

PATOLOGIA RESPIRATORIA ALLERGICA DA ENZIMI PRESENTI NEI BIODETERSIVI

Prof. MICHELE MAZZELLA DI BOSCO

Tutti gli uomini sono esposti, alcuni di essi anche e soprattutto per motivi di lavoro, a polveri organiche di varia natura e provenienza.

Possono derivarne processi morbosi soprattutto su base immuno-allergica essenzialmente rappresentati (Pepys, 1970; Pepys e Simon, 1973; Pozzan, 1973; v. Wichert, 1973):

- da manifestazioni a carico delle mucose dell'occhio e del naso (oculo-rinopatia);
- da manifestazioni a carico dei bronchi (asma in particolare);
- da manifestazioni a carico dei polmoni: queste sono rappresentate dalla alveolite (o pneumopatia) allergica estrinseca con eventuale fibrosi secondaria (l'alveolite di cui trattasi è detta estrinseca per distinguerla da quella intrinseca responsabile della fibrosi interstiziale idiopatica tipo Hamman-Rich).

L'instaurarsi dell'uno o dell'altro tipo di malattia essenzialmente dipende:

- dalla reattività immunologica del soggetto;
- dalla natura della polvere inalata;
- dalle modalità di esposizione.

I soggetti atopici, ossia quelli costituzionalmente disposti a sensibilizzarsi (il 10% circa della popolazione generale), presentano a prevalenza reazioni da allergia del 1° tipo di Gell e Coombs e quindi asma mediata da anticorpi reaginici o reagine (1). Tuttavia, in particolari condizioni,

(1) In effetti è stato ipotizzato che mentre alcuni individui (gli atopici) sono predisposti a produrre IgE, altri individui sono predisposti a produrre IgG e quindi a soffrire, in particolari circostanze, di malattie immunoallergiche da precipitine (DE WECK e BUTIKOFER, 1972).

possono andare incontro a reazioni da allergia del 3° tipo ossia mediate da precipitine. Queste ultime reazioni possono essere rappresentate sul piano clinico, oltre che da eventuali fatti sistemici (malessere, astenia, febbre, leucocitosi, mialgie, vomito), da crisi asmatiche ad insorgenza ritardata rispetto al momento dell'esposizione (oppure soltanto da segni persistenti di broncopneumopatia ostruttiva) e, ove si tratti di allergeni di piccole dimensioni (inferiori a quattro micron) e quindi in grado di raggiungere i polmoni, anche da alveoliti allergiche estrinseche.

Un esempio di alveolite allergica estrinseca in atopico è riferita da Akoun e coll. (1972); tali autori hanno riscontrato un'alveolite da sensibilizzazione ad acari della polvere di abitazione — tra cui il *Dermatophagoides pteronyssinus* a composizione antigenica analoga a quella di comuni parassiti della farina (cfr. Pugliese e Corsico, 1973) — con presenza di precipitine specifiche nel siero e con presenza di depositi di IgG nei polmoni, in un uomo con quadro radiologico di tipo miliare e con deficit ventilatorio di tipo restrittivo associato a riduzione della capacità di diffusione alveolo-capillare.

I soggetti non atopici, quando esposti a concentrazioni più elevate delle stesse polveri organiche, vanno incontro soprattutto a reazioni di allergia del 3° tipo rappresentate da asme con crisi ad insorgenza ritardata e con fenomeni sistemici e/o da alveoliti allergiche acute, subacute o croniche.

E' possibile la simultanea presenza di un'asma e di un'alveolite e queste possono essere anche in rapporto con reazioni verosimilmente del 3° tipo, oppure con reazioni associate del 1° e del 3° tipo; sembra altresì possibile che alterazioni polmonari si manifestino anche in rapporto con reazioni del 2° e del 4° tipo.

Grilliat e coll. (1972) hanno riscontrato in una lavoratrice dell'agricoltura non atopica un'allergia da *aspergillus fumigatus* mediata da precipitine, contrassegnata da manifestazioni asmatiche e da un'alveolite seguita da fibrosi e Bernstein (1972) ha richiamato l'attenzione su una granulomatosi polmonare (da allergia del 4° tipo) osservata in un lavoratore con sensibilizzazione all'*aspergillus oryzae* che produce proteinasi simili alle subtilisine.

L'instaurarsi dell'uno o dell'altro tipo di sensibilizzazione dipende altresì, come già detto, dalla natura antigenica della polvere, nonché dalle dimensioni delle particelle che la compongono; quest'ultimo fattore incide sulla sede di reazione in quanto il diametro delle particelle condiziona la penetrazione di esse lungo l'albero respiratorio.

Per quanto concerne infine le modalità di esposizione è noto che l'instaurarsi dell'allergia dipende dal tipo e dall'entità del contatto con l'agente patogeno (più o meno massivo e intermittente, oppure continuo ed in piccole concentrazioni).

Varie polveri organiche sono capaci di promuovere l'insorgenza di alveoliti allergiche estrinseche; tra queste pneumopatie figurano infatti:

- il farmer's lung o polmone degli agricoltori;
- il bird breeders lung o polmone degli avicoltori;
- il cheese worker's lung o polmone dei lavoratori del formaggio;
- il coffee worker's lung o polmone dei lavoratori del caffè;
- il malt worker's lung o polmone dei lavoratori del malto;
- altre affezioni morbose quali la bagassosi, la suberosi e la sequoiosi.

Tra queste polveri possono essere incluse, secondo alcuni autori (Nicholson, 1972; v. Wichert, 1973), anche le polveri costituite da enzimi, in particolare proteolitici, derivanti soprattutto dal *Bacillus subtilis* ed usati per la preparazione dei cosiddetti biodetersivi o detersivi biologicamente attivi. Anche Webster e coll. (1972) fanno riferimento ad un «detergent worker's lung» da includere tra le possibili malattie polmonari su base immunoallergica. E' da considerare del resto che secondo la Industrial Health Foundation degli Stati Uniti, uno o più enzimi presenti nella polvere di cotone potrebbero figurare tra gli agenti responsabili della bissinosi, e che anche quest'ultima tecnopatia potrebbe trovar posto tra le alveoliti allergiche estrinseche (Mc Combs, 1972); in proposito è stato sottolineato che i sintomi della bissinosi ed i sintomi dell'allergia agli enzimi sembrano essere più evidenti di lunedì (Webster e coll., 1972) al pari della cosiddetta febbre da fumi metallici o di polimeri tipo Teflon.

Alveoliti tendenti alla fibrosi si possono avere anche in seguito alla inalazione di polveri inorganiche quali l'asbesto ed all'assunzione od alla inalazione di sostanze chimiche quali la nitrofurantoina, il paraquat ed il politetrafluoroetilene o Teflon.

In genere la diagnosi dei processi morbosi respiratori da allergia del 3° tipo (asme ad insorgenza ritardata e soprattutto alveoliti eventualmente con fibrosi interstiziale secondaria) può essere formulata prendendo in considerazione:

- l'anamnesi;
- la sintomatologia;
- i reperti di vari esami strumentali e di laboratorio: radiografia del torace, prove di funzionalità respiratoria, cutireazioni (rappresentate da prick-tests e scarificazioni e da intradermoreazioni), prove inalatorie, ricerca delle precipitine ecc.

Per la diagnosi di alcune alveoliti tendenti alla fibrosi o con fibrosi secondaria utili indicazioni ha fornito talora l'esame istologico (non risulta ad ogni modo che lavoratori con turbe respiratorie attribuite agli enzimi estratti dal *Bacillus subtilis* siano stati sottoposti a controllo bioptico del polmone).

Per quanto concerne le alveoliti allergiche si distinguono (Serafini e Ricci, 1970; Pozzan, 1973; ecc.):

- a) forme ad esordio ed a decorso acuto (e ricorrente in caso di riesposizione) in cui l'attacco insorge dopo un intervallo di 4-6 ore dal contatto con la polvere con sintomi respi-

ratori (dispnea, tosse) e generali (malessere, febbre, mialgie, eventuale dimagrimento successivo);

b) forme con esordio insidioso e a decorso subacuto e cronico con dispnea da sforzo ingravescente e tosse, cianosi, crepitii basali ecc. in genere da esposizione continua e di modesta entità. Lo stadio cronico tuttavia può rappresentare anche la fase ultima delle forme con esordio e decorso acuto e ricorrente.

L'esame radiologico del torace può svelare quadri miliariformi e, nella fase cronica, zone di fibrosi.

L'esame funzionale può far rilevare una compromissione respiratoria con deficit di tipo restrittivo (o misto per l'associazione di una broncopneumopatia ostruttiva) e con riduzione della capacità di diffusione.

Le prove allergologiche cutanee (per scarificazione ecc.) con antigeni estratti dai micofiti presenti nelle polveri o da costituenti organici di esse risultano di solito positive e contrassegnate per lo più da reazioni a sviluppo semiritardato od intermedio (dopo 4-8 ore) con edema e scarsa componente infiltrativa, oppure da una duplice reazione con una risposta immediata ponfo-eritematosa ed una risposta semiritardata con i caratteri già descritti.

Le prove inalatorie (o di provocazione o scatenamento) eseguiti con gli stessi materiali determinano per lo più dopo 4-6 ore reazioni respiratorie simili a quelle spontanee; altre volte si ha una reazione duplice con una fase immediata ed una fase ritardata. In proposito Pepys e coll. (1972) riferiscono di aver osservato reazioni immediate oppure ritardate, oppure duplici, testando con prove inalatorie (o di tipo professionale) soggetti con allergia da *aspergillus fumigatus*, da allergeni di tipo aviario, da polvere di abitazione o da altre polveri organiche nonché da taluni composti inorganici.

Nel siero dei pazienti possono essere messi in evidenza, con tecniche di immunodiffusione, oppure mediante immunoelettroforesi, anticorpi precipitanti ad alto titolo rivolti verso gli antigeni contenuti nelle polveri. I risultati delle prove di precipitazione tuttavia vanno valutati con senso critico al fine di distinguere le false positività e la presenza di precipitine non correlate alla manifestazione clinica, da quelle con essa correlate e quindi di essa responsabili.

Indagare circa la capacità da alcuni autori attribuita agli enzimi presenti nei biodetersivi di determinare alveoliti allergiche riveste notevole importanza per i motivi che seguono.

— L'alveolite allergica sfocia spesso, come già detto, in una fibrosi polmonare responsabile d'insufficienza respiratoria; detta alveolite può avere decorso insidioso rendendosi manifesta nello stadio della fibrosi grave e invalidante.

— Agli enzimi di cui sopra sono esposti i lavoratori che li preparano e quelli addetti alla produzione dei biodetersivi, ma anche, e sia pure in diversa misura, le casalinghe e tutti coloro che di tali prodotti si servono e che indossano indumenti lavati con tali prodotti.

— Questi ed altri enzimi trovano impiego non solo nella preparazione dei biodetersivi, ma anche in altre attività dell'industria chimico-farmaceutica, alimentare (ad esempio per rendere più tenera la carne) delle pelli e della seta.

E' da tener presente inoltre che la patologia respiratoria allergica da enzimi può manifestarsi durante la notte o parecchie ore dopo la fine del turno di lavoro per cui può sfuggire il rapporto con la noxa professionale, e che l'asma da enzimi può persistere anche dopo l'allontanamento dal

lavoro in rischio (Wuthrich e Schwarz-Speck, 1970) in quanto può rendere clinicamente manifesta una sensibilizzazione latente ai comuni pneumoallergeni o può favorire lo sviluppo di un'allergia batterica secondaria.

E' da considerare infine come, anche limitatamente ai « consumatori », siano stati posti interrogativi circa l'eventualità (Bernstein, 1972):

— che i biodetersivi promuovano, con azione lenta ed insidiosa, alterazioni irreversibili degli scambi gassosi alveolo-capillari anche in soggetti esposti a basse concentrazioni di enzimi ma per lunghi periodi di tempo;

— che gli stessi biodetersivi, o meglio gli enzimi in essi presenti, si rendano responsabili di manifestazioni acute di tipo anafilattico simili a quelle già conosciute provocate dalla tripsina e dalla chimotripsina.

Nella presente nota, dopo alcune notizie sulla azione tossica generale e cutilestica dei detersivi di base e degli enzimi ad essi aggiunti, si valuteranno dati forniti dalla letteratura in tema di patologia respiratoria da biodetersivi nel tentativo di dare una risposta al quesito circa l'eventualità che questi prodotti si rendano responsabili, quanto meno tra gli operai dell'industria, di processi morbosi (attribuibili ad allergia del 3° tipo) con compromissione alveolare e comunque irreversibili ed invalidanti.

AZIONE TOSSICA E CUTILESTICA DEI DETERSIVI E DEGLI ENZIMI ESTRATTI DAL B. SUBTILIS

I detersivi in causa sono quelli sintetici, anionici e non ionici, in commercio sotto forma di polveri o granulati ed universalmente usati per il lavaggio, a mano o con macchine, di stoviglie e di indumenti; per quanto concerne la composizione chimica sono generalmente a base di dodecilbensensolfonato sodico e di laurilsolfato di sodio.

Di tali detersivi è stata studiata la tossicità acuta che varia entro certi limiti a seconda delle sostanze chimiche in essi presenti (Arena, 1964). Un detersivo per il lavaggio di indumenti (il persil), quando somministrato al topo in dose unica per via orale, ha una DL 50 di 7 g/Kg di peso corporeo (Mc Philip, 1972).

Nell'uomo i detersivi di cui trattasi possono causare (Arena, 1964) fatti irritativi a carico delle mucose; inoltre l'ingestione dei componenti di essi quali l'esametafosfato ed il tripolifosfato di sodio può provocare gastroenteriti gravi e stenosi esofagee; l'ingestione di polifosfati può causare ipocalcemia (2). I detersivi possono provocare inoltre dermatiti in

(2) Secondo GAZZERA e THIERNACAND (1972) sono in commercio comuni detersivi la cui ED50 (dose che causa il vomito nel 50% degli animali capaci di vomitare come i cani beagle) è soltanto una piccola frazione della DL50; l'ingestione accidentale di tali prodotti non causerebbe né effetti sistemici né altre lesioni ma soltanto il vomito.

quanto contengono sostanze che si comportano come fattori irritativi e sostanze che si comportano come fattori sensibilizzanti; queste ultime sono rappresentate essenzialmente da profumi, da coloranti e da metalli, quali il nichel ed il cromo, appositamente aggiunti o presenti quali impurità (Bassi e Schiesari, 1971); in particolare le sostanze chimiche note come azzurranti ottici favorirebbero la comparsa di eczemi fotoallergici. E' stato altresì segnalato che alcuni detersivi e prodotti per il prelavaggio possono contenere fino a 70 ppm di arsenico.

Gli enzimi, secondo i risultati di indagini eseguite su ratti trattati con una dose unica per via orale di subtilisina BPN o di subtilisina Carlsberg, avrebbero di per sé scarsa tossicità e, quando aggiunti ai detersivi non ne modificherebbero sostanzialmente le proprietà tossiche di base (Griffith e coll., 1969). Va tenuto presente tuttavia che secondo indagini sperimentali di Dubos (1971) le preparazioni di *B. subtilis* (ossia i cosiddetti enzimi dei biodetersivi) sono capaci di causare in topi esenti da germi, trattati con esse per via peritoneale una rapida diminuzione del peso corporeo ed un più grave decorso di infezioni sperimentali, e che alcune di tali preparazioni possono determinare anche effetti citotossici.

Gli enzimi possono agire sull'apparato respiratorio anche con meccanismi diversi dall'allergia. E' dimostrato che l'inalazione di dosi massive di enzimi proteolitici può determinare enfisema negli animali di laboratorio. How e Cambridge (1971) hanno segnalato che l'Alcalase e la Maxatase, preparazioni enzimatiche usate per la produzione dei biodetersivi, esercitano sul polmone azione proteolitica e che questa risulta più o meno intensa in rapporto alla diversa dotazione in antiproteasi (alfa 1 antitripsina) propria di ciascun individuo. E' da considerare d'altra parte che la stessa allergia da biodetersivi può essere favorita nel suo instaurarsi dall'azione proteolitica esercitata dagli enzimi (Reinheimer e Utz, 1971).

Per quanto concerne infine l'influenza sulla patologia cutanea è stato segnalato (Masom Bolam e coll., 1971) che l'aggiunta degli enzimi, a partire dal 1967-1968, non sembra aver modificato, tra gli addetti alle pulizie e le casalinghe, la morbidità, peraltro già piuttosto elevata (Sertoli e coll., 1966), dovuta ai comuni detersivi. E' da ricordare tuttavia che soggetti i quali si erano serviti senza danno di questi ultimi hanno presentato un'affezione cutanea dopo aver usato anche per uno-due giorni i nuovi detersivi contenenti enzimi (Ducksbury e Dave, 1970). Com'è noto l'azione cutilemica degli enzimi è attribuita soprattutto alla loro attività proteolitica (Gothe e coll., 1972); essa pertanto non sarebbe legata ad un meccanismo allergico, ma ad un'aggressione diretta da irritanti primari (Mc Murrain, 1970). Zacharie e coll. (1973) hanno eseguito il test epicutaneo con Alcalase su 79 lavoratori esposti ai biodetersivi: il risultato è stato sempre negativo.

RASSEGNA DELLA LETTERATURA E VALUTAZIONE DEI DATI DA ESSA RIFERITI
SULLA PATOLOGIA RESPIRATORIA ALLERGICA DA ENZIMI*Dati relativi all'anamnesi.*

Flindt (1969) per primo ha descritto manifestazioni a carico dell'apparato respiratorio tra gli operai di un'industria di detersivi a contatto da un anno circa con preparazioni enzimatiche derivanti dal *Bacillus subtilis*. Tali manifestazioni realizzavano in genere due quadri clinici: l'uno a tipo di asma bronchiale, l'altro con aspetti propri dell'alveolite allergica estrinseca. I sintomi esordivano bruscamente subito dopo l'inizio dell'inalazione della polvere contenente gli enzimi oppure 5-8 ore dopo la esposizione; duravano alcune ore e talora giorni o settimane.

In effetti la sensibilizzazione e l'insorgenza dei segni clinici (che si possono avere anche in soggetti con cutireazioni negative) appaiono in rapporto, entro certi limiti:

- con l'entità e le modalità dell'esposizione;
- con l'esistenza o meno di uno stato di atopia.

I primi contributi sulla patologia respiratoria da enzimi estratti dal *Bacillus subtilis* si riferivano verosimilmente ad operai esposti a concentrazioni enzimatiche relativamente elevate tanto che quasi il 45% dei lavoratori con « alto rischio » si sensibilizzavano. L'adozione di misure di prevenzione si è dimostrata in grado di ridurre il rischio e si calcola che concentrazioni ambientali medie inferiori ad un microgrammo/mc dovrebbero evitare ulteriori sensibilizzazioni. E' da tener presente, tuttavia, che il *Bacillus subtilis* è molto diffuso, e che prick-tests eseguiti dopo il 1967 tra soggetti della popolazione generale in Romania, dove i detersivi additivati con enzimi non erano stati ancora usati, hanno dato risposte positive in una percentuale del 12%.

Weill e coll. (1971) hanno esaminato comparativamente 50 lavoratori di una industria di biodetersivi esposti a concentrazioni di enzimi variabili da meno di un microgrammo a 18 microgrammi/mc con livelli di picco non superiori a 60 microgrammi, e 60 operai di una seconda azienda esposti a concentrazioni medie di 3-30 microgrammi/mc con livelli di picco fino a 1.000 microgrammi. Nessuno degli operai della prima azienda lamentava disturbi respiratori, mentre 12 della seconda presentavano manifestazioni asmatiche. Secondo gli autori le concentrazioni medie degli enzimi nelle industrie di biodetersivi possono essere portate a valori pari od inferiori ad un microgrammo/mc; tali concentrazioni potrebbero evitare nuove sensibilizzazioni, ma per prevenire manifestazioni respiratorie in soggetti già sensibilizzati sarebbe altresì necessario eliminare esposizioni a livelli di picco.

I 6 operai con sintomi respiratori studiati da Dijkman e coll. (1973) non hanno mostrato ulteriori disturbi nei mesi di osservazione successivi all'abbandono della attività in rischio.

Si ritiene che le donne di casa siano esposte, rispetto ai lavoratori dell'industria, a concentrazioni ed a dosi settimanali di enzimi senz'altro inferiori (Hendriks, 1970). Tra esse sono state descritte, oltre a dermopatie, manifestazioni respiratorie su base allergica e ciò sia in soggetti atopici che in soggetti non atopici, ma i casi ben documentati sono pochi (Belin e coll., 1970; Bernstein, 1972). Mc Murrain (1970) e Dijkman e coll. (1973) escludono o tendono ad escludere l'esistenza di un vero e proprio rischio per le casalinghe; tra l'altro le particelle delle polveri oggi in commercio sarebbero troppo grandi per raggiungere le ultime vie respiratorie ed inoltre la presenza del detersivo nell'acqua di lavaggio impedirebbe l'aerosolizzazione e quindi l'inalazione di materiale allergizzante.

Nava (1970) ha segnalato il caso di un uomo di 37 anni addetto alla produzione e confezione di detersivi sintetici solfonati ai quali veniva aggiunto l'enzima proteolitico; questi, che non aveva mai sofferto di malattie allergiche, ha avuto dopo circa un mese di attività gravi crisi asmatiche accompagnate da nausea, da blefarospasmo e da crisi sternalatorie. Si trattava di un soggetto con polisensibilità verso i comuni pneumoallergeni quali la polvere di abitazione e la polvere di frumento.

Si ammette che gli atopici sviluppino più facilmente un'allergia respiratoria da enzimi (Greenberg e coll., 1970; Slavin e Lewis, 1971) e che questa possa assumere in essi un più grave decorso; pertanto è stato consigliato di evitare l'impiego di questi soggetti nella industria dei detersivi, però identificandoli più in base alle notizie anamnestiche che in base ai risultati delle cutireazioni con i comuni pneumoallergeni, e senza far ricorso in sede di visita preventiva a tests allergologici con preparazioni enzimatiche (Gothe e coll., 1972).

E' stato segnalato tuttavia che molti lavoratori con turbe respiratorie da enzimi non sono atopici ed anzi Franz e coll. (1971) hanno sottolineato che nella loro casistica figurava una percentuale di atopici non diversa da quella propria della popolazione generale. Di conseguenza, come fanno notare Gothe e coll., la profilassi basata sulla identificazione degli atopici ed il non impiego di essi può avere soltanto valore limitato.

Di 14 « consumatori » con sintomi respiratori esaminati da Bernstein (1972) 11 erano atopici e 3 non atopici. Pertanto, sottolinea l'autore, il rapporto atopici-non atopici tra questi soggetti è di 4 : 1, mentre può essere considerato dell'ordine di 3 : 2 circa tra i lavoratori dell'industria.

Dati relativi alla sintomatologia.

Gaffuri e coll. (1970) hanno esaminato in un'azienda dell'Italia settentrionale 155 operai addetti alla preparazione di detersivi additivati con

enzimi proteolitici derivanti dal *B. subtilis*. Di essi 124 presentavano disturbi a carico dell'apparato respiratorio rappresentati in ordine di frequenza decrescente da rino-faringo-laringite (52 casi), rinite (27 casi), bronchite (27 casi), asma bronchiale (18 casi). Il test cutaneo (per scarificazione) con estratto di Alcalase ha fornito risposta positiva immediata nel 30% dei 124 soggetti (la percentuale delle cutireazioni positive raggiungeva invece il 90% se si consideravano soltanto i 18 lavoratori affetti da sindrome asmatica).

Di 93 addetti alla produzione di biodetersivi esaminati da Shapiro ed Eisenberg (1971) 14 lamentavano disturbi riferibili agli enzimi; tali disturbi erano rappresentati in 10 casi da asma bronchiale, in 3 da rino-patia ed in uno da eruzione cutanea. Di tali 93 soggetti 34, tra cui 13 di quelli affetti da manifestazioni morbose, hanno fatto registrare cutireazioni (scarificazioni oppure intradermoreazioni) positive.

Mitchell e Gandevia (1971) hanno eseguito una indagine su 98 lavoratori dell'industria dei detersivi esposti a notevoli concentrazioni di enzimi proteolitici, riscontrando manifestazioni asmatiche nel 50% di essi. Gli stessi autori distinguono la patologia respiratoria dei soggetti esposti ai biodetersivi in « upper respiratory tract symptoms » ed in « lower respiratory tract symptoms »: i sintomi di cui sopra si differenziano altresì in « immediati » quando insorgono entro mezz'ora dall'inizio dell'esposizione, « ritardati » o meglio semiritardati quando insorgono dopo 4-5 ore e « notturni ».

Verosimilmente, sottolinea Gandevia (1970), anche in soggetti con reazione ritardata oppure soltanto notturna si ha una « triplice risposta », con la differenza che due di tali reazioni o risposte sono così modeste da passare inosservate o quasi. Lo stesso potrebbe aversi in caso di allergia alla polvere di legno, al toluen-diisocianato e ad altre sostanze e polveri organiche.

Webster e coll. (1972) riferiscono di un soggetto di 54 anni, forte fumatore, operaio di un'industria di saponi e detersivi. Un mattino, mentre mescolava con il detersivo una polvere particolarmente ricca di enzimi, fu colto improvvisamente da un'affezione acuta delle prime vie aeree e delle congiuntive con congestione nasale, tosse, difficoltà di respiro e bruciore agli occhi. Ospedalizzato d'urgenza migliorò rapidamente; perdurarono tuttavia, per 3 settimane circa, difficoltà di respiro a carattere intermittente e tosse con espettorazione ed a volte con emissione di piccole quantità di sangue. L'operaio ebbe una ripresa dei sintomi non appena tentò di riprendere il lavoro e fu di nuovo ricoverato; presentava febbre sui 38°, lieve dispnea senza prolungamento dell'inspirazione, piccoli rantoli diffusi, parossismi di tosse durante le profonde inspirazioni, leucocitosi, riduzione del VEMS; il test inalatorio forniva una risposta bifasica. Dopo 10 giorni il paziente fu dimesso clinicamente migliorato e con parametri ventilatori nei limiti della norma.

Dati relativi all'esame radiologico ed alle prove di funzionalità respiratoria.

Franz e coll. (1971) hanno esaminato 38 operai di età compresa tra 21 e 58 anni i quali da un anno circa erano esposti ad elevate concentrazioni di enzimi usati per la preparazione di biodetersivi; di essi 11 presentavano sintomi a carico delle prime vie aeree (rinorrea oltre a lacrimazione) e 25 disturbi a carico delle vie aeree inferiori (tosse, difficoltà di respiro ecc.) che comparivano 3-8 ore dopo la fine del turno di lavoro (i rimanenti due lavoratori presentavano soltanto alterazioni della cute). L'esame radiologico del torace non ha mostrato fatti patologici benché il 70% dei soggetti esaminati presentasse compromissione della funzione ventilatoria e/o riduzione della capacità di diffusione, che peraltro regredivano con l'abbandono dell'attività in rischio.

Wuthrich e Schwartz-Speck (1970) hanno esaminato 10 soggetti provenienti da varie aziende, con disturbi a carico delle congiuntive e dell'apparato respiratorio (rinopatia, tosse, difficoltà di respiro, attacchi notturni di asma: uno di essi aveva presentato anche notevole dimagrimento). L'esame radiologico è risultato negativo anche dopo il test inalatorio con l'antigene. L'esame spirografico ha mostrato per lo più un deficit ventilatorio di tipo ostruttivo con parziale risposta all'Alupent.

Slavin e Lewis (1971), esaminando 66 operai con segni di rinopatia e 10 di asma, non hanno rilevato alterazioni radiologiche e le prove funzionali, ivi compreso il transfert del CO, hanno fornito in genere risultati normali.

Mc Murrain (1970) riferisce che esami radiologici del torace eseguiti su oltre 500 operai dell'industria dei biodetersivi non hanno mostrato alterazioni né segni di alveolite ed afferma che la compromissione funzionale non è irreversibile.

Gothé e coll. (1972), controllando 64 lavoratori, parte dei quali con disturbi respiratori e cutanei, non hanno notato alterazioni radiologiche o ripercussioni funzionali riferibili ad esposizioni agli enzimi.

E' da tener presente tuttavia che in rari casi sono stati riscontrati segni radiologici di interessamento polmonare con immagini reticolari oppure nodulari e con zone di ipertrasparenza. D'altra parte è noto che la negatività del reperto radiologico non esclude in linea di massima l'esistenza di un'alveolite (v. Wichert, 1973).

Per quanto concerne in particolare l'aspetto funzionale della patologia respiratoria attribuita agli enzimi si ricorda ancora quanto segue.

Mitchell e Gandevia (1971), esaminando 98 lavoratori dell'industria dei detersivi esposti ad alte concentrazioni di enzimi e parte dei quali con disturbi respiratori, non hanno rilevato una compromissione permanente della funzione ventilatoria e della capacità di diffusione. Gli autori ritengono che un deficit spirografico di tipo ostruttivo possa essere il rischio principale di una esposizione a lungo termine e sottolineano di non aver

osservato segni clinici, radiologici e funzionali indicativi di alveolite allergica e di fibrosi.

Dei 110 operai esaminati da Weill e coll. (1971) nessuno presentava all'esame radiologico alterazioni riferibili all'attività lavorativa. Non sono state rilevate modificazioni statisticamente significative del VEMS nei gruppi con diverso grado di esposizione ed il rapporto VR/CPT è addirittura risultato più elevato nei soggetti con esposizione di minor entità. Dopo 6 mesi di lavoro non sono state registrate significative variazioni del valore medio del VEMS rispetto a quello riscontrato prima dell'impiego. La capacità di diffusione non ha mostrato in genere, anche tra i soggetti più esposti variazioni apprezzabili.

Al contrario sembrano disporre a favore dell'ipotesi di una alterazione polmonare se non proprio di una alveolite le osservazioni di Shore e coll. (1971) i quali hanno studiato la funzionalità respiratoria di 19 lavoratori esposti a notevoli concentrazioni dell'enzima ed affetti da disturbi a carico dell'apparato respiratorio. Di essi 17 presentavano alterazioni funzionali rappresentate da riduzione della capacità di diffusione, accompagnate in 7 casi da un deficit ventilatorio di tipo ostruttivo. Secondo gli autori la riduzione della capacità di diffusione rappresenta il primo segno della compromissione respiratoria indotta dalla noxa; questa agirebbe sia in quanto è un allergene sia in quanto è dotata di attività proteolitica ed il danno legato a quest'ultima dovrebbe essere irreversibile.

Dati relativi alle prove allergologiche.

Che gli enzimi estratti dal *Bacillus subtilis* possano provocare nell'uomo un'allergia del 1° tipo, ossia mediata da reagine, è dimostrato dalla identificazione nel siero di una immunoglobulina E (IgE) specifica (Pepys e coll., 1969; Belin e coll., 1970; Gothe e coll., 1972) e dalla positività del test del trasporto passivo (Wuthrich e Schwarz-Speck, 1970; How e Cambridge, 1971; Franz e coll., 1971).

Al contrario le prove dirette a svelare un'allergia del 3° tipo hanno fornito risultati non univoci.

Nel siero di lavoratori esposti agli enzimi vari autori hanno rilevato la presenza di precipitine (Pepys e coll., 1969 ecc.); altri tuttavia non ne hanno riscontrate (Wuthrich e Schwarz-Speck, 1970) o ne hanno riscontrato, a volte a più alto titolo, anche in soggetti con cutireazioni negative ed in soggetti non ancora esposti (Mc Murrain, 1970) o mai palesemente esposti agli enzimi (Pepys e coll. 1969; Gaffuri e coll., 1970; Franz e coll., 1971; How e Cambridge, 1971). Dijkman e coll. (1973), usando due metodiche di immuno-diffusione, hanno ottenuto risultati diversi: con quella di Beace e Mason la ricerca è stata negativa sia nei pazienti (lavoratori con sintomi respiratori) che nei controlli pur facendo ricorso a varie concentrazioni dell'antigene, con quella di Feinberg invece è stata rilevata sia

nei pazienti che nei controlli una uguale banda di precipitazione. Gli autori concludono pertanto per l'assenza di precipitine specifiche.

In base alle loro esperienze Dolovich e Little (1972) ritengono che le reazioni da precipitine evidenziabili in lavoratori esposti agli enzimi non siano specifiche: tra l'altro gli autori non hanno riscontrato anticorpi appartenenti alle classi IgA e IgM in molti dei soggetti con risposte cutanee semiritardate, mentre anticorpi IgG sono risultati presenti sia in lavoratori con risposta cutanea bifasica sia in soggetti con sola risposta immediata.

Analogamente How e Cambridge (1971), i quali hanno riscontrato la presenza di precipitine sia in soggetti professionalmente esposti sintomatici e/o con positività dei prick-tests, sia nei controlli, ritengono che la comparsa di precipitine possa essere attribuita ad interazioni aspecifiche tra componenti degli enzimi e componenti del siero, questi ultimi simili o identici alle alfa-globuline; gli autori sottolineano inoltre di non aver notato, nè tra i soggetti in esame nè tra i controlli, immunoreazioni in cui fossero coinvolte IgG.

Per quanto concerne le cutireazioni, nelle osservazioni di Well e coll. (1971) la maggior parte dei prick-tests è delle intradermoreazioni ad esito positivo era contrassegnata da risposte di tipo immediato.

Nelle osservazioni di Dolovich e Little (1972) il 75% delle intradermoreazioni con risposta immediata (entro 15-20 minuti) e quindi soprattutto in rapporto con anticorpi reaginici, presentava una seconda risposta con il massimo di intensità dopo 6-8 ore. Com'è noto, analoga risposta duplice o bifasica si ha nell'aspergillosi broncopolmonare o morbo di Hinson ed in allergopatie da altre polveri organiche ivi compresa la polvere di abitazione, nonché il toluen-diisocianato (Pepys e coll., 1972), e la seconda risposta è considerata con dipendente dalla presenza di precipitine.

Il prick-test con Maxatase, eseguito nei 6 lavoratori con patologia respiratoria studiati da Dijkman e coll. (1973), ha fornito in tutti una risposta positiva immediata, seguita, in un solo caso, da una seconda risposta più evidente a distanza di 8 ore; lo stesso test è risultato negativo in 16 dei 17 controlli. La biopsia cutanea eseguita 8 ore dopo il prick-test ha mostrato sia nei pazienti che nei controlli alternazioni su base tossico-irritativa; di particolare interesse è che in almeno tre dei pazienti era altresì presente edema diffuso con infiltrazione di neutrofili e di eosinofili ad indicare una reazione del 3° tipo.

Il test inalatorio eseguito da Gaffuri e coll. (1970) in 36 operai con disturbi respiratori ha fornito risposta positiva in 26; a volte la dispnea è ricomparsa alcune ore dopo l'inalazione dell'antigene.

Pepys e coll. (1969) hanno eseguito la prova inalatoria in 3 soggetti con sintomi respiratori; hanno osservato una risposta bifasica con due distinte riduzioni del VEMS; nel corso della risposta semiritardata hanno osservato anche leucocitosi in due casi e rantoli diffusi in uno. Franz e coll. (1971) hanno ottenuto risultati analoghi.

Dijkman e coll. (1973) hanno eseguito il test inalatorio in 6 operai che erano stati esposti a Maxatase (enzima proteolitico derivante dal *Bacillus subtilis*) e che presentavano disturbi respiratori attribuiti ad allergia professionale (di essi 3 erano atopici). Hanno riscontrato in 5 una risposta bifasica: subito dopo l'inalazione si aveva una reazione asmatica (con modificazioni del VEMS e della CV e talora anche della SaO_2 ma senza anomalie della capacità di diffusione e senza alterazioni radiologiche) che scompariva entro 4 ore; da 5 ad 8 ore dopo l'inalazione si aveva una seconda reazione asmatica che si protraeva in genere per qualche giorno e si accompagnava nelle prime 24 ore a malessere, a leucocitosi neutrofila e talora anche a febbre. Nel 6° paziente si registrava soltanto la seconda reazione. In nessun caso si riscontravano segni di reazione alveolare.

La patogenesi della risposta bifasica (e della fase differita in particolare) è ancora oggetto di discussione. Pepys e Simon (1973) l'attribuiscono alla coesistenza di reagine e di precipitine. Bernstein (1972) ipotizza che la fase differita potrebbe essere legata alla presenza di una seconda popolazione di reagine in analogia con quanto sarebbe stato riscontrato in alcune specie animali. Bodij-Noord e coll. (1972), i quali hanno rilevato reazioni immediate e reazioni semiritardate in seguito all'inalazione di estratti di polvere di abitazione, esprimono l'opinione che le reazioni semiritardate siano in relazione con un fattore aggiunto mastocitario capace di produrre sostanze vasoattive, oppure con proprietà non antigeniche della polvere stessa.

CONCLUSIONI

I soggetti esposti a pneumoallergeni rappresentati dagli enzimi estratti dal *Bacillus subtilis* possono sensibilizzarsi dopo periodi di tempo anche brevi; una certa percentuale di essi, specie nell'industria dei biodetersivi, va poi incontro ad una patologia respiratoria su base allergica (Turner-Warwick, 1971).

Tali manifestazioni cliniche, riscontrabili sia in soggetti atopici sia in soggetti non atopici, sembrano in rapporto con un'allergia del 1° tipo e con un'allergia del 3° tipo (3) ed interessano essenzialmente le prime vie aeree (rinopatia ecc.) ed i bronchi (asma immediata oppure asma ad inizio differito).

(3) E' stato segnalato che IgE, e quindi anticorpi di tipo reaginico, potrebbero favorire il verificarsi di reazioni da precipitine (BENVENISTE, 1973) e che immunocomplessi solubili, in condizioni di equilibrio tra antigene ed anticorpo oppure in eccesso di anticorpo, potrebbero stimolare la formazione nell'interstizio interalveolare di granulomi propri dell'allergia del 4° tipo (PEPYS, 1970). E' stato altresì sottolineato che le preparazioni enzimatiche usate per i biodetersivi sono alquanto eterogenee e comprendono varie componenti antigeniche (DEBANNE e coll., 1971) e ciò potrebbe in parte spiegare la non univocità delle risposte.

Alcuni contributi della letteratura chiamano in causa la possibile evenienza di un'alveolite allergica estrinseca, tuttavia l'effettiva esistenza di una patologia polmonare con fibrosi non può dirsi dimostrata.

E' probabile che la sede dell'allergia sia in rapporto con le dimensioni delle particelle costituenti le preparazioni enzimatiche con le quali le diverse popolazioni operaie sono venute e vengono a contatto. Da qualche tempo, sottolineano Dijkman e coll. (1973) criteri di ordine profilattico consigliano di dare la preferenza ad enzimi costituiti da microparticelle con diametro compreso tra 20 e 100 micron; tali particelle non sono in grado di raggiungere gli alveoli per cui dovrebbero agire soltanto sulle prime vie aeree e sui bronchi.

E' da tener presente infine che gli enzimi ed i biodetersivi potrebbero agire sull'apparato respiratorio anche con un meccanismo diverso da quello allergico.

Ulteriori adeguate indagini, anche di tipo epidemiologico, su popolazioni (specie operaie) esposte per più lunghi periodi di tempo, potranno chiarire gli aspetti ancora controversi della patologia respiratoria da enzimi e da altre polveri organiche e vegetali od in prevalenza vegetali, quali ad esempio le polveri di cereali (Iannaccone e Mazzella di Bosco, 1957; Tse e coll., 1973). Quanto finora noto è tuttavia sufficiente a suggerire l'opportunità: *a*) di interventi di ordine prevenzionistico: accorgimenti tecnici possono notevolmente ridurre sia la concentrazione della polvere sia l'attività enzimatica di essa (Ghote e coll., 1972); *b*) di eventuali interventi di ordine previdenziale: nel nostro Paese la patologia da enzimi non è compresa tra le tecnopatie oggetto di tutela.

RIASSUNTO: Poichè l'inalazione di polveri organiche può causare oculo-rinopatia, asma e/o alveolite talora con fibrosi polmonare secondaria, è stata prospettata la possibilità che analoghe lesioni, ivi comprese eventuali forme a decorso insidioso, irreversibili ed invalidanti, si manifestino tra i lavoratori dell'industria, e addirittura tra le casalinghe, in seguito all'esposizione agli enzimi proteolitici presenti nelle polveri detersive biologicamente attive.

I dati della letteratura indicano che una certa percentuale dei soggetti esposti, specie in campo industriale, ai suddetti enzimi va incontro a manifestazioni cliniche a carico delle prime vie aeree e dei bronchi in relazione con una allergia del 1° tipo e con una allergia del 3° tipo. Soltanto pochi contributi chiamano in causa la possibile evenienza di alterazioni polmonari.

Ulteriori indagini potranno chiarire gli aspetti ancora controversi della patologia da enzimi presenti nei biodetersivi; quanto finora noto sembra tuttavia sufficiente per suggerire l'opportunità di interventi di ordine prevenzionistico e previdenziale.

BIBLIOGRAFIA

- AKOUN G., ARAUJO-FONTAINE A., BASSET F., BORGARD J. P., CUZIN A.: *Alveolite allergique pulmonaire et infestation acarienne*, «Nouv. Presse Méd.», 1972, 1, 2689.

- ARENA J. M.: *Poisoning and other health hazards associated with use of detergents*, «JAMA», 1964, 190, 168.
- BASSI R., SCHIESARI G.: *Detersivi moderni (fattori irritanti e fattori sensibilizzanti)*, «Giorn. It. Dermat.», 1971, 46, 536.
- BELIN L., FALSEN E., HOBORN J., ANDRÉ J.: *Enzyme sensitisation in consumers of enzyme-containing washing powder*, «Lancet», 1970, 2, 1153.
- BENVENISTE J.: *Définition expérimentale d'un rôle nouveau pour l'IgE*, «Nouv. Presse Méd.», 1973, 2, 703.
- BERNSTEIN I. L.: *Enzyme allergy in population exposed to long-term, low-level concentrations of household laundry products*, «J. Allergy Clin. Immunol.», 1972, 49, 219.
- BERSON S. A., YALOW R. S., SAITO T., SELIKOFF I. J.: *Antibodies to «alcalase» after industrial exposure*, «New Engl. J. Med.», 1971, 284, 688.
- BOOIJ-NOORD H., DE VRIES K., SLUITER H. J., ORIE N. G. M.: *Late bronchial obstructive reaction to experimental inhalation of house dust extract*, «Clinical Allergy», 1972, 2, 43.
- DEBANNE M. T., WICHER V., DOLOVICH J.: *Antigenic composition of enzyme containing preparations of Bacillus subtilis origins*, «J. Allergy», 1972, 48, 212.
- DE WECK A. L., BUTIKOFER E.: *Pneumopathies interstitielles par immunoglobulines de type IgG: quelques aspects immunologiques et épidémiologiques en Suisse*, in «Les allergies à précipitines». Ed. L'Expansion, Parigi, 1972.
- DIJKMAN J. H., BORGHANS J. G. A., SAVELBERG P. J., ARKENBOUT P. M.: *Allergic bronchial reactions to inhalation of enzymes of Bacillus subtilis*, «Am. Rev. Resp. Dis.», 1973, 107, 387.
- DOLOVICH J., LITTLE D. C.: *Correlates of skin test reactions to Bacillus subtilis enzyme preparations*, «J. Allergy Clin. Immunol.», 1972, 49, 43.
- DUBOS R.: *Toxic factors in enzyme used in laundry products*, «Science», 1971, 173, 259.
- DUCKSBURY C. F. J., DAVE V. K.: *Contact dermatitis in home helps following the use of enzyme detergents*, «Brit. Med. J.», 1970, 1, 537.
- FLINDT M. L. H.: *Pulmonary disease due to inhalation of derivatives of Bacillus subtilis containing proteolytic enzyme*, «Lancet», 1969, 1, 1177.
- FRANZ T., MC MURRAIN K. D., BROOKS S., BERNSTEIN I. L.: *Clinical, immunologic and physiologic observations in factory workers exposed to B. subtilis enzyme dust*, «J. Allergy», 1971, 47, 170.
- GAFFURI E., BRUGNONE F., CARNEVALE F.: *Ricerca epidemiologica sulla patologia respiratoria da enzimi proteolitici nell'industria dei detersivi*, «Atti» 33° Congr. Soc. It. Med. Lavoro, Cagliari, 1970.
- GANDEVIA B.: *Occupational asthma*, «Med. J. Aust.», 1970, 57, 332 e 372.
- GAZZERA S., THIERNAGAND J.: *Valutazione dei rischi in caso di ingestione accidentale di detersivi*, «Riv. Clin. Tossicol.», 1972, 5/6, 57.
- GOTHE C. J., NILZEN A., HOLMGREN A., SZAMOSI A., WERNER M., WIDE L.: *Medical problems in the detergent industry caused by proteolytic enzymes from bacillus subtilis*, «Acta Allergologica», 1972, 27, 63.
- GOTHE C. J., WESTLIN A., SUNDQUIST S.: *Air borne B. subtilis enzymes in the detergent industry*, «Int. Arch. Arbeitsmed.», 1972, 29, 201.
- GREENBERG M., MILNE J. F., WATT A.: *Survey of workers exposed to dust containing derivatives of bacillus subtilis*, «Brit. Med. J.», 1970, 2, 629.
- GRIFFITH J. F., WEAVER J. E., WHITEHOUSE H. S. e coll.: *Safety evaluation of enzyme detergents. Oral and cutaneous toxicity, irritancy and skin sensitization studies*, «Food Cosmet. Toxicol.», 1969, 7, 581.
- GRILLIAT J. P., VAUTRIN D. A., VINIAKER H.: *Allergie à précipitine due a aspergillus fumigatus avec fibrose pulmonaire interstitielle et manifestations asthmatiques*, «Ann. Med. Nancy», 1972, 11, 69.
- HENDRICKS M. H.: *Measurement of enzyme laundry product dust levels and characteristic in consumer use*, «J. Amer. Oil Chem. Soc.», 1970, 47, 207.
- HOW M. J., CAMBRIDGE G. W.: *Prick-tests and serological tests in the diagnosis of allergic reactivity to enzymes used in washing products*, «Brit. J. Industr. Med.», 1971, 28, 303.
- IANNACCONE A., MAZZELLA DI BOSCO M.: *La pneumoconiosi da polvere di cereali nei lavoratori di silos portuali*, «Lavoro Um.», 1957, 9, 497.

- MASON BOLAM R., HEPWORTH R., BOWERMAN L.T.: *In — use evaluation of safety to skin of enzyme — containing washing products*, «Brit. Med. J.», 1971, 2, 499.
- MC COMBS R.P.: *Diseases due to immunologic reactions in the lungs*, «New Engl. J. Med.», 1972, 286, 1186 e 1245.
- MC MURRAIN K.D.: *Dermatologic and pulmonary responses in the manufacture of detergent enzyme products*, «J. Occup. Med.», 1970, 12, 416.
- MC PHILIP J.L.: *Rapporti tra il Centro ricerche Unilever e il Centro nazionale antiveleni inglese*, «Riv. Clin. Tossicol.», 1972, 1/2, 147.
- NAVA C.: *Manifestazioni asmatiche da enzimi proteolitici usati come detersivi*, «Med. Lavoro», 1970, 61, 515.
- NEWHOUSE M.L., TAGG B., POCKOCK S.J., MCEVAN A.C.: *An epidemiological study of workers producing enzyme washing powders*, «Lancet», 1970, 1, 689.
- NICHOLSON D.P.: *Extrinsic allergic pneumonias*, «Am. J. Med.», 1972, 53, 131.
- PEPYS J.: *Le malattie allergiche del polmone dovute alla inalazione di polveri organiche*, «Minerva Pneumologica», 1970, 9, 108.
- — *Clinical and immunopathological basic of allergic alveolitis*, «Folia Allergol.», 1970, 17, 398.
- PEPYS J., HARGREAVE F.E., LONGBOTTOM J.L., FAUX J.: *Allergic reactions of the lungs to enzymes of Bacillus subtilis*, «Lancet», 1969, 1, 1181.
- PEPYS J., PICKERING C.A.C., CRESLIN A.B.X., TERRY D.J.: *Asthma due to inhaled chemical agents tolylene di-isocyanate*, «Clinical Allergy», 1972, 2, 225.
- PEPYS J., SIMON G.: *Asthma, pulmonary eosinophilia and alveolitis*, «Med. Clin. North Amer.», 1973, 57, 573.
- POZZAN M.: *Aspetti etiopatogenetici e clinici delle alveoliti allergiche estrinseche*, «Folia Allergol.», 1973, 20, 67.
- PUGLIESE S., CORSICO R.: *Il disodio cromoglicato nel trattamento dell'asma professionale da allergia a farina*, «Lavoro Um.», 1973, 25, 76.
- REINHEIMER W., UTZ G.: *Allergisches Asthma bronchiale auf den Waschmittelzusatz Maxatase*, «Dtsch. Med. Wschr.», 1971, 96, 246.
- SERAFINI U., RICCI M.: «Principi di immunologia clinica e allergologia», Soc. Ed. Universo, Roma, 1970.
- SERTOLI A., PASSETTI G., LO BRUTTO M.E.: *Rilievi su 1713 casi di eczemi da contatto*, «Rass. Derm. Sifil.», 1966, 19, 269.
- SHAPIRO R.S., EISENBERG B.C.: *Sensitivity to proteolytic enzymes in laundry detergents*, «J. Allergy», 1971, 47, 76.
- SHORE N.S., GREENE R., KAZEMI H.: *Lung disfunction in workers exposed to Bacillus subtilis enzyme*, «Environm. Res.», 1971, 4, 512.
- SLAVIN R.G., LEWIS C.R.: *Sensitivity to enzyme additives in laundry detergent workers*, «J. Allergy», 1971, 48, 262.
- TSE K.S., WARREN P., JANUSZ M., MC CARTHY D.S., CHERNIACK R.M.: *Respiratory abnormalities in workers exposed to grain dust*, «Arch. Environ. Health», 1973, 27, 74.
- TURNER-WARWICK M.: *Provoking factors in asthma*, «Brit. J. Dis. Chest.», 1971, 65, 1.
- WEBSTER J.R., CUGELL D.W., BAZLEY E.S., CUNNINGHAM L., BOOT B.: *Detergent worker lung. A hypersensitive pulmonary disease?*, «Chest», 1972, 61, 174.
- WEILL H., WADDEL L.C., ZISKIND M.: *A study of workers exposed to detergent enzyme*, «JAMA», 1971, 217, 425.
- WICHERT P.: *Alveoliti allergiche e tendenti alla fibrosi e fibrosi polmonari*, «Minerva Med.», 1973, 64, 660 e 669.
- WUTHRICH B., SCHWARZ-SPECK M.: *Asthma bronchiale nach beruflicher Exposition mit proteolytischen Enzymen*, «Schweiz. Med. Wschr.», 1970, 100, 1908.
- ZACHARIE H., THOMSEN K., GOWERTZ RASMUSSEN O.: *Occupational enzyme dermatitis. Results of patch testing with Alcalase*, «Acta Dermatovener.», 1973, 53, 145.