

Clinica del Lavoro « L. Devoto » della Università di Milano
Direttore: Prof. E. C. VIGLIANI

LA PRODUZIONE DEL LISOZIMA: RISCHI E PATOLOGIA

NAVA C. - MARCHISIO M. - BRIATICO VANGOSA G. - ARBOSTI G.

Scopo del lavoro è quello di segnalare la nostra esperienza al riguardo della patologia occorsa in operai addetti alla produzione e confezione di lisozima ad uso farmaceutico.

* * *

Nella letteratura medica sono riportate numerose osservazioni riguardanti la biologia e le attività farmacologiche del lisozima; si sono svolti ripetuti Simposi Internazionali su questi argomenti al fine di puntualizzare i risultati raggiunti (4, 5).

Non sono riportate invece osservazioni circa una attività allergizzante del lisozima nonostante che la struttura chimica, l'abbastanza elevato peso molecolare e le caratteristiche biologiche possano giustificare una azione sensibilizzante, come è ben noto per altri enzimi, ad esempio le tripsine e le proteasi da *Bacillus subtilis* (16, 20, 21).

Gli studi biologici condotti hanno permesso di definire « lisozimi » quegli enzimi che sono capaci di lisare un certo numero di batteri, scindendo la componente polipeptidica del mucocomplesso dello acetilaminozucchero della parete batterica.

Dopo l'isolamento da parte di FLEMING (10) di un lisozima nelle secrezioni umane, altri Autori (1) hanno descritto enzimi con le stesse caratteristiche estratti da invertebrati, piante, fagi e batteri. Tutti questi enzimi presentano qualitativamente la stessa attività biologica (17).

Il lisozima più studiato è quello proveniente dal bianco dell'uovo; è una proteina basica a catena polipeptidica semplice costituita da 130 aminoacidi.

Riportiamo qui di seguito le forme più studiate del lisozima del bianco dell'uovo:

1) Lisozima isoelettrico: preparato per cristallizzazione diretta dell'albume d'uovo con il procedimento B di FEVOLD e ALDERTON (9) e ricristallizzato al suo pH in presenza del 5 % di NaCl.

2) Carbonato di lisozima: isolato direttamente e ricristallizzato da soluzione di sodio bicarbonato al 5 %.

3) Cloruro di lisozima: ottenuto con il procedimento A di FEVOLD e ALDERTON (9) e ricristallizzato a pH 4,5-5 in presenza del 5 % di NaCl.

(Per i dettagli degli schemi di preparazione vedi note tecnologiche).

Gli studi di LEWIS e COLL. (18), FROMAGEOT e PRIVAT DE GARILHE (12), MILLS (19), DE FONTAINE e FOX (8) hanno consentito di fissare la formula strutturale della proteina, le cui caratteristiche salienti sono:

- l'elevato contenuto in arginina;
- la assenza di residui cisteinici;
- l'elevato contenuto in triptofano.

L'aminoacido N-terminale è la lisina, il C-terminale la leucina.

Gli studi sulle caratteristiche chimico-fisiche del lisozima condotti da vari Autori (2, 15) hanno permesso di stabilire che tale enzima allo stato solido si può considerare stabile anche se CONÇALVES e Coll. (14) hanno rilevato « impurezze » dopo 4 anni di conservazione.

È notevolmente stabile in soluzione acquosa a temperatura ambiente: una soluzione mantenuta a pH 9,5 a 37° C per una settimana conserva più del 90 % della propria attività litica.

Il pH ottimale di conservazione è considerato di 4,3.

In base a queste caratteristiche di stabilità abbiamo preparato le nostre soluzioni e mantenute a temperatura di +2. +4° C onde garantire un utilizzo prolungato nel tempo.

Altri lisozimi attualmente noti sono le leuchine, la plakona, la proteina lisante II (o lisozima di milza di coniglio), il lisozima di rene di cane e ratto, quello lacrimale, da carica papaya, da *Bacillus Subtilis*, da *Staphylococcus aureus* 524.

Le attività farmacologiche del lisozima possono essere così riassunte:

A) Attività simil-fisiologiche quali quella normalizzante la flora enterica, nel favorire nel lattante la digestione gastrica ed enterica; ancora come fattore naturale di difesa antiinfettiva (17, 18) favorendo la fagocitosi.

B) Attività farmacologiche propriamente dette quali la antibatterica con azione litica sul substrato dell'enzima presente sulla parete del microrganismo, con inibizione della respirazione cellulare. Descritta ancora un'azione antivirale con la scomparsa dell'azione citopatogenetica per la formazione di complessi insolubili fra lisozima e virus (CASELLI e BRUSCA, 7).

Sempre alla formazione dei complessi, questa volta fra il lisozima e le proteine infiammatorie, è attribuita l'azione di questa sostanza in tal senso (CASELLI e ARDOINO, 6).

Altri particolari aspetti farmacologici quali l'azione sull'emostasi, sulla cicatrizzazione, sulla diuresi e infine sulle neoplasie sono, allo stato attuale, acquisizioni derivate solo dall'esperienza clinica.

C) Come additivo alimentare è del tutto recente l'applicazione e non sono ancora noti i dettagli.

* * *

NOTE DI TECNOLOGIA

Diamo qui di seguito alcune note sulla tecnologia della preparazione del lisozima.

Il più comune metodo di produzione si basa sulla tecnica dell'estrazione del lisozima dal bianco dell'uovo (20).

Tale metodo prevede l'adsorbimento del bianco dell'uovo su bentonite, la successiva separazione della parte liquida dalla solida, lavaggi ripetuti per l'allontanamento di vari contaminanti.

In seguito il lisozima viene eluito dal mezzo adsorbente con una soluzione acquosa di piridina, separato per centrifugazione dall'adsorbente; viene poi precipitato con solfato d'ammonio al fine di separarlo dalla piridina: il precipitato viene a sua volta centrifugato, disciolto in acqua distillata ed infine, dopo

un processo di dialisi ed uno di evaporazione sotto vuoto, si ottiene il lisozima in forma pulverulenta.

Una modifica di questo metodo consiste nella sostituzione della bentonite con una resina a scambio ionico (GHELMETTI e TRINCERA, 13).

Gli operai oggetto della nostra indagine avevano svolto la propria attività prevalentemente con la metodica sopradescritta con le ultime modifiche.

Dopo la fase di estrazione si passa alla raffinazione del prodotto che, nel caso della preparazione di liofilati, viene eseguita in reparto sterile. Dopo la macinazione e la pesatura il prodotto viene infflaconato: i controlli successivi riguardano la condizione di sterilità e la valutazione della attività biologica.

I flaconi saranno successivamente etichettati e confezionati.

Per la preparazione delle confezioni in confetti o compresse non è richiesta la lavorazione in reparto sterile.

MATERIALI E METODI

Sono stati controllati 33 operai con periodi di esposizione variabile: da pochi mesi ad oltre 10 anni e 7 soggetti in assunzione di cui 1 aveva già svolto attività a contatto con lisozima e triptici da oltre 3 anni.

Si è innanzitutto proceduto all'esame clinico dei pazienti e sono stati eseguiti tutti quegli accertamenti che si sono ritenuti più opportuni in rapporto alla storia clinica riferita; così sono stati praticati oltre ad esami ematochimici di base (V.E.S., proteina C reattiva, mucoproteine, esame emocromocitometrico), radiografia del torace, prove di funzionalità respiratoria e visite mediche di tipo specialistico quali visita otorinolaringoiatrica e/o dermatologica. Di questi esami daremo notizia volta per volta nella descrittiva della casistica.

Si sono inoltre praticate le prove allergologiche con tutte le sostanze in uso lavorativo presenti nei reparti onde valutare non solo la presenza o meno di stati di sensibilizzazione verso enzimi, ma anche verso tutti gli altri farmaci, intermedi, materie prime e solventi presenti nell'ambiente di lavoro.

Una indagine di questo tipo è eseguita in fase di assunzione e periodicamente agli operai in attività.

Sono state dapprima praticate le prove epicutanee con le seguenti sostanze così preparate:

Lisozima Cloruro al titolo di	95 %	come tale
Tripsine: preparazione contenente	410 U./mg	come tale
Penicillina G sodica	al 50 %	in vaselina filante
Cloranfenicolo	al 60 %	» » »
Tetraciclina HCl	al 50 %	» » »
Sulfamide	al 30 %	» » »
Sulfamidopirimidina	al 20 %	» » »
Diidrostreptomina	al 50 %	» » »
Glucosio-l-fosfato	al 10 %	in soluz. acquosa

La applicazione del test è eseguita mediante cerotti Porotest Lohmann 4x4 cm., sulla cute del dorso previamente detersa con etere solforico: le letture erano praticate dopo 20' e 24-48 ore dalla applicazione. La interpretazione dei dati è quella comunemente in uso (20).

Sono state inoltre praticate le prove intradermiche con le seguenti sostanze così preparate:

Lisozima Cloruro	1,5 mg/ml.	in soluz. fisiologica
Tripsine	2.5 mg/ml.	» » »
Penicillina G	5.000 U.O.x/ml.	» » »
Penicilloil-polilisina	g. 0,6 . 10-6 M.	» » »
Cloranfenicolo	5 mg/ml	» » »
Glucosio-1-fosfato	1 mg/ml	» » »
Tetraciclina HCl	5 mg/ml	» » »
Sulfamide	2 mg/ml	» » »
Sulfamidopirimidina	2 mg/ml	» » »
Diidrostreptomina	5 mg/ml	» » »

Si sono iniettati nella cute della faccia volare dell'avambraccio 0,02 ml. delle soluzioni citate.

Le letture sono state praticate dopo 20', 3-5 e 24-48 ore dall'inoculo, l'interpretazione della risposta è quella comunemente usata (20).

Sono stati inoltre praticati controlli con soluzione fisiologica tampone-fosfato (pH 7.2-7,4) e con istamina bicloridrato 1:1.000.

Le preparazioni di lisozima, delle tripsine da utilizzare per via intradermica sono state usate in soluzione per periodi di oltre 6 mesi: la risposta cutanea a queste preparazioni non è stata diversa a quella ottenuta con soluzioni estemporanee. Quanto sopra segnalato è in accordo a quanto per altri enzimi, quali le subtilisine, abbiamo già avuto modo di vedere (20).

Questa indagine è stata ripetuta con la medesima metodica periodicamente, con cadenza annuale o qualora se ne presentasse la necessità, per il sopraggiungere di una sintomatologia di sospetta natura allergica.

Dei risultati è stata sempre data comunicazione scritta agli operai: in questo certificato, oltre agli esami praticati si segnalavano le limitazioni lavorative; a tutti gli allergici inoltre si raccomandava di evitare l'uso terapeutico del o dei prodotti verso cui si era mostrata la cutipositività.

* * *

CASISTICA

Sono stati complessivamente esaminati 40 operai: di questi 33 avevano svolto o svolgevano attività esponenti al contatto con lisozima, 6, in fase di assunzione, non avevano mai avuto esposizioni lavorative o per uso terapeutico al prodotto, 1 sempre in assunzione, aveva già lavorato in altre industrie con ugual tipo di rischio. I risultati dell'indagine sono compendati nella tabella 1 e 2.

TABELLA 1 - *Correlazione tra la sintomatologia e la cutisensibilità a lisozima dimostrata con la tecnica dell'iniezione intradermica.*

	Casi controllati	Cutipositivi	Cutinegativi
Sintomatici	18	13 (77 %)	5 (23 %)
Asintomatici	22	4 (23 %)	18 (77 %)
Totali	40	17 (43,5 %)	23 (56,5 %)

TABELLA 2 - Correlazione tra la sintomatologia prevalente e la cutisensibilità a lisozima, dimostrata con la tecnica della iniezione intradermica.

	Casi controllati	Cutipositivi	Cutinegativi
Asma bronchiale	10	10	—
Rinite vasomotoria	4	2	2
Dermatite eritemato-vescicolosa	1	1	—
Altri disturbi	3	—	3
Totali	18	13	5

Dei due soggetti cutipositivi a lisozima e che riferivano come sintomatologia prevalente rinite vasomotoria, uno lamentava anche prurito diffuso.

Dei due soggetti cutinegativi e che riferivano come sintomatologia prevalente rinite vasomotoria, uno presentava anche una forma di rinite emorragica: in assenza di anomalie anatomiche a livello del locus Valsavae e delle fosse nasali in genere, si può ritenere che tali episodi erano giustificati dall'azione litica locale degli enzimi con cui era venuto a contatto.

Per il gruppo di soggetti che riferivano disturbi non meglio definiti, la sintomatologia denunciata era vaga e caratterizzata da « senso di malessere », ipostenia, nausea, epigastralgie, faringodinia: l'esame obiettivo non ha mai rivelato clinicamente, in questi casi, nulla di significativo.

5 soggetti che avevano mostrato cutipositività a lisozima hanno inoltre mostrato cutipositività verso le tripsine; in assenza dei dati di esposizione ai due gruppi di enzimi (tripsine, lisozima) non è possibile formulare un giudizio circa la diversa capacità allergogena degli stessi in questi operai.

Di questi, 4 riferivano disturbi di tipo respiratorio, uno presentava note di dermatite irritativa alle sedi acroesposte.

Interessante notare come tutti i soggetti cutinegativi per il lisozima lo erano anche per le tripsine.

Si segnala che dei 7 soggetti in assunzione 1 solo ha mostrato cutipositività a lisozima: questo soggetto lavorava come analista chimico in una industria farmaceutica a contatto con lisozima ed altri enzimi.

* * *

Diamo qui di seguito la descrittiva di alcuni casi a nostro avviso più significativi.

A.C. di anni 38 (scheda allergologica 2209.120/69). Operaia farmaceutica. Il padre soffre di asma bronchiale.

Da circa 5 anni è addetta ai saggi di sterilità; da circa 3 anni accusa crisi dispnoiche a tipo asmatiforme che insorgono prevalentemente durante il turno di lavoro e che vanno a remissione dopo 3-4 ore; raramente insorgono crisi dispnoiche nelle ore notturne.

Gli esami clinici praticati non hanno rivelato nessuna particolare alterazione all'atto del nostro controllo.

Le prove allergologiche praticate con lisozima, tripsine, penicillina G, diidro-streptomina, penicilloil-polilisina, hanno evidenziato una sensibilizzazione di tipo reaginico verso penicilline e lisozima. Per l'enzima la risposta si è presentata particolarmente evidente con la comparsa dopo 20', in sede di inoculo, di un ponfo di oltre 20 mm. di diametro. Durante le prove la paziente ha lamentato lieve dispnea. Le prove di funzionalità respiratoria subito praticate non hanno evidenziato significative modificazioni rispetto a quelle di base.

Per tale soggetto si è consigliata una attività non esponente alle sostanze verso cui era risultata sensibilizzata: l'allontanamento dal reparto ha portato a notevole riduzione della sintomatologia soggettiva.

F.U. di anni 19 (scheda allergologica 2219.130/69). Operaio farmaceutico. Negativa la familiarità per diatesi allergiche.

Da circa 2 anni addetto al reparto compresse.

Da 1 anno e mezzo accusa crisi dispnoiche in occasione di lavoro; anche in questo caso la sintomatologia si presenta dopo 4-5 ore di lavoro e regredisce a volte spontaneamente, a volte con presidi farmaceutici qualche ora dopo il termine del turno lavorativo.

Gli esami praticati hanno messo in evidenza un modesto stato bronchitico senza alterazioni funzionali alle prove di funzionalità respiratoria.

Le prove allergologiche praticate hanno evidenziato una risposta di tipo immediato molto evidente all'intradermica con lisozima. Anche questo operaio trasferito dal reparto e non più esposto a lisozima ha avuto notevole riduzione della sintomatologia.

G.C. di anni 26 (scheda allergologica 2293.217/69). Addetto al laboratorio ricerche da circa 9 anni.

Da circa 7 anni accusa crisi asmatiche accessuali in occasione di lavoro con le caratteristiche grosso modo sovrapponibili a quelle degli altri casi già descritti.

All'atto del nostro controllo non si è rilevato nulla di notevole all'esame clinico generale ed alle varie prove diagnostiche cui è stato sottoposto (esami ematochimici, Rx torace, Prove di funzionalità respiratoria). Le prove allergologiche praticate hanno evidenziato una risposta di tipo immediato e ritardato verso lisozima. Anche in questo caso evitando l'esposizione all'enzima la sintomatologia si è notevolmente attenuata.

D.R. di anni 44 (scheda allergologica 2514.435/69). Addetta al lavaggio vetreria in reparto produzione da circa 10 anni. Da circa 4 mesi sono comparse crisi asmatiche prevalentemente in occasione di lavoro. Non riferisce l'insorgenza della sintomatologia nei periodi festivi.

Gli esami clinici non hanno evidenziato nulla di particolare da segnalare. Le prove allergologiche hanno evidenziato una netta risposta di tipo reaginico all'intradermica con lisozima.

B.R. di anni 26 (schede allergologiche 2424.345; 574/71; 2276/71). Un primo controllo allergologico praticato all'atto della assunzione non aveva evidenziato alcuna sensibilizzazione in un soggetto che riferiva nulla di rilevante alla anamnesi personale e familiare.

Addetto alla preparazione compresse, dopo 20 mesi lamentava la comparsa di una dermatite irritativa alle sedi acroesposte. La visita dermatologica descriveva la forma come eritematovescicolosa e consigliava l'esecuzione dei tests allergologici.

Dopo un periodo di adeguata terapia e di astensione dalla attività lavorativa, sono state eseguite le prove allergologiche, che hanno evidenziato una risposta

di tipo reaginico verso il solo lisozima. Un controllo praticato dopo 8 mesi a causa del persistere della manifestazione cutanea mostrava la persistente sensibilizzazione a lisozima e inoltre a tripsine.

B.P. di anni 26 (schede allergologiche 824/71; 1750/72; 649/73). All'atto dell'assunzione il controllo clinico ed allergologico non avevano evidenziato alcuna sensibilizzazione in un soggetto con nessun precedente allergico personale o familiare. Dopo circa 1 anno dall'inizio della propria attività lavorativa presso il reparto confetti ha accusato crisi broncospastiche sul lavoro. Quando il paziente si è presentato ai nostri Ambulatori persisteva un modesto stato broncospastico e le prove di funzionalità respiratoria evidenziavano un discreto deficit ventilatorio di tipo ostruttivo (C.V. —18 %; V.E.M.S. —22 %).

L'anamnesi rilevava ripetuti episodi bronchitici in un soggetto fumatore di oltre 15 sigarette al giorno da almeno 5 anni.

Le prove allergologiche hanno mostrato solo risposta reaginica verso tripsine. Un successivo controllo praticato a circa 6 mesi di distanza per la persistenza della sintomatologia ha evidenziato inoltre una intensa risposta di tipo immediato e ritardato alla intradermica praticata con lisozima.

M.A. di anni 40 (scheda allergologica 612/73).

Familiarità negativa per diatesi allergiche.

Addetto al magazzino dei prodotti farmaceutici da 3 mesi, in precedenza alla manutenzione degli impianti.

Da circa 1 anno accusa oculorinite, 3 mesi prima aveva sofferto di prurito diffuso durato circa 1 mese e che si era attenuato solo con l'uso prolungato di antistaminici e ACTH di sintesi.

L'esame clinico mostrava note di oculorinite. Anche in questo caso si è avuta una risposta di tipo reaginico verso lisozima.

B.V. di anni 25 (scheda allergologica 615/73).

Familiarità negativa per diatesi.

Capo reparto alla produzione da circa 2 anni.

Da circa 1 mese lamenta dispnea e crisi di sternutazione durante l'attività lavorativa. L'esame clinico mostrava la deviazione destroconvessa del setto nasale, null'altro di notevole.

Alle prove allergologiche si è evidenziata una chiara risposta reaginica verso lisozima.

CL. di anni 40 (schede allergologiche 28.800; 614/71; 748/72).

Dopo circa 3 mesi dall'inizio della propria attività lavorativa come addetto al reparto compresse ha cominciato ad accusare crisi dispnoiche accessuali in occasione di lavoro. L'esame clinico ha evidenziato nulla di rilevante. Le prove allergologiche sono state praticate con lisozima, tripsine, penicillina, cloranfenicolo: si evidenziava una netta risposta reaginica verso lisozima. Ai successivi controlli praticati con cadenza annuale il paziente riferiva la persistenza della sintomatologia nonostante l'allontanamento dal reparto. Le prove effettuate in tali occasioni hanno sempre confermato lo stato di sensibilizzazione verso lisozima; il paziente si è inoltre rivelato un atopico con polisensibilizzazione verso miceti, pollini, inalanti vari. È in corso terapia iposensibilizzante.

A.M. di anni 21 (schede allergologiche 1767/72; 1160/73).

All'atto della assunzione il controllo clinico ed allergologico non avevano evidenziato alcuna sensibilizzazione in un soggetto con nessun precedente allergico personale e familiare.

Dopo circa 2 anni dall'inizio dell'attività lavorativa presso il reparto compresse, ha accusato rinite vasomotoria e congiuntivite che insorgevano all'inizio saltuariamente, quindi sempre più frequentemente dopo qualche ora dall'inizio

del turno di lavoro e che persistevano per 2-3 ore dopo l'interruzione del lavoro stesso.

L'esame clinico evidenziava lievi note di catarro bronchiale.

Le prove allergologiche hanno evidenziato una modesta cutipositività di tipo immediato alla prova intradermica per tetraciclina e tripsine, una notevole risposta sempre di tipo reaginico a lisozima.

M.A. di anni 24 (scheda allergologica 1387/73).

Analista farmaceutico da circa 3 anni.

Due fratelli soffrono di rinite vasomotoria stagionale.

All'atto della visita di assunzione, ha riferito di saltuari episodi di rinite vasomotoria occorsi in prevalenza in occasione del precedente lavoro a contatto con enzimi.

Nulla all'esame clinico. Le prove allergologiche hanno evidenziato una chiara risposta di tipo reaginico verso lisozima; vi era inoltre cutipositività per inalanti e polveri di ambiente tra cui il mite.

C.B. di anni 27 (scheda allergologica 1089/73).

Addetto laboratorio analisi da 7 anni.

Familiarità: una sorella ha sofferto di dermatite eczematosa alle mani.

Da circa 1 mese riferisce l'insorgenza di crisi dispnoiche solo sul lavoro: tale sintomatologia interviene quasi costantemente nella seconda metà del turno lavorativo.

Gli esami clinici e di funzione respiratoria praticati all'atto dell'indagine hanno rilevato una condizione di normalità.

Le prove allergologiche hanno evidenziato una risposta cutanea positiva di tipo immediato a lisozima.

P.G. di anni 51 (scheda allergologica 1078/73).

Operaio farmaceutico da 4 anni. In precedenza per 18 anni animista in fonderia.

Familiarità: negativa per diatesi allergiche.

Da circa 2 anni il paziente accusa crisi dispnoiche prevalentemente sul lavoro.

Gli esami praticati hanno evidenziato uno stato bronchitico cronico con note di enfisema polmonare con compromissione di tipo ostruttivo della funzione respiratoria.

Le prove allergologiche hanno mostrato una intensa risposta reaginica a lisozima e tripsine.

V.L. di anni 25 (schede allergologiche 108/72; 1171/73).

All'atto dell'assunzione i vari controlli effettuati non avevano evidenziato alcuna sensibilizzazione in un soggetto con nessun precedente allergico familiare o personale.

In controllo successivo ha mostrato alle prove allergologiche una buona risposta reaginica a lisozima.

P.S. di anni 37 (schede allergologiche 2892.813; 665/71; 2290/71; 1770/72).

Operaio farmaceutico.

Non precedenti diatesi allergiche nel gentilizio.

Il paziente riferisce di aver sofferto per circa 3 anni di dermatite da contatto da metalli (un controllo ha infatti evidenziato una risposta cutanea di tipo ritardato a nichel solfato e potassio bicromato).

Dopo circa 2 anni dall'inizio del lavoro nel reparto compresse ha cominciato a lamentare accessi dispnoici e senso di costrizione toracica. Gli esami clinici praticati non evidenziavano nulla di patologico; le prove allergologiche mostravano una risposta di tipo reaginico a lisozima di grado medio.

I successivi controlli praticati ad un anno di distanza ed a 6 mesi rispetti-

vamente l'uno dall'altro, per il persistere della sintomatologia, mentre non mostravano all'esame clinico nulla di rilevante, evidenziavano una risposta reaginica sempre più intensa a lisozima e la sopraggiunta cutipositività a tripsine, a miceti e inalanti vari.

Si segnala che in questo caso nonostante i ripetuti consigli l'operaio non era stato allontanato, per esigenze lavorative, dal reparto compresse.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

La scarsità di informazioni raccolte circa la patologia da lisozima attraverso la letteratura medica, trova probabilmente la sua ragione nelle modalità di somministrazione di questo enzima: il preparato è per lo più usato per via orale e ha così modo di provocare con minore facilità sensibilizzazioni allergiche, anche perchè è assai ridotta, attraverso questa via la aggressività primaria del prodotto.

Questo non avviene invece durante la produzione e la confezione di prodotti farmaceutici contenenti l'enzima, disperso nell'aria ambiente, in forma di polvere finemente suddivisa.

La conferma dell'attività irritante primaria dell'enzima in forma pulverulenta è data dalla prevalenza di manifestazioni a carico dell'apparato respiratorio negli operai oggetto della presente indagine; meno evidente appare la sintomatologia a livello cutaneo anche perchè la protezione cutanea, particolarmente in ambiente sterile, è assai valida.

È pertanto possibile che la prima azione del lisozima sia di tipo litico, aspetto questo comune ad altri enzimi proteolitici; in terreno predisposto, la fase successiva è quella della sensibilizzazione allergica: ne consegue lo scatenamento di una sintomatologia in cui gli organi bersaglio sono a livello degli apparati più esposti (bronchi e prime vie aeree) (20).

A nostro parere questo è il meccanismo patogenetico che con più facilità può avere indotto le manifestazioni negli operai oggetto della presente indagine.

Collateralmente dobbiamo inoltre segnalare come sia nostra convinzione che anche l'uso terapeutico del lisozima, particolarmente attraverso la via parenterale ed aerosolica possa provocare uno stato di sensibilizzazione allergica e conseguentemente una sintomatologia anche clinicamente importante. A tal proposito riteniamo utile segnalare 4 casi di persone venute alla nostra osservazione per disturbi insorti dall'uso dell'enzima: di questi uno ebbe uno shock anafilattico; tutti diedero positività al test cutaneo.

Riteniamo pertanto opportuno tenere presente questa possibilità in corso di questa terapia.

Ci resta ancora da segnalare la stabilità della soluzione acquosa e di altre preparazioni del lisozima: la sua mancata rapida denaturazione, seppur migliori la sua efficacia terapeutica, espone però per tempi più prolungati i pazienti a possibili sensibilizzazioni.

Quanto segnalato indica la pericolosità della esposizione a questo enzima particolarmente in fase pulverulenta. Poichè l'attuale condizione di inquinamento del microclima, anche se non documentata quantitativamente, è tale da provocare i danni segnalati, ne deriva che le misure preventive più idonee,

atte a ridurre la polverosità ambientale consistono essenzialmente nel potenziare gli impianti di aspirazione ed introdurre, ove possibile adatti automatismi.

L'operaio, qualora la condizione ambientale non si potesse adattare ad una maggior protezione, dovrà essere fornito di maschera antipolvere adatta o, al limite, di casco a presa d'aria esterna: quest'ultimo mezzo sarà da adottare solo nel caso gli altri fallissero; ciò per le ovvie remore all'uso di una strumentazione mai ben tollerata.

Dal lato sanitario si dovrà evitare l'esposizione di quei soggetti con pregresse allergopatie o con anomalie a livello delle prime vie aeree tali da favorire l'insorgenza di flogosi, di sensibilizzazioni.

Sarà infine utile l'adozione di controlli periodici a tutti gli operai agenti nel reparto (addetti alla produzione, alla manutenzione, tecnici) per una prevenzione quanto più possibile capillare: durante queste visite verrà praticato un esame allergologico atto ad evidenziare nuovi stati di sensibilizzazione e adottare pertanto, per tempo, gli accorgimenti richiesti dal caso.

Per concludere ci resta da ricordare quanto in questo campo è stato approntato dalla legislazione italiana. Nel D.P.R. 1124 del 30-6-1965 non si fa cenno ad affezioni provocate da lisozima; nel D.M. del 18-4-1973 si prescrive l'obbligo di denuncia per le affezioni a carico degli apparati respiratorio e cutaneo attribuite a cause lavorative non specificatamente segnalate nello stesso decreto. Ciò non implica naturalmente il riconoscimento da parte dell'Ente assicurativo preposto, ma solo la venuta a conoscenza da parte dello Ispettorato del lavoro. Risulta pertanto evidente la carenza nel caso specifico ed in generale per tutte le affezioni da farmaci contratte in occasione di lavoro.

RIASSUNTO

Si descrive l'indagine praticata in un gruppo di 40 operai addetti alla produzione e confezione di prodotti contenenti lisozima.

Si descrive la patologia riscontrata, il possibile meccanismo patogenico per l'insorgere dei disturbi.

Si indicano le modalità diagnostiche approntate con particolare riguardo alle prove allergologiche.

Si analizzano in dettaglio i casi più significativi, i mezzi di prevenzione adottati o da approntarsi.

Nelle conclusioni si pone l'accento sul fatto che possa esistere la possibilità di sensibilizzazione allergica all'enzima e l'insorgenza di una sintomatologia conseguente anche in corso di terapie con tale prodotto: a tal proposito si segnalano 4 casi di cui uno ha subito uno shock anafilattico.

Si accenna infine alla carenza legislativa in Italia nella prevenzione e cura di malattie provocate, in occasione di lavoro, da farmaci.

BIBLIOGRAFIA

- 1) ABRAHAM E. P., ROBINSON R. (1937): *Nature*, 24, 140. — 2) ALDERTON G., FEVOLD H. L. (1946): *J. Biol. Chem.*, 164, 1. — 3) ALDERTON G., FEVOLD H. L. (1968): Method of isolating lysozyme from its naturally occurring mixture with other biologic components, *United Patent Office U.S.A.*, 2, 442-452. — 4) Atti del I° Simposium Internazionale sul Lisozima di Fleming. Prima Sezione: biologia del lisozima, Milano, 3-5 Aprile 1959. — 5) Atti del II° Simposium Internazionale sul Lisozima di Fleming.

Prima Sezione: biologia del lisozima, Milano, 7-9 Aprile 1961. — 6) CASELLI P., ARDOINO A. L. (1959): Atti del I° Simposium Internazionale sul Lisozima, Milano, vol. I°, 34. — 7) CASELLI P., BRUSCA A. E.: Atti del 3° Simposium Internazionale sul Lisozima, 1964, Milano, vol. I°, sez. seconda, 1. — 8) DE FONTAINE D., FOX S. W. (1954): J. Am. Chem. Soc., 76, 3701. — 9) FEVOLD H. L., ALBERTON G. (1949): Biochemicals Preparation. N.Y., 1, 67. — 10) FLEMING A. (1922): Proc. Roy. Soc., 306, 933. — 11) FLEMING A., ALLISON V. D. (1927): Brit. Exper. Path., 8, 214. — 12) FROMAGEOT C., PRIVAT DE GARILHE M. (1950): Biochem. Biophys. Acta, 5, 509. — 13) GHELMETTI G., TRICHERA C. (1968): Pharmaceuticals, 69, 2821. — 14) GONÇALVES J. M., MOLINARI R., DEUTSCH H. F. (1956): Arch. Biochem. Biophys., 60, 171. — 15) GORINI L., FELIX F. (1953): Biochem. Biophys. Acta, 10, 28. — 16) GREENBERG M., MILNE J. F., WATT A. (1970): Brith. Med. J., 2, 626. — 17) JOLLÈS P. (1964): Angew. Chem., 20, 76. — 18) LEWIS J. C., SNELL N. S., HIRSCHMANN D. J., FRAENKEL-CONRAT H. (1950): J. Bioch. Chem., 186, 23. — 19) MILLS G. L. (1952): Biochem. J., 50, 707. — 20) NAVA C., BRIATICO VANGOSA G., CIRLA A. (1974): Securitas (in corso di pubbl.). — 21) NEWHOUSE M., TAGG B., POCKOCK S. J. (1970): Lancet, 1, 689. — 22) SAVINI R. (1950): Riv. Ist. Sier. Mil., 29, 358.