti da pollini, allergie ad animali, eczemi giovanili o eczema al nichel.....)**

- **Familiarità di atopica**

- **Stili di vita : fumo, animali domestici**

- **Visita medica mirata per le vie respiratorie e la cute**

- **Tests allergici**

- **Test cutanei Specifici ( Prick tests)**

- **Test Ig E Specifici ( RAST tests)**

| Sorveglianza sanitaria                   |      |            |
|------------------------------------------|------|------------|
| Prima visita idoneità mansione specifica |      |            |
|                                          | cute | inalazione |
| •Anamnesi                                | +++  | +++        |
| •Visita medica                           | +    | +          |
| •Atopia                                  | -    | +++        |
| •Vitalograf basale                       | -    | +++        |
| •Vitalograf aspecif.                     | -    | ++(+)      |
| •Visita Dermatologica                    | +    | -          |
| •Prick tests (Ubiquitari)                | ++   | -          |
| •Prick sostanze al lavoro                | ++   | ++         |

In Figura 8 vengono riportate le condizioni valutate durante la prima visita medica per l'idoneità specifica alla mansione, con le controindicazioni o meno all'attività lavorativa.

| <b><u>Prima visita medica per l'idoneità specifica alla mansione</u></b>                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Problematiche</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <u>Controindicazioni al lavoro:</u>                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Presenza di Asma;</li> <li>- presenza di bronchite ostruttiva ( funzionalità polmonare &lt; 70% del normale)</li> <li>- Anamnesi Positiva per allergie ad animali con test risultati positivi</li> <li>- (risultati clinici e tests specifici positivi )</li> </ul> |
| <u>Non Controindicazioni al lavoro</u>                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Anamnesi Positiva per altre allergie</li> <li>- Test di funzionalità polmonare intorno al 70%</li> <li>- Segni clinici di sinusite, rinite, congiuntivite</li> <li>- Tests specifici di allergia Positivi senza segni clinici</li> </ul>                            |
| <u>MA speciali misure protettive :</u>                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- DPI, almeno maschere FFP2,</li> <li>- frequenza ravvicinata della sorveglianza sanitaria,</li> <li>- speciali misure igieniche</li> </ul>                                                                                                                           |

Nelle Figure 9 e 10 vengono riportati l'obiettivo e la metodologia delle visite mediche periodiche.

| <b><u>Visite mediche periodiche (routine health surveillance)</u></b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Obbiettivo</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Questa visita ha lo scopo di evidenziare il sorgere di LAA                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| e più in particolare:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Fornire una diagnosi eziologica delle condizioni delle vie respiratorie</li> <li>- Prescrivere un trattamento medico, se indicato</li> <li>- Modificare l'esposizione: aumentare la protezione con DPI delle vie respiratorie o con mezzi di protezione collettiva</li> <li>- Denuncia di malattia professionale</li> </ul> |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Iniziare un processo di accompagnamento/monitoraggio sul posto di lavoro o se necessario trasferimento ad altra attività lavorativa</li> </ul>                                                                                                                                                                              |
| La visita periodica ha cadenza annuale .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Solo nel caso di sintomi segni clinico-strumentali la cadenza dovrà essere ravvicinata (tre – sei mesi).                                                                                                                                                                                                                                                             |

### Visite mediche periodiche (routine health surveillance)

#### **Metodologia**

- Questionario specifico per manifestazioni riniti, asma, oculari e cutanee.
- Visita medica mirata apparato respiratorio e cutaneo.
- Prick tests: Questi tests vanno effettuati solo nel caso di segni clinici.
- Curva Flusso-volume.

Se presenti anomalie: test di funzionalità respiratoria con metacolina(challenge test).



Lo scopo della visita periodica è fornire una diagnosi delle condizioni delle vie respiratorie, prescrivere eventualmente un trattamento medico ove indicato. Nel caso di diagnosi di allergia professionale si dovrà procedere alla denuncia di malattia professionale.

La somministrazione del questionario è annuale durante le visite periodiche e non soltanto al cambio di mansione.

In Figura 11 sono riportate alcune problematiche nel caso di rinite, ma senza asma, e come procedere in caso di asma.

### Visite mediche periodiche (routine health surveillance)

#### **Problematiche**

In caso di *rinite* causata da animali di laboratorio (senza asma):

- sorveglianza medica Ravvicinata
- Riduzione degli allergeni ambientali
- Informare il lavoratore di una possibile denuncia di malattia professionale
- Informare il lavoratore sulla evoluzione della malattia
- Considerare la possibilità di un trasferimento

In caso di *asma*:

- Informare il lavoratore della denuncia di malattia professionale
- Provare a ridurre l'esposizione
- Considerare un trasferimento il più rapido possibile in relazione alla gravità dell'asma (frequenza delle crisi, il tipo di cura ecc...).

È importante anche dare tutte le informazioni al lavoratore su cosa significa diventare o essere allergico: se è una questione legata all'apparato respiratorio diventa estremamente difficile per il soggetto continuare a lavorare con gli animali e sarà necessario considerare la possibilità di trasferimento. Ove ciò non fosse possibile bisognerà cercare di mettere il soggetto in condizione di continuare a lavorare e quindi si interverrà con dei mezzi di protezione individuale o collettiva, ma anche definendo una terapia che gli permetta di affrontare il suo lavoro.

Nelle Figure 12,13,14 vengono riportate la classificazione dei lavoratori in 6 categorie, le aree di lavoro a rischi diversificati (rischio minimo, basso, alto) e le azioni indicate in base alla categoria del lavoratore ed al livello di esposizione.

## Classificazione dei lavoratori

| Categoria | Descrizione                                                              |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------|
| 1A        | <i>Non problemi</i>                                                      |
| 1B        | <i>Sintomi di Atopia</i>                                                 |
| 2A        | <i>Asmatico senza allergia da animali</i>                                |
| 2B        | <i>Solo sintomi vie aeree superiori</i>                                  |
| 2C        | <i>Positività agli Anticorpi di animali di laboratorio senza sintomi</i> |
| 3         | <i>Chiara evidenza di asma correlata a animali di laboratorio</i>        |

## Classificazione della Mansione

| AREA                                                                                                                                                          | RUA (ng/m <sup>3</sup> ) |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| A <i>Rischio Minimo: Ufficio e corridoi di aree pulite</i>                                                                                                    | <6                       |
| B <i>Basso Rischio: Attività in aree con animali senza contatto diretto (engineering works), dissezione, post-mortem, lavaggio gabbie, corridoi inquinati</i> | 6- 60                    |
| C <i>Alto rischio Manipolazione di Animali (somministrazione farmaci, pesatura, raccolta campioni, alimentazione), cambio gabbie, cambio filtri</i>           | >60                      |

### Azioni Indicate

L'Esposizione RUA (allergeni urinari ratto) deve essere controllata :

<5 ng/m<sup>3</sup> per lavoratori di categoria 1 e categoria 2

<2 ng/m<sup>3</sup> per lavoratori di categoria 3 .

Questi limiti sono pragmaticamente basati su misurazioni di livelli normalmente rilevati per certi lavori e i rischi associati con questi lavori

In Figura 15 è riportata la tipologia di DPI da adottare in funzione della categoria dei lavoratori esposti.

| La selezione dei DPI segue il seguente schema: |                  |   |   |                              |            |            |
|------------------------------------------------|------------------|---|---|------------------------------|------------|------------|
| Lavoratore<br>Categoria                        | Selezione<br>DPI |   |   | Esposizione a RUA<br>(ng/m³) |            |            |
|                                                | A                | B | C | A                            | B          | C          |
| 1                                              | 1                | 2 | 2 | <6                           | 0.5 - 5    | >5         |
| 2                                              | 1                | 2 | 2 | <6                           | 0.5 - 5    | >5         |
| 3                                              | 2                | 3 | 4 | <0.5                         | 0.15 - 1.5 | 0.15 - 1.5 |

Dove:

| Tipo di DPI |                                                                                                                                                                                                                                                                            | APF |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1           | Non protezione respiratoria                                                                                                                                                                                                                                                | 0   |
| 2           | FFP2 mascherina facciale FFP3                                                                                                                                                                                                                                              | 12  |
| 3           | Maschera con respiratore THP3                                                                                                                                                                                                                                              | 40  |
| 4           | Maschera con respiratore THP3 con supervisione medica continua per confermare che il problema è adeguatamente sotto controllo<br>Nel caso la supervisione medica continua indica il persistere del problema deve essere individuata una attività ad esposizione più bassa. | 40  |

# Resoconto del break-out A “Conflitti e sinergie tra procedure operative e prevenzione delle LAA per gli operatori”

Massenzio Fornasier - Siena Biotech, Siena  
Giacomo Matteucci - Novartis Vaccines & Diagnostics, Siena

Il tema affidato alla breackout session era “Procedure operative e prevenzione delle LAA”. Sono state analizzate e discusse le procedure relative agli animali, al personale, al materiale ed alle attrezzature (Figure 1 e 2)

| Procedure Operative e prevenzione LAA in Stabulario                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Procedure Operative e prevenzione LAA in Stabulario                                                                                                                                                                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Animali</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Arrivo animali</li><li>• Movimentazione animali nell’area di stabulario</li><li>• Tipo di gabbia e lettiera</li></ul> <b>Personale</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Accesso controllato</li><li>• DPI appropriati ed uso corretto</li><li>• Norme Igieniche (lavaggio mani)</li><li>• Eliminazione DPI /lavaggio vestiario protettivo riutilizzabile</li></ul> | <b>Materiali</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• contenitori di trasporto</li><li>• movimentazione gabbie sporche</li><li>• svuotamento gabbie</li><li>• lavaggio e disinfezione</li><li>• pulizia locali</li><li>• gestione rifiuti</li></ul> |

L’arrivo degli animali rappresenta un punto critico nella strategia di controllo e prevenzione delle allergie. I contenitori di trasporto rappresentano una fonte di allergeni di natura diversa (urine, feci, peli, segatura). È necessario, una volta che l’animale è stato trasferito al di fuori del contenitore, contenere il più possibile la dispersione degli allergeni nell’ambiente. Chiudere i contenitori quindi, sigillarli e evitare la compattazione che provoca la dispersione degli allergeni stessi in ambiente.

Altro punto critico è la movimentazione degli animali nell’area dello stabulario. Le strutture dotate di IVC sono meno problematiche, in quanto la gabbia può essere portata ovunque come se fosse un contenitore ermetico. Nel caso di stabulazione in gabbie aperte è necessario applicare alle gabbie dei coperchi filtro e utilizzare dei carrelli per il trasporto con dispositivi filtranti, per evitare la dispersione di allergeni in ambiente.

La progettazione razionale delle strutture è importante: la necessità di trasportare animali per lunghi tragitti da un laboratorio all’altro comporta un elevato rischio di contaminazione di ambienti di lavoro anche non legati alla sperimentazione (corridoi, montacarichi, etc.).

Il tipo di lettiera da utilizzare non rappresenta un elemento decisivo, lo sono piuttosto le procedure di movimentazione delle gabbie che contengono la lettiera sporca, si dovrebbe evitare sempre l’impilamento delle gabbie sporche prima dello svuotamento.

È estremamente importate la gestione del controllo degli accessi del personale alle aree di stabulazione e sperimentazione. Se abbiamo la registrazione degli accessi abbiamo anche la possibilità di fare una verifica incrociata con la documentazione di training, e abilitare all’ingresso solo il personale che può dimostrare adeguato addestramento. È necessario evitare l’uso di badge non nominali (“jolly”) spesso utilizzati per manutentori o personale di servizio.

Nel caso di visitatori occasionali è necessario che ci sia sempre la presenza di un’altra persona adeguatamente addestrata, che segua passo passo l’ospite dando le indicazioni del caso e controllandone la corretta esecuzione.

I dispositivi di protezione individuale di per sè non costituiscono una garanzia assoluta, molta

della loro efficacia dipende dal modo in cui vengono utilizzati. Nelle procedure di vestizione, è necessario specificare la sequenza con cui si indossano il camice, i guanti, la mascherina, la cuffietta, e il corretto uso della panca utilizzata per le operazioni di vestizione.

Il lavaggio delle mani, sia in uscita che in entrata, è una misura apparentemente banale ma importante per evitare contaminazione di superfici critiche come le maniglia delle porte, il telefono, il badge.

La movimentazione del vestiario protettivo sporco lavabile, dovrebbe essere effettuata utilizzando sacchetti idrosolubili, per evitare l'esposizione agli allergeni del personale che si occupa dei servizi di lavanderia. L'uso di cappe aspirate per lo svuotamento delle gabbie sporche è necessario perché questo è il momento in cui la dispersione di allergeni nell'aria è maggiore. La nebulizzazione delle lettiere durante lo svuotamento è una soluzione interessante per chi non ha la possibilità di dotarsi di una cappa di adeguate caratteristiche.

Altra misura importante è la pulizia dei locali fatta con panno umido, da fare tutti i giorni anche se le superfici sembrano pulite.

Nell'ambito delle procedure collegate all'esecuzione delle attività sperimentali (Figura 3), quando sia necessario effettuare la rasatura del pelo degli animali è opportuno bagnare il pelo con dei disinfettanti liquidi, e utilizzare dei sistemi aspiranti, con filtri HEPA, per la rimozione del pelo. Quando non sia possibile effettuare le operazioni chirurgiche sotto cappa flusso laminare o chimica diventa importante l'uso corretto dei DPI in maniera tale che durante l'operazione, che di per sé porta la persona ad avvicinarsi molto all'animale, vi sia il maggior grado di protezione possibile. In ogni caso, la maniera più efficace per contenere il rischio di contaminazione parte dalla consapevolezza dell'operatore di essere esposto a una situazione di rischio. Questa consapevolezza non può che indurre nella persona consapevole dei comportamenti positivi.

I programmi di verifica di corretto funzionamento degli impianti sono in genere delegati a personale tecnico non coinvolto con la sperimentazione. È opportuno comunque che il personale coinvolto nella sperimentazione tenga alto il livello di attenzione, verificando in maniera indipendente che le condizioni ambientali (pressione, temperatura, umidità) siano corrette. Il controllo indipendente abitua tutto il personale a tenere gli occhi aperti e segnalare tempestivamente le eventuali anomalie.

## **Procedure Operative e prevenzione LAA in Stabulario**

### **Corretta esecuzione delle attività' sperimentali**

- Manipolazione
- Rasatura degli animali
- Utilizzo di sistemi aspiranti

### **Programmi di verifica del corretto funzionamento degli impianti**

- Filtrazione aria entrata/uscita
- Pressioni
- Temperatura e umidità'

Il programma di training del personale, sia interno che esterno, deve essere formalizzato e accompagnate dalle registrazioni delle attività di training effettivamente eseguite (Figura 4). Il programma deve tenere conto dell'esito degli audit periodici: in caso di anomalie (ad es. una procedura di vestizione non rispettata), sarà necessario esaminare i motivi e fare un training aggiuntivo oppure fare degli adeguamenti infrastrutturali o di materiali da utilizzare.

Anche nelle strutture più piccole (università, istituti di ricerca) è necessario tenere alta l'attenzione sul training, magari con poche regole, semplici, facili da comprendere e rispettare, anche con il passare del tempo.

Un altro punto importante riguarda le modalità di organizzazione del lavoro: è consigliabile organizzare dei team di lavoro a coppie, per favorire il controllo reciproco degli operatori nel rispetto delle procedure, ad es. un uso non corretto dei DPI. Attraverso una efficiente organizzazione del lavoro si può ottenere la riduzione del numero degli ingressi nelle aree controllate.

## **Procedure Operative e prevenzione LAA in Stabulario**

### **Training del personale**

- Personale interno
- Personale esterno (manutentori, operatori di stabulario)
- Programma di addestramento (teorico/pratico)
- Training records

Il controllo del problema delle allergie passa attraverso investimenti in attrezzature e impianti, ma anche e soprattutto attraverso investimenti sulle procedure, attraverso le quali si può rendere competitiva anche un'infrastruttura non ideale (Figura 5). L'addestramento del personale deve tenere conto degli aspetti motivazionali: una persona può sapere quello che deve fare, ma non lo fa perché non è convinto, non ne ha voglia, non ne vede l'utilità.

Acora oggi, sia nelle grosse istituzioni che nelle piccole realtà, gli operatori di stabulario sono spesso considerati come figure marginali, comunque non equiparabili ai ricercatori. Questo è un aspetto su cui lavorare per favorire il riconoscimento formale di queste figure professionali con indicazioni chiare dei mansionari, del training necessario.

## **CONCLUSIONI**

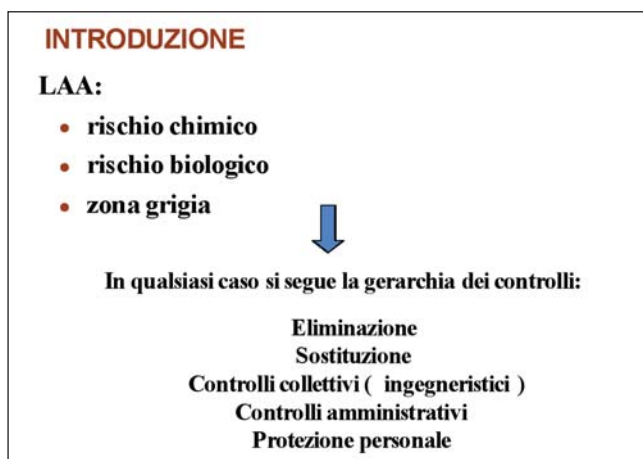
- Le soluzioni ingegneristiche e di attrezzature idonee all'abbattimento degli allergeni sono disponibili e consolidate.
- La riduzione dell'esposizione richiede l'implementazione di una serie di procedure e pratiche operative. In alcuni casi, problemi strutturali possono essere ridotti con idonee procedure.
- L'elemento umano (pratiche di lavoro, manutenzione e corretto utilizzo della strumentazione) rimane uno dei fattori fondamentali in grado di influenzare l'esposizione durante le attività quotidiane in stabulario.
- L'aspetto motivazionale del personale è determinante

# Resoconto del break-out B “Risk assessment come strumento per la prevenzione e controllo di LAA”

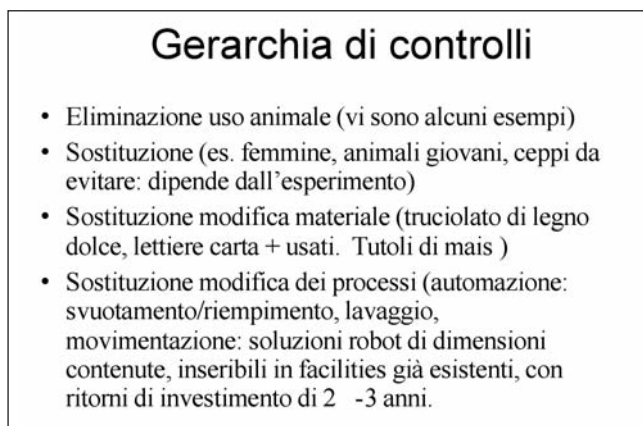
Roberto Carlesso - GlaxoSmithKline, Verona

Nel break-out B è stato fatto un esercizio molto concreto, cercando calare gli aspetti teorici di risk-assessment nella realtà di una facility, dove necessariamente si devono conciliare gli aspetti di sicurezza con le problematiche di budget e di investimento, in una realtà economica che in questi anni non è tra le migliori. Si è così cercato di avere un confronto tra addetti ai lavori, tra aziende diverse, per riuscire a creare una piattaforma comune di discussione.

Il primo punto discusso è stato “LAA che tipo di rischio è”? Ai fini del documento di valutazione del rischio dov'è inserita questa tipologia di rischio? Alcune aziende lo considerano un rischio chimico, altre un rischio biologico, altre ancora lo considerano un rischio non attribuibile ad uno specifico settore (Figura 1).



Quello che comunque è stato condiviso è l'approccio da adottare, che è quello della gerarchia dei controlli: eliminazione, sostituzione, controlli collettivi, fino ad arrivare ai dispositivi di protezione personale (DPI) (Figura 2).



È possibile considerare l'eliminazione del rischio, ossia l'eliminazione degli animali? È una via percorribile? Attualmente ci sono dei segnali in tal senso. Suddividendo la sperimentazione in due

tipologie: sulla sperimentazione di base o libera da normative GLP, qualcosa si sta facendo; ma con le attività di studio pre-clinico non è una via possibile per l'esistenza di protocolli specifici fissati da Ministeri e Enti regolatori.

Sostituzione degli animali femmine, animali giovani o ceppi da evitare. Anche per queste possibilità dipende molto dall'esperimento. Ad esempio a causa delle variazioni ormonali gli animali di sesso femminile non sempre possono essere utilizzate in sostituzione dei maschi.

Relativamente a sostituzione e modifica dei processi, in particolar modo le automazioni, sono a disposizione dei sistemi di robotica, sempre più piccoli, sempre più inseribili anche in facilities già esistenti, che hanno ritorni di investimento di 2-3 anni. È una strada che comincia a essere percorribile. Attualmente le dimensioni dello stabulario per il quale può valere la pena di pensare ad un'integrazione del genere è circa di 5.000 gabbie.

Sempre sulla gerarchia di controlli è stato affrontato l'aspetto dell'isolamento e del confinamento (Figura 3).

### Gerarchia di controlli

- Isolamento/confinamento (gabbie aperte, gabbie con coperchio filtrante, IVC; “pareti aspirate”, isolatori).....tipologia di esperimenti.
- Ventilazione generale: temperatura/umidità\*

La sensazione è che, ad eccezione delle facilities di nuova costruzione, che possono utilizzare le tecnologie più avanzate, come gabbie IVC, la maggior parte degli stabulari ha ancora gabbie aperte di tipo convenzionale.

In merito al fattore ventilazione è noto che si deve raggiungere un compromesso tra il benessere della persona, dell'animale e quelli che sono i livelli microclimatici (umidità e temperatura), tali da mantenere al livello più basso possibile gli allergeni.

Sull'impiego di cappe di aspirazione e sui relativi controlli è stato ribadito come le cappe Biohazard siano da preferire. Esiste comunque l'utilizzo anche di cappe chimiche, specialmente quando l'impiego dell'animale è associato anche con l'uso di sostanze pericolose, ad esempio durante fasi terminali di autopsia o perfusione in cui, contemporaneamente, si fa uso di formaldeide.

Le qualifiche di installazione sono un elemento essenziale per poter avere evidenza di disporre di cappe (sia biohazard che chimica) correttamente funzionanti in rispetto alle norme EN12469 ed EN14175. Alla corretta installazione delle cappe segue la corretta manutenzione periodica delle stesse (Figura 4).

### Gerarchia di controlli: LEV

- Ventilazione specifica (LEV): quale attività, che velocità di estrazione, che verifica fare e che periodicità dei controlli
- Cappe chimiche per manipolazione e per sistemi fluovac
- Banchi aspirati
- Che verifiche vengono fatte iniziali e quali periodiche (cappe biologiche 12469; cappe chimiche 14175)

Molti degli aspetti contemplati dalla gerarchia dei controlli di tipo amministrativo sono ormai quotidianità. È stato comunque introdotto un elemento di novità, l'importanza del documento unico di valutazione per i non addetti ai lavori che permette il trasferimento dell'informazione su quelli che sono i rischi presenti nel proprio ambiente di lavoro, incluso il rischio LAA, dal committente al datore di lavoro della ditta appaltatrice e su quelle che sono le necessità di sorveglianza sanitaria (Figura 5).

### Gerarchia di controlli: controlli amministrativi

- Separazione aree
- Training
- Procedure
- Norme igieniche
- Job rotation
- Gestione rifiuti
- Programma manutenzioni

Ancora una volta è emersa l'importanza del fit test quale componente fondamentale per la scelta del corretto facciale filtrante da indossare da parte degli operatori. È importante sottolineare comunque che il fit-test va ripetuto normalmente ogni due anni, ma anche ogni volta che vi sia l'insorgenza di uno stato patologico, o ancora quando vari la conformazione del viso in seguito a cambiamenti di peso corporeo, come pure nel caso di importanti interventi dentistici (per es. presenza di protesi).

Elemento critico fondamentale, che può determinare la buona o la cattiva riuscita del sistema, è l'essere umano. Fatte le regole, è necessario far sì che le persone in realtà le rispettino, sempre. È, irrinunciabile quindi la motivazione dei collaboratori e che il management aziendale responsabilizzi il proprio personale in modo che esso stesso svolga un ruolo attivo su tutto quello che è il sistema di controllo.

Al fine di incentivare l'adesione delle persone alle disposizioni stabilite, è possibile inoltre introdurre dei sistemi premianti, come già alcune aziende fanno, nell'ambito di quelli che sono i riconoscimenti sulla performance e la capacità professionale delle persone, assegnando obiettivi misurabili su aspetti di sicurezza a manager, a responsabili di uno stabulario, a responsabili gerarchici o preposti, agli addetti ecc.

### Gerarchia di controlli: DPI

- Importanza del FIT TEST
- Sanzioni in caso di non uso di DPI (RPE)!????
- Esterni (contractors, visitatori) come gestirli (es. questionario con successiva valutazione concordata della tipologia dei DPI da usare: non sempre fattibile)
- Sistemi premianti per comportamenti virtuosi

# Quale sorveglianza sanitaria per gli operatori esposti a rischio di Allergie da Animali da Laboratorio

Laura Bungalassi - Novartis Vaccines and Diagnostics, Siena



Alla fine di due giornate di lavoro, per evitare il rischio di ripetere concetti che già il Professor Corradi, nella lezione magistrale, ed il dottor Bulgheroni, nella presentazione precedente, hanno ampiamente trattato, ho ritenuto opportuno modificare la mia presentazione originale. Ed ho deciso di integrarvi, quindi, i risultati del break-out C su "Quale sorveglianza sanitaria per gli operatori esposti a rischio di Allergie da Animali da Laboratorio".



Obiettivo del break out doveva essere proprio quello di trovare un metodo condiviso di sorveglianza sanitaria, sfruttando la presenza di medici competenti di grandi aziende che hanno la problematica simile per cercare di condividere un metodo, una strategia diagnostica, il più possibile

semplice, per identificare i lavoratori a rischio di essere o diventare sensibili ad allergeni animali. Il risultato del break out è stato sicuramente molto interessante. In percentuale, in un 80% dei punti di discussione ci siamo trovati assolutamente concordi, per il restante 20% invece c'è ancora bisogno di confronto. Sono comunque emerse alcune proposte interessanti, da sviluppare ulteriormente.

**Quale Sorveglianza Sanitaria per il personale "esposto" ad allergeni di animali da laboratorio?**

**Punti di discussione (1)**

**SORVEGLIANZA SANITARIA vs RISK ASSESSMENT**

**RISK ASSESSMENT: "WHO, WHAT, HOW, WHEN, WHERE, ...."**

- Quali informazioni devono arrivarci?
- Come possiamo collaborare/essere proattivi affinché sia più efficiente possibile?
- Cosa dobbiamo conoscere? (work -flow)

3 | Controllo sanitario dei lavoratori addetti alle attività con animali (L.8) | 18
10-09 | Conference LAA | Business Use Only
 NOVARTIS

A nostro parere il compito più importante del medico competente è quello di contribuire a rilevare, nella maniera più immediata possibile, quelli che sono i sintomi di un'allergia che si possono manifestare nei lavoratori.

Questo concetto l'abbiamo più volte sentito durante la conferenza, nelle precedenti presentazioni. La sorveglianza sanitaria è parte di quel puzzle composto da funzioni tecniche che operano nell'ambito della prevenzione in azienda, da quelle ingegneristiche, di progettazione e controllo, fino a quelle di tipo organizzativo procedurale, di organizzazione del lavoro. Queste funzioni, nel sistema di gestione del rischio allergeni da animali da laboratorio, sono correlate l'una all'altra ed il sistema funziona se tutte interagiscono correttamente fra loro. Il ruolo del medico competente è fondamentale proprio perché può essere paragonato a quello di un operatore di validazione, cioè all'auditor di questo sistema.

Se qualcosa non funziona, se l'operatore sviluppa un sintomo, è possibile evidenziarlo in occasione della visita. La visita rileva un'alterazione che prima non era presente: in buona sostanza, questo vuol dire che c'è stata una possibile esposizione, qualcosa in questo sistema che non ha funzionato correttamente.

Di questo problema non si deve far carico solo il medico competente. Tuttavia è quest'ultimo che deve dare l'informazione: da quel momento deve ripartire un processo/analisi di verifica che interesserà tutte le altre funzioni coinvolte.

Il ruolo fondamentale del medico, in questo sistema, è proprio il monitoraggio sanitario dell'operatore esposto, sia principalmente in fase di visita preventiva che nelle visite periodiche. Un monitoraggio basato su un metodo quanto più possibile "semplificato": un'approfondita anamnesi su ogni singolo soggetto e protocollo sanitario specifico. Quest'ultimo da applicare secondo steps legati non solo alla mansione (ed ai livelli di esposizione ad allergeni ambientali valutati) ma soprattutto al rilievo o meno di problematiche sanitarie proprie del soggetto che potrebbero aumentarne il rischio di sviluppo di LAA.

Come fare quindi un corretto protocollo sanitario? Il protocollo sanitario si fa se abbiamo un valido risk assessment.

Cosa richiede il medico al documento di valutazione dei rischi? Quali informazioni? Cosa dobbiamo conoscere?

## Quale Sorveglianza Sanitaria per il personale "esposto" ad allergeni di animali da laboratorio?

### Punti di discussione (1)

#### **CONCLUSIONI**

- Il DVR deve darci elementi per graduare il livello di rischio per le varie mansioni/attività svolte.
- La sorveglianza sanitaria deve essere rivolta a tutto il personale che lavora a contatto con animali di laboratorio a prescindere dai dati di monitoraggio del DVR (FATTORE DI RISCHIO SENZA SOGLIA).
- Il DVR deve dare indicazioni sulla prevenzione del rischio ma deve anche permettere di far lavorare tutti!

4 | Controllo sanitario del lavoratore addetto alle attività (L8) | 16

-10-09 | Conference LAA | Business Use Only



Queste sono le conclusioni sul primo punto di discussione, tutte concordate.

Il DVR deve darci elementi per graduare il livello di rischio per le varie mansioni e attività svolte. Questa parte è di fondamentale importanza, specie quando il medico competente si trova di fronte ad idoneità difficili in cui proprio la graduazione del rischio è elemento determinante ai fini del rilascio o meno dell'idoneità alla mansione.

Concordiamo inoltre che la sorveglianza sanitaria specifica deve essere rivolta a tutto il personale che lavora a contatto con gli animali da laboratorio, a prescindere dai dati di monitoraggio del DVR.

I dati di monitoraggio sono sicuramente utili per capire il grado di esposizione, però è anche vero che non esiste, per il fattore di rischio allergie da animali da laboratorio, un valore soglia riconosciuto, cioè una dose definita affinché si possa determinare un effetto prevedibile. Sappiamo infatti che la dose stessa di scatenamento di una allergia è diversa da quella che può essere la dose di elicitazione in un soggetto già allergico.

Il medico competente deve collaborare al DVR affinché quest'ultimo sia in grado di dare indicazioni sulla prevenzione del rischio in modo completo, valutare quindi l'esposizione sia in termini quantitativi che qualitativi. Il tutto per poter permettere di far lavorare "tutti" gli operatori in sicurezza fin dove il rischio sia valutato accettabile. Ad esempio non possiamo pensare che debba ricadere solo sul medico competente la scelta di permettere o meno l'accesso al lavoro di una persona; questo deve essere, invece, il risultato di un lavoro di equipe, utilizzando tutti gli strumenti disponibili. Quale protocollo sanitario?

## Quale Sorveglianza Sanitaria per il personale "esposto" ad allergeni di animali da laboratorio?

### Punti di discussione (2)

#### **PROTOCOLLO SANITARIO**

- Preventivo = Periodico?
- Quale periodicità?
- Quale anamnesi/visita medica mirata e quale/i questionari specifici?
- Test funzionalità respiratoria: QUALI/QUANDO?
- Dosaggio IgE totali (RIST): SI/NO/QUANDO?
- Dosaggio IgE specifiche (RAST): SI/NO/QUANDO?
- Prick tests: SI/NO/QUANDO?
- Visite specialistiche allergologiche/dermatologiche/pneumologiche: QUANDO?
- Formazione/informazione ai lavoratori

5 | Controllo sanitario del lavoratore addetto alle attività (L8) | 16

-10-09 | Conference LAA | Business Use Only



Abbiamo condiviso come il protocollo sanitario preventivo non deve essere uguale a quello periodico. La periodicità a nostro parere va stabilita singolarmente per ogni operatore dopo la visita preventiva. Le indicazioni della letteratura dicono appunto che la possibilità di sviluppare patologie di tipo allergico da allergeni animali è sicuramente più frequente nei primi 3-4 anni di esposizione all'allergene. Sarebbe quindi consigliato, dopo una prima visita preventiva, stabilire una periodicità non immediatamente annuale, ma cercare di rivedere per i primi tempi un po' più frequentemente il dipendente. Ovviamente non ci sono dati di riferimento in letteratura, l'interpretazione poi alla fine è autonoma di ciascun medico. La visita preventiva: abbiamo concordato che l'anamnesi e la valutazione clinica mirata sono elementi fondamentali ai fini non solo di una diagnosi, ma anche appunto di una previsione di sviluppo di sensibilizzazione a questi allergeni. La spirometria è sicuramente un dato importante. Abbiamo tutti concordato invece che il dosaggio di IgE totali non è significativo in quanto manca di specificità. Abbiamo condiviso che i RAST per allergeni specifici di animali, non essendo validati, non devono far parte di uno screening di primo livello. Se un soggetto non risulta clinicamente atopico, non ha indicazioni per sviluppare un'allergia, è "assurdo" proporre test così in fase di visita preventiva. Eventualmente lo possiamo fare come test diagnostico in soggetti che già presentano un'atopia. In questi casi dobbiamo assicurarci che prima di iniziare a lavorare i soggetti non risultino allergici a specifici antigeni che possono essere presenti sul lavoro.

Sulla questione invece "utilità del Prick test per allergeni comuni" come screening di base in visita preventiva, non abbiamo trovato un accordo comune.

Quale Sorveglianza Sanitaria per il personale "esposto" ad allergeni di animali da laboratorio?

Punti di discussione (2)

CONCLUSIONI

- Protocollo sanitario
- visita preventiva:**
  - Anamnesi e valutazione clinica mirata con utilizzo di questionari specifici per rischio allergia
  - Spirometria
  - Dosaggio IgE tot: non significativo/ manca di specificità
  - RAST per allergeni animali: non validati
  - **PRICK TEST per allergeni comuni ???**

© Controlli sanitari dei lavoratori addetti alle attività veterinarie (LS) 16
-10-09 Conference LAA Business Use Only



Nella azienda in cui sono medico competente, il protocollo sanitario standard è basato essenzialmente sull'accuratezza dell'anamnesi e sulla valutazione clinica mirata alle vie respiratorie e cutanee, tramite l'utilizzo di strumenti come lo spirometro e questionari specifici per rischio allergologico.

I questionari che utilizzo sono molto simili a quelli che ci offre la letteratura. Si tratta di questionari di tipo diagnostico e prognostico. I questionari diagnostici, di cui appunto non esiste un modello standardizzato/riconosciuto, insieme all'anamnesi e alla valutazione clinica mirata, permettono di fare una suddivisione della popolazione lavorativa in un gruppo di lavoratori ad alto livello di sviluppo di allergie e un gruppo a basso livello.

Ovviamente il gruppo selezionato su questa base "ad alto livello di sviluppo di allergie", verrà sottoposto, sulla base del DVR e della mansione a cui sarà avviato, ad ulteriori test specifici, in questo caso Rast, Prick e altro; mentre per quanto riguarda il gruppo "a basso rischio di sviluppo di allergia", sarà periodicamente sottoposto a visita e ad un questionario di tipo prognostico.

Gli items del questionario prognostico sembrano avere proprio un valore predittivo ai fini di ri-

conoscere all'interno del gruppo dei lavoratori a basso rischio quelli che hanno la possibilità di sviluppare, entro i successivi tre anni, manifestazioni di tipo allergico.

Un altro punto di discussione: quale popolazione sottoporre a sorveglianza sanitaria?

#### Quale Sorveglianza Sanitaria per il personale "esposto" ad allergeni di animali da laboratorio?

##### Punti di discussione (3)

##### CHI SOTTOPORRE A SORVEGLIANZA SANITARIA:

- ADDETTI STABULARIO
- TECNICI DI ANIMAL EXPERIMENT
- RICERCATORI
- MANUTENTORI (?) - ALTRO PERSONALE INTERNO CHE ACCEDE ALLO STABULARIO ( ES. HSE, MC, ING, QA,.....)
- ESTERNI: "OSPITI OPERATIVI"
- ESTERNI: ES. CONTRACTORS..... ?

7 | Controlli sanitari dei lavoratori addetti alle attività di laboratorio (LB) | 16

- 10-09 | Conference LAA | Business Use Only



Gli addetti allo stabulario, i tecnici di Animal Experiment, i ricercatori? Sicuramente sì. Ma guardiamo altre figure, per esempio i manutentori, o altro personale che accede all'interno dello stabulario, che non siano appunto i lavoratori stessi e gli sperimentatori e i ricercatori che sono a contatto (e lo sappiamo) con gli animali da esperimento.

Il loro accesso può essere saltuario però, vogliamo includere anche loro nella sorveglianza sanitaria? Parliamo anche degli ospiti esterni, ma con mansione operativa. Parliamo anche dei contractors. Ieri abbiamo avuto, in occasione del break out, una testimonianza diretta di una ricercatrice, di una biologa, che riferiva appunto di aver contratto un'allergia da animali da laboratorio proprio lavorando, dichiarando di non essere stata sottoposta a sorveglianza sanitaria.

Quindi come risultato, a questo punto, possiamo dire che idealmente tutti coloro che sono esposti ad allergeni animali dovrebbero essere sottoposti a sorveglianza sanitaria.

Ciò che è importante è che queste figure vengano avviate alla sorveglianza sanitaria.

Sono riportati vari esempi di situazioni e di patologie che possiamo riscontrare e che pongono ovviamente delle problematiche nel rilascio dell'idoneità.

#### Quale Sorveglianza Sanitaria per il personale "esposto" ad allergeni di animali da laboratorio?

##### Punti di discussione (4)

##### IDONEITA' DIFFICILI:

- Asma allergico senza e con evidenza di positività per allergeni animali
- Rinocongiuntivite allergica : da allergeni animali da allergeni diversi (graminacee/erbe/pollini/muffa...)
- Sintomatico con negatività ai tests specifici di allergia (cause non allergiche)
- Asintomatico con positività ai tests specifici di allergia
- Sintomatico verso allergeni delle animal facilities come endotossine/polveri organiche etc
- Bronchiti ostruttive / riduzione della funzionalità polmonare <70% del normale

9 | Controlli sanitari dei lavoratori addetti alle attività di laboratorio (LB) | 16

- 10-09 | Conference LAA | Business Use Only



Le conclusioni finali del break out di ieri. Sicuramente l'importanza da dare ai training sanitari, cioè l'importanza dell'informazione al lavoratore, in fase preventiva, sui rischi e sulla salute in relazione al lavoro con gli animali. Educare, cioè, i lavoratori sui segni e i sintomi di malattia allergica. Il medico competente è una figura fondamentale per rilevare quanto prima sintomi di malattia, ma l'altra figura importante è proprio il lavoratore stesso; consapevole ed è possibile creare consapevolezza solo facendo aumentare la sua competenza, attraverso informazioni e training e può essere utile unire il training sanitario ai training già predisposti anche da altre funzioni come HS&E o dal Servizio di Prevenzione e Protezione. Inoltre, per concludere, si è rilevato come i dati epidemiologici, sembrano essere un po' datati. Quindi, la richiesta che noi facciamo nei confronti delle associazioni, ai medici di azienda, ai medici competenti, ma lo chiediamo anche all'ISPESSL è di intervenire e di aiutarci per l'aggiornamento al fine di poter disporre di dati molto più attendibili.

**Quale Sorveglianza Sanitaria per il personale "esposto" ad allergeni di animali da laboratorio?**

**CONCLUSIONI**

- **Training "sanitari"** : importanza della informazione in fase preventiva sui rischi sulla salute in relazione al lavoro con animali  
Educare i lavoratori sui segni e sintomi di malattia allergica
- **Mancanza di dati epidemiologici recenti** : richiesta intervento delle varie associazioni medici d'azienda/ ISPESSL etc

10 | Controllo sanitario dei lavoratori addetti alle attività con animali | 16

-10-09 | Conferenza LAA | Business Use Only





