

La presenza di corpuscoli dell'asbesto nell'espettorato indotto come indicatore di esposizione ad amianto¹

M. PETTAZZONI, G. RIVOLTA*, P. MASCAGNI, MARTA CARCANO, SARA PORRO, F. TOFFOLETTO

Unità Operativa di Medicina del Lavoro, Ospedale di Desio

* Clinica del Lavoro "Luigi Devoto", Dipartimento di Medicina del Lavoro, Milano

KEY WORDS

Asbestos bodies; induced sputum; asbestos exposure

SUMMARY

«*The presence of asbestos bodies in induced sputum as an indicator of asbestos exposure*». **Background:** *Very few references on the usability of presence of asbestos bodies (AB) in induced sputum as an indicator of asbestos exposure are to be found in the scientific literature.* **Objectives:** *The purpose of this study was to prove whether the presence of AB in induced sputum is a valid assessor of asbestos exposure.* **Method:** *This was achieved by comparing the above-mentioned method with the search for AB in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid and repeating the trials over time in order to study the reproducibility of the results.* **Results:** *There was good agreement of results for the presence/absence of AB in induced sputum and in BAL among subjects who were environmentally exposed and those with a medium-high risk occupational exposure (100%), and poor agreement (66%) among subjects with a low risk occupational exposure. Agreement of results regarding the amount of particles per test was low. The method showed a sufficient reproducibility level (Cohen K=0.5).* **Conclusions:** *Although the presence of asbestos bodies in induced sputum cannot replace bronchoalveolar lavage, it can however be used as a screening test for selecting subjects who should undergo BAL.*

RIASSUNTO

In letteratura vi sono scarsi riferimenti circa l'utilizzabilità della ricerca dei corpuscoli dell'asbesto (CA) nell'espettorato indotto per valutare l'esposizione ad amianto. Scopo di questo lavoro è verificare se la ricerca dei CA nell'espettorato indotto sia un indicatore valido di esposizione all'amianto, mediante il confronto con la ricerca dei CA nel liquido di broncolavaggio (BAL) e studiando la riproducibilità dei risultati attraverso valutazioni ripetute nel tempo. La concordanza nel riscontro di presenza/assenza di CA fra l'espettorato indotto e la tecnica del BAL è risultata buona fra i soggetti con esposizione ambientale e fra i soggetti con esposizione professionale medio-alta (100%), mediocre fra i soggetti con esposizione professionale lieve (66%). La concordanza sulla numerosità dei corpuscoli per campione è risultata scarsa. La metodica proposta ha dimostrato una sufficiente riproducibilità (k di Cohen=0.5). La ricerca dei corpuscoli dell'asbesto nell'espettorato indotto non può essere considerata sostitutiva del broncolavaggio alveolare ma, piuttosto, un buon test di screening a cui eventualmente far seguire il BAL.

Pervenuto il 13.9.2006 - Accettato il 6.11.2006

Corrispondenza: Dr. Marco Pettazzoni, c/o Unità Operativa di Medicina del Lavoro, Ospedale di Desio, Via Mazzini 1, 20033 Desio - Tel. 0362.383211 - Fax 0362.383299 - E-mail: mpettazzoni@hotmail.com

¹I risultati di questo studio sono stati in parte presentati al 68° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro ed Igiene Industriale. Parma, 5-8 ottobre 2005

INTRODUZIONE

La possibilità di disporre di affidabili indicatori di esposizione ad amianto è di grande utilità ai Medici del Lavoro nella sorveglianza di lavoratori esposti a tale rischio, sia per la diagnosi di patologie correlabili all'asbesto inalato nel corso di pregresse esposizioni lavorative, sia per un rigoroso controllo delle corrette modalità di lavoro e dell'efficienza dei dispositivi di protezione individuali degli addetti alla rimozione di tale sostanza a scopo di bonifica.

Una accurata anamnesi, pur essendo indispensabile, si rivela spesso insufficiente o ambigua per una valutazione affidabile dell'esposizione.

Il lavaggio bronco-alveolare (BAL) è efficacemente utilizzato per la stima del carico polmonare di asbesto. Infatti, in base al numero di corpuscoli dell'asbesto (CA) riscontrati per ml, è possibile distinguere i soggetti con esposizione nulla o minima (ovvero "ambientale": meno di 1 CA/ml), dai soggetti con esposizione significativa (verosimilmente "professionale" lieve: 1-10 CA/ml; media: 10-100 CA/ml; elevata: >100 CA/ml) (4).

Tuttavia a causa della sua invasività il BAL può essere proposto solo ai soggetti per i quali si sospetti una patologia di significativa rilevanza clinica.

Altri accertamenti meno invasivi frequentemente utilizzati (quali l'obiettività toracica, la radiografia e/o TAC del torace, le PFR con studio della diffusione alveolo-capillare) non sono indicatori di esposizione, ma di danno (3, 7).

La ricerca dei corpuscoli dell'asbesto (fibre di amianto rivestite di materiale di natura proteica ad opera dei macrofagi) nell'espettorato è proposta da oltre 25 anni come indicatore di esposizione ad amianto.

In pratica, però, tale accertamento viene utilizzato molto raramente a causa della difficoltà dei soggetti (specialmente se non portatori di una patologia bronchiale) ad espettorare materiale idoneo, con la conseguente necessità di numerose ripetizioni della raccolta.

In questi ultimi anni è andata diffondendosi, anche per altre finalità, la tecnica dell'induzione dell'espettorato con aerosol salino che, con modalità semplice e non invasiva, consente di raccogliere in

un'unica seduta, anche in soggetti sani ed in percentuali superiori all'80%, escreato di provenienza bronchiale idoneo alla ricerca dei CA (6, 8).

Tuttavia ben pochi lavori esistono in letteratura sia a riguardo del valore predittivo (come indicatore di esposizione ad amianto) dei CA nell'espettorato indotto, sia a riguardo della riproducibilità del test (9).

In particolare sono scarsi i dati sul livello di correlazione con il numero di CA nel liquido bronchiale recuperato dopo BAL (2, 10).

Scopo del lavoro è verificare se la ricerca dei corpuscoli dell'asbesto nell'espettorato indotto sia un indicatore valido di esposizione all'amianto, mediante il confronto con la ricerca dei CA nel liquido di broncolavaggio (attualmente considerato come l'indicatore più affidabile) e studiando la riproducibilità dei risultati attraverso valutazioni ripetute nel tempo.

POPOLAZIONE E METODI

L'induzione dell'espettorato è stata praticata mediante un'unica seduta di inalazione di nebbia ultrasonica di una soluzione idrosalina (NaCl al 5%) della durata di circa 20 minuti (8). Sui campioni di espettorato raccolti è stato eseguito uno striscio su vetrino, per valutarne la componente cellulare e verificarne l'origine bronchiale.

I campioni sono stati pesati, sottoposti alla "digestione" del materiale biologico mediante aggiunta di ipoclorito di sodio e filtrati su membrana Millipore per osservarne, previa diafanizzazione con soluzione chiarificante, l'eventuale contenuto in corpuscoli mediante microscopio a contrasto di fase (1).

Il BAL è stato eseguito utilizzando la metodologia raccomandata dalla Società Europea di Pneumologia e già descritta in precedenti lavori (5).

Quando i corpuscoli appaiono evidenti e numerosi già alla prima osservazione i conteggi dei CA al microscopio ottico vengono eseguiti direttamente su vari citocentrifugati non colorati allestiti per lo studio citologico, altrimenti si applica il metodo dell'arricchimento: un'aliquota di 10 ml di BAL viene trattata con sodio ipoclorito al 10% per 2 ore

(per digerire la componente organica) e filtrata su filtro Millipore, con pori del diametro di 3 micron, che viene poi diafanizzato. Il conteggio si esegue su tutto il filtro. Con questa metodica la sensibilità sale a 1 corpuscolo su 10 ml, ovvero 0,1 corpuscoli per ml di liquido di broncolavaggio.

Lo studio ha riguardato 3 differenti gruppi (tabella 1).

Il Gruppo A: costituito da 17 soggetti che sono stati sottoposti sia all'induzione dell'espettorato che all'esecuzione di BAL.

Il Gruppo B: costituito da 25 soggetti che, nel corso degli ultimi anni, sono stati più volte sottoposti all'induzione dell'espettorato per la ricerca dei CA.

Il Gruppo C: costituito dai 51 soggetti che nell'arco di 3 anni si sono sottoposti a visita di idoneità a lavori di rimozione di materiali contenenti asbesto e che sono stati sottoposti a induzione dell'espettorato. Tali soggetti sono stati ulteriormente suddivisi in due sottogruppi: uno a bassa esposizione (44 lavoratori con attività di rimozione prevalentemente svolta secondo le direttive del D.Lgs. 277 del 1991), l'altro a medio-alta esposizione (7 lavoratori con attività di rimozione prevalentemente svolta prima del 1991 non seguendo le direttive del D.Lgs. 277).

È stato infine costituito un gruppo di controllo, costituito da 24 soggetti caratterizzati dalla completa assenza di esposizioni professionali ad amianto.

RISULTATI

In tabella 2, sono riportati i risultati ottenuti nei 17 soggetti che hanno eseguito la ricerca dei CA sia mediante BAL che mediante l'induzione dell'e-

Tabella 2 - Numerosità dei corpuscoli dell'asbesto (CA) nel BAL e nell'espettorato indotto

Table 2 - Amount of asbestos bodies (AB) in BAL and in induced sputum

BAL n. CA per ml	BAL n. CA totali	Classificazione De Vuyst	Espettorato indotto n. CA totali
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0,2	12	1	0
0,2	184	1	0
0,66	84	1	0
0,7	42	1	0
1	60	2	0
1,4	168	2	0
1,5	162	2	0
5,5	478	2	400
8	464	2	9
12	720	3	5
18	1710	3	35
21	2037	3	156
80	2800	3	13
113	6780	4	14

spettorato, ordinati in funzione del numero crescente di corpuscoli evidenziati nel BAL, accanto al quale viene indicata la classificazione del livello di esposizione ad amianto secondo la proposta di De Vuyst.

In tabella 3 gli stessi soggetti sono stati ordinati per presenza/assenza di corpuscoli nell'espettorato indotto, in funzione della esposizione e della classificazione proposta da De Vuyst.

I risultati della ricerca dei CA in controlli ripetuti 2 o 3 volte negli stessi soggetti con la tecnica dell'espettorato indotto sono riportati nella tabella 4.

Tabella 1 - Popolazioni allo studio

Table 1 - Subjects

Caratteristiche generali	Gruppo A	Gruppo B	Gruppo C			Gruppo di controllo
			Totali	Sottogr. I (esp. lieve)	Sottogr. II (esp. medio/alta)	
Soggetti - n. (%)	17	25	51 (100%)	34 (86%)	7 (14%)	24
Età - media (DS)	59 (7,4)	42,6 (9,3)	35,2 (10,8)	33,5 (10,8)	46,1 (10,0)	39,9 (11,7)
Abitudine al fumo pacchetti/anno - media (DS)	18,2 (15,8)	12,2 (15,8)	11,2 (13,5)	10 (12,1)	13 (21,6)	5,4 (8,5)

Tabella 3 - Confronto fra la presenza o l'assenza di corpuscoli dell'asbesto (CA) rispettivamente nel BAL e nell'espettorato indotto di 17 soggetti sottoposti ad entrambi gli accertamenti (gruppo A)

Table 3 - Comparison between presence/absence of asbestos bodies (AB) in BAL and in induced sputum of 17 subjects who underwent both tests

N. sogg.	BAL N. CA/ml	Significato	Espettorato indotto assenza di CA	Espettorato indotto presenza di CA	Risultati concordanti
7	da 0 a 0.9	esposizione ambientale	7	0	7/7
5	da 1 a 9.9	esposizione lieve	2	3	3/5
5	≥10	esposizione professionale medio/elevata	0	5	5/5

Tabella 4 - Presenza o assenza di corpuscoli dell'asbesto (CA), rilevati nell'espettorato indotto in controlli ripetuti (gruppo B)

Table 4 - Presence/absence of asbestos bodies (AB) in induced sputum in repeated trials (group B)

Presenza di CA nel 1° controllo	Presenza di CA nei controlli successivi	N. casi	Risultati concordanti	Risultati discordanti
Si	Si	12		
No	No	9	21	
Si	No	3		
No	Si	1		4

La ricerca dei corpuscoli dell'asbesto nei 51 soggetti con esposizione nota ad amianto (gruppo C) ha evidenziato la presenza di CA in 12 soggetti (23%), distribuiti disomogeneamente nei singoli sottogruppi come indicato nella tabella 5. Infatti la percentuale di soggetti con corpuscoli è nettamente superiore nel sottogruppo a maggior esposizione (71%) rispetto al sottogruppo a minor esposizione, ove è comunque riscontrabile una percentuale non trascurabile di soggetti con corpuscoli (16%).

Nei 24 soggetti di controllo non sono stati evidenziati CA, salvo in 1 caso (4,2%) che ha presentato un corpuscolo. Tale dato è parzialmente spiegabile dall'analisi della storia abitativa del soggetto che ha evidenziato la presenza (per circa 20 anni) di manufatti in cemento-amianto (pannelli isolanti) nell'abitazione.

DISCUSSIONE

La buona concordanza nel riscontro di presenza o assenza di CA fra l'espettorato indotto e la tecnica del BAL sembra confermare un'adeguata sensibilità della metodica. La concordanza sembra essere elevata fra i soggetti con esposizione ambientale (7 su 7) e fra i soggetti con esposizione professionale medio-alta (5 su 5), mentre appare mediocre fra i soggetti con esposizione professionale lieve (3 su 5). Inoltre la conferma dei riscontri positivi o negativi nel corso di controlli successivi mostra una sufficiente riproducibilità del test (k di Cohen = 0,5), nei limiti dati dall'esiguità del campione.

I risultati appaiono invece molto più dispersi a riguardo della valutazione dell'entità della esposizione. Infatti nel confronto con il BAL appare

Tabella 5 - Numero di soggetti del gruppo C nei quali è stata riscontrata la presenza di corpuscoli dell'asbesto (CA)

Table 5 - Number of subjects with asbestos bodies (AB) in group C

	Esposti Totali	Sottogr. I (bassa esposizione)	Sottogr. II (medio-alta esposizione)
N. soggetti	51	44	7
N. (%) di soggetti con presenza di CA	12 (23%)	7 (16%)	5 (71%)

molto debole la correlazione fra il numero di corpuscoli per campione rispettivamente riscontrati con le due tecniche.

Sembra quindi di poter affermare che la presenza di CA nell'espettorato indotto sia da considerarsi, in analogia a quanto già appurato in passato per l'espettorato spontaneo, un buon indicatore di esposizione, mentre l'eventuale utilizzo come indicatore di dose deve essere valutato su popolazioni molto più numerose.

In conclusione la metodica presentata non può essere considerata sostitutiva del broncolavaggio alveolare, ma piuttosto come preliminare ad esso, permettendone un successivo più appropriato utilizzo in casi selezionati.

La ricerca di corpuscoli nell'espettorato indotto infatti sembra essere, vista la sua bassa invasività e la sua non complessa eseguibilità, un valido test di screening applicabile sia nella sorveglianza sanitaria dei soggetti impiegati nelle operazioni di bonifica e rimozione dei manufatti contenenti amianto, sia nella conferma dell'esposizione in soggetti con pregressa attività professionale con amianto.

NO POTENTIAL CONFLICT OF INTEREST RELEVANT TO THIS ARTICLE WAS REPORTED

BIBLIOGRAFIA

1. BELLIS D, DE ROSA G, COVERLIZZA S, CASTAGNETO B: Ricerca corpuscoli dell'asbesto in citodiagnostica: fattibilità e utilità routinaria di una tecnica in microscopia ottica. Atti della *Conferenza Nazionale sull'Amianto*, Roma 1/5 marzo 1999
2. CAPELLARO E, CHIESA A, VILLARI S, et al: Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid and sputum. *Med Lav* 1997; 88: 99-107
3. CHIAPPINO G, BERTAZZI PA, BECCALOSSO F: Asbestos: valutazione degli indicatori non radiologici. *Med Lav* 1987; 69: S281-D297
4. DE VUYST P, DUMORTIER P, MOULIN E, et al: Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage reflect lung asbestos body concentration. *Eur Respir J* 1988; 1: 362-367
5. EUROPEAN SOCIETY OF PNEUMOLOGY TASK GROUP: Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). *Eur Respir J* 1989; 2: 561-585
6. PETTAZZONI M, MASCAGNI P, BAJ A, e coll: Ricerca dei corpuscoli dell'asbesto nell'espettorato indotto in lavoratori addetti alla rimozione del cemento-amianto in edilizia. Atti del 62° *Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale*. Genova, 29 settembre-2 ottobre 1999: 617-621
7. SCANSETTI G, PIRA E, BOTTA GC, et al: Asbestos exposure in a steam-electric generating plant. *Ann Occup Hyg* 1993; 37: 645-653
8. SPANEVELLO A, BEGHÈ B, BIANCHI A, et al: Comparison of two methods of processing induced sputum: selected versus entire sputum. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 665-668
9. SULOTTO F: La ricerca dei corpuscoli dell'asbesto ha un avvenire dopo il divieto dell'uso dell'amianto? In: *L'amianto: dall'ambiente di lavoro all'ambiente di vita. Nuovi indicatori per futuri effetti*. I Documenti- 12. Pavia: Fondazione S. Maugeri, IRCCS, 1997
10. TESCHLER H, THOMPSON, AB, DOLLENKAMP R, et al: Relevance of asbestos bodies in sputum. *Eur Respir J* 1996; 9: 680-686