

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE



Corso di Laurea Magistrale in
Medicina e Chirurgia

Tesi di laurea:

Controllo del profilo epatico e renale in medici specialisti in anestesia e rianimazione operanti presso l'Ospedale Policlinico San Martino IRCCS di Genova: analisi di dati di sorveglianza sanitaria tramite un modello lineare misto

Relatore:

Chiar.mo Prof. Guglielmo Dini

Candidato:

Marco Leonetti

Correlatore:

Dottor Alborz Rahmani

Anno Accademico 2022/2023

INDICE

PREFAZIONE	1
CAPITOLO INTRODUTTIVO	3
I gas anestetici	3
Evoluzione e sviluppo	4
-Gas anestetici pre-alogenati	4
-Gas anestetici alogenati	5
Waste Anesthetic Gases	10
- Misure preventive	13
- Il rischio occupazionale	15
- La gerarchia dei controlli	19
- La sorveglianza sanitaria	21
- Approccio metodologico di analisi	22
Obiettivi	25
CAPITOLO SPERIMENTALE	26
Materiali e Metodi	26
Risultati	35
Discussione e conclusioni	51
BIBLIOGRAFIA	53

PREFAZIONE

I gas anestetici alogenati nelle ultime decadi hanno sostituito progressivamente le sostanze chimiche utilizzate tradizionalmente, come il protossido d'azoto, grazie a migliori profili di sicurezza e inferiori effetti avversi sulla salute. Nel corso degli anni vi sono stati ulteriori selezioni sui gas alogenati con il minor profilo di rischio per la salute, portando nella maggior parte dei Paesi altamente sviluppati all'abbandono di sostanze come cloroformio ed alotano come anestetici generali, privilegiando l'utilizzo di sostanze meno tossiche quali desflurano, sevoflurano ed isoflurano.

Nonostante di queste sostanze si siano effettuati ampi studi da un punto di vista tossicologico sul paziente, con profili di cancerogenicità, mutagenicità e neurotossicità inferiori, gli effetti a lungo termine di possibili esposizioni a basse dosi sulla popolazione lavorativamente esposta risultano ancora un ambito di ricerca, in particolare per quanto riguarda i potenziali effetti epatotossici e nefrotossici. Sebbene in letteratura internazionale alcuni studi suggeriscano un'assenza di tale rischio per la salute, si rileva tuttavia la carenza di dati ottenuti da popolazioni di anestesisti, considerati come categoria professionale a maggiore esposizione.

I dati, raccolti nell'ambito dell'attività di Sorveglianza Sanitaria effettuata ai sensi dell'art. 41 del D.lgs. 81/2008 e s.m.i., permettono di poter indagare retrospettivamente eventuali effetti nel periodo 2016-2023 sul profilo epatico e renale (ALT, GGT, Urea, Creatinina, filtrato glomerulare stimato) nella popolazione di anestesisti, confrontati ad una coorte di medici non esposta a gas anestetici. Le informazioni demografiche su potenziali fattori confondenti quali il genere, l'età, l'indice di massa corporea ($\text{peso}/\text{altezza}^2$), il consumo alcolico tramite strumento *Alcohol Use Disorders Identification Test* AUDIT-C e l'utilizzo di farmaci epatotossici e nefrotossici sono stati estrapolati dalla cartella sanitaria e di rischio raccolta durante la visita di sorveglianza sanitaria.

Al fine di fornire ulteriori dati alla letteratura scientifica è stato possibile utilizzare il metodo lineare misto applicato ai dati di sorveglianza sanitaria di una popolazione di operatori sanitari. Il modello lineare misto applicato permette di analizzare i dati di sorveglianza sanitaria di singoli lavoratori per spiegare la varianza osservata e derivare inferenze su popolazioni di lavoratori a diversi livelli gerarchici (es., inferenze su singolo lavoratore, tra

diversi lavoratori, tra diversi gruppi di lavoratori per reparto, tipo di intervento, tipo di ospedale) dimostrando di essere un possibile strumento utilizzabile in Medicina del Lavoro per condurre studi epidemiologici volti ad indagare esposizioni a basse dosi e/o effetti sub-critici sulla salute.

CAPITOLO INTRODUTTIVO

I gas anestetici

Gli anestetici sono quei farmaci che determinano una temporanea abolizione dello stato di coscienza ed un'inibizione della sensibilità dolorifica per un periodo limitato alla loro somministrazione. Si distinguono due tipi di anestesia: *generale* che agisce sul sistema nervoso centrale e *periferica* che agisce a livello del sistema nervoso periferico.¹

I gas anestetici (protossido di azoto, alotano, enflurano, isoflurano, desflurano, sevoflurano), detti anche anestetici per via inalatoria, vengono somministrati come terapia primaria per la sedazione preoperatoria e per il mantenimento dell'anestesia in aggiunta agli agenti anestetici per via endovenosa (es. midazolam, propofol) nel contesto perioperatorio.² Gli anestetici per via inalatoria sono regolarmente utilizzati in ambito clinico grazie alle proprietà chimiche che consentono la rapida introduzione di un agente nel sangue arterioso attraverso la circolazione polmonare rispetto alla via più tortuosa della circolazione venosa.³ L'importanza di effetti terapeutici rapidi consente un'efficiente induzione e interruzione della sedazione indotta da questi agenti, fornendo un'amnesia adeguata, un'anestesia e un periodo di recupero più rapido nel postoperatorio rispetto agli agenti per via endovenosa.⁴

Nonostante siano indicati per il contesto perioperatorio, questi agenti hanno anche un importante uso off-label nell'ambito dell'assistenza critica per facilitare la tolleranza del paziente all'intubazione endotracheale, alla ventilazione meccanica e alle procedure al letto. In genere, in questi casi, l'uso raccomandato di benzodiazepine per via endovenosa (midazolam, lorazepam, diazepam) o di propofol induce questo livello di sedazione.

Tuttavia, studi più recenti hanno esplorato l'uso regolare di anestetici inalatori, in particolare gli anestetici volatili (alotano, isoflurano, desflurano, sevoflurano), come agenti di prima linea per la sedazione in terapia intensiva. I risultati preliminari mostrano tempi più brevi per l'estubazione e una minore durata della degenza in terapia intensiva; tuttavia, sono necessari ulteriori studi su questi agenti in questo contesto.⁵

Nonostante i tempi di insorgenza e di eliminazione più rapidi, è importante notare che, come gli agenti endovenosi, gli anestetici volatili sono in grado di provocare livelli di sedazione

profonda che possono portare a depressione respiratoria e riduzione dell'attività del paziente durante il periodo di sedazione. Pertanto, qualunque sia il tipo di farmaco, anche se ha tempi di insorgenza e di eliminazione più rapidi, tutte le linee guida raccomandate per la gestione della sedazione-analgesia devono essere utilizzate insieme agli agenti ad azione rapida.⁵¹ Ciò include l'uso di scale validate per la sedazione e il dolore, la prescrizione di un target di sedazione, l'implementazione di algoritmi di sedazione guidati dall'infermiere al letto del paziente, nonché il controllo dei criteri di sicurezza per il test di risveglio giornaliero per evitare una sedazione profonda o prolungata inappropriata.³

Gli anestetici inalatori possono essere divisi in *gassosi* e *volatili*. I primi sono sostanze che a temperatura e pressione ambiente si trovano allo stato gassoso, mentre i secondi sono composti che invece a temperatura e a pressione ambiente si trovano allo stato liquido e solo nel momento dell'impiego vengono vaporizzati in apparecchi termocompensati, dove si miscelano con una corrente gassosa che proviene da un impianto centralizzato.¹

Evoluzione e sviluppo

Gas anestetici pre-alogenati: il Protossido d'azoto

Il protossido d'azoto, molecola con formula chimica N_2O , si presenta in forma gassosa incolore, insapore e con odore dolciastro poco avvertibili anche ad alte concentrazioni. Si tratta di un composto caratterizzato da elevata stabilità, non irritabilità e non infiammabilità, che viene utilizzato come coadiuvante degli anestetici alogenati nella maggioranza dei casi in cui è richiesto un intervento con anestesia generale.¹

Secondo gli studi scientifici il protossido d'azoto possiede una tossicità maggiore rispetto i gas anestetici volatili, motivo per cui sarebbe consigliato evitarne l'impiego e valutare l'assenza, ad eccezione di casi in cui siano necessari per determinate procedure anestesologiche o chirurgiche, di impianti di erogazione di protossido di azoto.

Al momento l'unica normativa che tratta delle indicazioni che riguardano i valori limite ed ai metodi analitici di controllo riguardo l'esposizione professionale ad agenti anestetici è la circolare del Ministero della Sanità n. 5 del 14/03/1989 "Esposizione professionale ad anestetici in sala operatoria". I limiti tecnici riportati nella circolare riguardanti i valori di riferimento sul protossido d'azoto sono : $N_2O = 100$ ppm (Threshold Limit Values - Time

Weight Average , T.L.V. T.W.A.) per le sale operatorie costruite prima del 1989 e N₂O = 50 ppm (T.L.V. T.W.A.) per le sale operatorie ristrutturata dopo il 1989. Per la definizione dei T.L.V. si fa riferimento a quanto indicato dalla American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH): T.L.V. – T.W.A. (valore limite di soglia – media ponderata nel tempo): concentrazione media ponderata nel tempo su una giornata lavorativa convenzionale di 8 ore e su 40 ore lavorative settimanali.⁶

In seguito ad un'esposizione acuta di protossido d'azoto, la quota maggiore viene eliminata immutata per via respiratoria e in minor misura per via cutanea e urinaria, causando stordimento e respiro affannoso; solo una piccola quota quindi è responsabile, in seguito ad un'esposizione cronica, degli effetti nocivi, quali la riduzione della fertilità, aborto spontaneo, malattie neurologiche, malattie renali ed epatiche.^{7 52}

In questo caso si ritiene siano coinvolti differenti meccanismi patogenetici: la formazione di *radicali liberi* e *l'inattivazione della vitamina B₁₂* con conseguente coinvolgimento di diversi organi bersaglio, in particolare è stata dimostrata la sua epatotossicità. Infatti la somministrazione di protossido d'azoto è stata associata al danno epatico, valutato attraverso la misura delle aminotransferasi e l'esame del tessuto epatico stesso.⁸

Gas anestetici alogenati

➤ Alotano

L'alotano fu sintetizzato per la prima volta nel 1951 e si diffuse rapidamente come anestetico generale non infiammabile in sostituzione di altri anestetici volatili precedentemente impiegati. Per il suo basso costo è ancora ampiamente utilizzato nei Paesi in via di sviluppo, ma in molte parti del mondo è stato sostituito da nuovi composti.

L'alotano può andare incontro ad una biodegradazione secondo due vie metaboliche differenti a seconda della tensione di ossigeno epatocitaria, che, se adeguata, determina la formazione di cloro, bromo e acido trifluoroacetico tramite l'attivazione della via ossidativa. Questa via determina la formazione di due intermedi reattivi, il trifluoroacetilacilcloruro e l'aloidrina i quali sono in grado di agire da determinanti aptenici, ovvero di legarsi a proteine di membrana della cellula epatica, potendo così innescare, in caso di riesposizione all'anestetico, un' epatite acuta fulminante come tipica reazione di ipersensibilità.⁸

Studi condotti per lo più negli anni '70 e nella prima metà degli anni '80, si sono concentrati sugli effetti dell'alotano, sulle persone esposte professionalmente. Gli effetti osservati nella maggior parte di questi studi sono stati un aumento degli aborti spontanei tra le donne esposte durante o prima della gravidanza e tra le partner di uomini esposti; un aumento delle malformazioni congenite nei figli di madri esposte; l'insorgenza di problemi epatici, renali e neurologici e di alcuni tipi di cancro sia negli uomini che nelle donne.⁹

➤ *Enflurano*

L'enflurano è un liquido limpido e incolore a temperatura ambiente, non infiammabile e non esplosivo, che richiede un vaporizzatore per la somministrazione, sebbene si vaporizzi abbastanza facilmente. Si tratta di un anestetico alogenato per via inalatoria che può essere considerato un capitolo della storia dell'anestesia. È stato sintetizzato nel 1963 e approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia generale, diventando negli Stati Uniti l'inalazione più utilizzata tra la fine degli anni '60 e gran parte degli anni '80. Tuttavia, il suo utilizzo è diminuito a favore di anestetici alogenati più recenti, che presentano un profilo farmacocinetico migliore (tempi di induzione ed emergenza più rapidi) e sono meno gravati, rispetto all'enflurano, da effetti collaterali.^{10 11} Questi si configurano soprattutto in termini di nefrotossicità e attività pro-convulsiva, ma anche in alterazioni emodinamiche, respiratorie e neurologiche.^{53 54 55}

➤ *Isoflurano*

L'isoflurano è un anestetico volatile approvato dalla Federal Drug Administration (FDA) per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia generale. Come la maggior parte degli anestetici volatili, si tratta di un composto etero alogenato che è un isomero strutturale del suo predecessore, l'enflurano, ed è stato approvato per l'uso negli Stati Uniti dal 1979. A differenza di quest'ultimo, l'isoflurano è un anestetico volatile che ha un odore forte e pungente che ne rende difficile l'uso per l'induzione inalatoria dell'anestesia generale.¹² L'isoflurano viene generalmente impiegato per il mantenimento dell'anestesia indotta da un anestetico differente, poiché è caratterizzato da delle controindicazioni come ad esempio l'irritabilità a carico dell'apparato respiratorio, che lo rendono utilizzabile solo per il mantenimento.¹³

➤ *Sevoflurano*

Il sevoflurano è un metil-isopropil etere altamente fluorurato, impiegato come anestetico inalatorio alogenato approvato dalla FDA per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia generale in pazienti adulti e pediatrici per interventi chirurgici ospedalieri e ambulatoriali. Si tratta di un anestetico volatile che, una volta somministrato tramite un vaporizzatore calibrato specifico collegato a una macchina per anestesia, fornisce ipnosi, amnesia, analgesia, acinesia e blocco autonomo durante interventi chirurgici e procedurali.^{14 15} Dopo il desflurano, è l'anestetico volatile con l'insorgenza più rapida.¹⁶

Come per altri anestetici inalatori alogenati, il meccanismo preciso del sevoflurano per indurre e mantenere l'anestesia generale è sconosciuto; nonostante ci siano stati molteplici tentativi di identificare un'ipotesi unitaria, nessun singolo meccanismo d'azione proposto ha spiegato completamente i loro effetti clinici. Un'ipotesi è che gli anestetici inalati aumentino l'attività dei canali postsinaptici inibitori (acido gamma-aminobutirrico (GABA) e glicina) e inibiscano l'attività dei canali sinaptici eccitatori (N-metil-D-aspartato (NMDA), acetilcolina nicotinica, serotonina e glutammato) nel sistema nervoso centrale.¹⁷

Il sevoflurano subisce un metabolismo epatico o un'escrezione renale minimi, mentre la sua eliminazione, la sua clearance e la cessazione dei suoi effetti anestetici dipendono dagli stessi fattori che influenzano l'assorbimento dell'agente. Tra questi si riconoscono: la concentrazione dell'anestetico inalato, i coefficienti di ripartizione, la ventilazione minima del paziente ed il flusso sanguigno polmonare del paziente.¹⁸

Il sevoflurano presenta un rischio potenziale di epatotossicità e nefrotossicità.

Per quanto riguarda l'epatotossicità sono stati proposti diversi meccanismi per la disfunzione epatica post-operatoria, tra cui l'epatite virale, l'alterata perfusione epatica e la colestasi intraepatica. Tuttavia, nuove evidenze suggeriscono un meccanismo immuno-mediato. Come altri anestetici volatili, il sevoflurano viene parzialmente ossidato nel fegato da uno specifico enzima CYP (2E1) in un metabolita, *l'acido fluoroacetico*. È stato riscontrato che questo metabolita specifico sia in grado di modificare le proteine microsomiali epatiche che successivamente agiscono come antigeni scatenanti di una risposta anticorpale immuno-mediata. Sebbene questa risposta sia rara a causa della bassa percentuale di sevoflurano metabolizzato in questo modo, il rischio teorico esiste.¹⁹

Invece il potenziale effetto nefrotossico del sevoflurano è attribuibile a due fattori. Il primo fattore è il metabolita discusso in precedenza, l'acido fluoroacetico, che ha dimostrato nefrotossicità, oltre che epatotossicità. Il secondo è la creazione del *composto A*, ovvero un altro sottoprodotto fluorurato creato da una reazione esotermica tra il sevoflurano e gli assorbenti dell'anidride carbonica utilizzati nei sistemi di somministrazione degli anestetici, che, secondo quanto riferito, può causare lesioni renali lievi e reversibili negli studi sugli animali. Il rischio teorico di nefrotossicità indotta dal composto A nell'uomo può dipendere dalla dose e dal tempo di esposizione.²⁰

➤ *Desflurano*

Il desflurano (1,2,2,2-tetrafluoroetil difluorometil etere) è stato sintetizzato per la prima volta negli anni '70, è alogenato esclusivamente con il fluoro ed è molto resistente alla defluorurazione.²¹ Quando è stato introdotto il desflurano era difficile da sintetizzare e costoso, il che ne limitava l'uso, ma data la sua bassa solubilità nel sangue e la sua rapida induzione è diventato più popolare. Tra gli anestetici inalatori è quello che possiede l'insorgenza più rapida, infatti, insieme al sevoflurano, sta gradualmente sostituendo l'isoflurano per l'uso umano, tranne che nelle aree economicamente non sviluppate. Sebbene si vaporizzi molto facilmente, a temperatura ambiente è un liquido; le macchine per anestesia sono dotate di un'unità di vaporizzazione anestetica specializzata che riscalda il desflurano liquido a una temperatura costante consentendo all'agente di essere disponibile a una pressione di vapore costante, annullando gli effetti che le fluttuazioni della temperatura ambientale avrebbero altrimenti sulla sua concentrazione immessa nel flusso di gas fresco della macchina per anestesia.⁵⁶

Le indicazioni approvate dalla FDA per il desflurano sono l'induzione o il mantenimento dell'anestesia negli adulti, tuttavia il suo odore pungente lo rende difficile da usare per l'induzione dell'anestesia generale, motivo per cui viene utilizzato più comunemente per mantenere l'anestesia generale dopo l'induzione con una flebo o un altro agente inalatorio.²²

Il meccanismo d'azione del desflurano non è ancora chiaro, si ritiene che agisca attraverso l'interazione con diversi canali ionici presenti nel sistema nervoso centrale e periferico, bloccando i canali eccitatori e potenziando l'attività dei canali inibitori. Altri meccanismi proposti prevedono che questo agente agisca influenzando il bilayer della membrana. La

struttura del desflurano è simile a quella dell'isoflurano, tranne che per l'aggiunta di un atomo di fluoro, il quale ne modifica le proprietà fisiche rispetto ad altri agenti inalatori.²³

Un rapido aumento della concentrazione di desflurano può causare un aumento transitorio ma clinicamente significativo della frequenza cardiaca e della pressione sanguigna. Questi effetti, secondari al rilascio di catecolamine, sono più pronunciati con il desflurano rispetto all'isoflurano o al sevoflurano. Gli anestetici volatili favoriscono il rilassamento dei muscoli scheletrici e potenziano gli effetti degli agenti bloccanti neuromuscolari; il desflurano potenzia gli effetti del rocuronio in misura maggiore rispetto al sevoflurano, all'isoflurano o agli anestetici per via endovenosa. Come per tutti gli anestetici inalatori, inoltre determina una diminuzione della risposta ventilatoria alla CO₂.²⁴

Sebbene raro, un grave danno epatico può seguire l'anestesia con desflurano, insieme ad altri agenti inalatori, e può includere una necrosi epatica massiva; il meccanismo è immunologico. Il desflurano infatti viene metabolizzato dal citocromo P-450 per produrre *trifluoroacetato*, che si lega alle proteine degli epatociti, formando complessi che stimolano la formazione di anticorpi. Le esposizioni successive alla formazione di anticorpi possono portare alla necrosi epatica. Questo fenomeno è molto meno comune rispetto ad altri agenti come l'alotano, ma dato il metabolita è comunque possibile.^{25 26}

Waste Anesthetic Gases

I gas anestetici di scarto (noti come *Waste Anesthetic Gases, WAG*) sono piccole quantità di gas anestetici volatili che fuoriescono dal circuito di respirazione anestetica del paziente nell'aria delle sale operatorie durante la somministrazione dell'anestesia.²⁷

Questa per essere appropriata deve essere selezionata in base a numerosi fattori quali la disponibilità, la facilità di somministrazione, il costo e viene solitamente iniziata con l'iniezione di un farmaco sedativo seguito da un anestetico inalato, con volumi somministrati che sono dell'ordine di 4 o 5 litri/minuto. Una parte dell'ossigeno e dei gas anestetici presenti nella miscela viene trattenuta dal paziente, mentre la parte restante viene espirata direttamente nell'atmosfera o riciclata nel respiratore, a seconda, tra l'altro, del tipo di maschera utilizzata, dell'eventuale intubazione del paziente e della disponibilità o meno di un sistema di riciclo. Se è disponibile un sistema di riciclo, l'aria espirata può essere riciclata dopo essere stata pulita oppure può essere espulsa nell'atmosfera, espulsa dalla sala operatoria o aspirata da un aspiratore. Il riciclo (circuito chiuso) non è una procedura comune e molti respiratori non hanno sistemi di scarico; tutta l'aria espirata dal paziente, compresi i gas anestetici di scarto, finisce quindi nell'aria della sala operatoria.²⁸ I gas anestetici di scarto comprendono sia il protossido d'azoto che gli anestetici alogenati come alotano, enflurano, isoflurano, sevoflurano e desflurano, dato che questi sono spesso somministrati in combinazione con il protossido d'azoto stesso. Le perdite possono verificarsi in diverse situazioni: la cattiva connessione di connettori, tubi e valvole; la fuoriuscita di anestetici inalatori durante il collegamento e lo scollegamento del sistema; la perdita lenta dal margine della maschera del paziente o dall'accoppiamento endotracheale durante l'anestesia pediatrica.²⁹

L'esposizione acuta (a breve termine) ad alte concentrazioni di WAG è associata a effetti negativi sulla salute, esiti come cefalea, affaticamento, sonnolenza e difficoltà di giudizio e di coordinamento. D'altro canto, l'esposizione cronica (a lungo termine) ai WAG può provocare effetti riproduttivi e di sviluppo, come aborto spontaneo, difetti alla nascita, infertilità; genotossicità, nonché ematotossicità, epatotossicità e nefrotossicità.^{30 43}

I fattori che più direttamente influenzano la presenza di gas anestetici di scarto nell'ambiente della sala operatoria sono differenti.

➤ ***Metodo di anestesia***

La prima questione da considerare è il metodo di anestesia, ad esempio se il paziente è intubato o meno e il tipo di maschera facciale utilizzata. Negli interventi di chirurgia odontoiatrica, laringea o di altro tipo in cui l'intubazione è preclusa, l'aria espirata dal paziente sarebbe un'importante fonte di emissione di gas di scarto, a meno che non venga posizionata un'apparecchiatura specificamente progettata per trattenere queste espirazioni vicino alla zona di respirazione del paziente.

➤ ***Vicinanza al punto di emissione***

Come di consueto nell'igiene industriale, quando esiste un punto di emissione noto di un contaminante, la vicinanza alla fonte è il primo fattore da considerare quando si tratta di esposizione personale. In questo caso, gli anestesisti e i loro assistenti sono le persone più direttamente interessate dall'emissione di gas anestetici di scarto, e sono state misurate concentrazioni personali dell'ordine di due volte i livelli medi riscontrati nell'aria delle sale operatorie.³¹

➤ ***La concentrazione dei gas anestetici***

Un altro fattore da tenere in considerazione è la concentrazione degli anestetici utilizzati poiché, ovviamente, tali concentrazioni e le quantità presenti nell'aria della sala operatoria sono direttamente correlate. Questo fattore è particolarmente importante quando si tratta di interventi chirurgici di lunga durata.³¹

➤ ***Tipo di interventi chirurgici***

La durata degli interventi, il tempo trascorso tra gli interventi effettuati nella stessa sala operatoria e le caratteristiche specifiche di ciascun intervento, che spesso determinano gli anestetici da utilizzare, sono altri fattori da considerare. La durata dell'intervento influisce direttamente sulla concentrazione residua di anestetici nell'aria.

Nelle sale operatorie in cui le procedure sono programmate in successione, anche il tempo trascorso tra di esse influisce sulla presenza di gas residui. Studi condotti in grandi ospedali

con un uso ininterrotto delle sale operatorie o con sale operatorie di emergenza che vengono utilizzate oltre gli orari di lavoro standard, o in sale operatorie utilizzate per procedure prolungate (trapianti, laringotomie), mostrano che livelli sostanziali di gas di scarto vengono rilevati già prima della prima procedura della giornata. Ciò contribuisce ad aumentare i livelli di gas di scarto nelle procedure successive. D'altra parte, ci sono procedure che richiedono interruzioni temporanee dell'anestesia per inalazione (quando è necessaria la circolazione extracorporea, per esempio), e questo interrompe anche l'emissione di gas anestetici di scarto nell'ambiente.³¹

➤ *Caratteristiche specifiche della sala operatoria*

Studi condotti in sale operatorie di diverse dimensioni, design e ventilazione hanno dimostrato che queste caratteristiche influenzano notevolmente la concentrazione di gas anestetici di scarto nella sala. Le sale operatorie di grandi dimensioni e non suddivise tendono ad avere le concentrazioni più basse di gas anestetici di scarto, mentre nelle sale operatorie di piccole dimensioni (ad esempio, quelle pediatriche) le concentrazioni misurate di gas di scarto sono solitamente più elevate. Il sistema di ventilazione generale della sala operatoria e il suo corretto funzionamento sono un fattore fondamentale per la riduzione della concentrazione degli anestetici di scarto; anche la progettazione del sistema di ventilazione influisce sulla circolazione dei gas di scarto all'interno della sala operatoria e sulle concentrazioni in diversi punti e a diverse altezze, cosa che può essere facilmente verificata con un attento prelievo di campioni.³²

➤ *Caratteristiche specifiche delle apparecchiature per l'anestesia*

L'emissione di gas nell'ambiente della sala operatoria dipende direttamente dalle caratteristiche dell'apparecchiatura di anestesia utilizzata. La progettazione dell'impianto, l'eventuale presenza di un sistema di ritorno dei gas in eccesso, la possibilità di collegarlo al vuoto o di sfiatarlo all'esterno della sala operatoria, la presenza di perdite, di linee scollegate e così via sono sempre da prendere in considerazione per determinare la presenza di gas anestetici di scarto in sala operatoria.

➤ ***Fattori specifici dell'anestesista e della sua équipe***

L'anestesista e la sua équipe sono l'ultimo elemento da considerare, ma non necessariamente il meno importante. La conoscenza dell'apparecchiatura, dei suoi potenziali problemi e del livello di manutenzione che riceve (sia da parte dell'équipe che del personale di manutenzione dell'ospedale) sono fattori che influiscono in modo molto diretto sull'emissione di gas di scarico nell'aria della sala operatoria.³³ È stato chiaramente dimostrato che, anche utilizzando tecnologie adeguate, la riduzione delle concentrazioni ambientali di gas anestetici non può essere raggiunta se manca una filosofia preventiva nelle routine di lavoro degli anestesisti e dei loro assistenti.³⁴

Misure preventive

Le azioni preventive di base necessarie per ridurre efficacemente l'esposizione professionale ai gas anestetici di scarto possono essere riassunte nei sei punti seguenti:

Innanzitutto i gas anestetici devono essere considerati come *rischi professionali*. Anche se da un punto di vista scientifico gli effetti avversi sulla salute delle persone esposte professionalmente siano ancora un oggetto di studio, è molto probabile che alcuni degli effetti qui menzionati siano direttamente correlati all'esposizione ai gas anestetici di scarto, per questo motivo è bene considerarli rischi professionali tossici.

Per i gas di scarto è necessario utilizzare *sistemi di depurazione*. I sistemi di evacuazione sono l'hardware tecnico più efficace per la riduzione dei gas di scarto nell'aria della sala operatoria.³⁵

Questi sistemi devono soddisfare *due principi fondamentali*: devono immagazzinare, essere in grado eliminare contemporaneamente in maniera adeguata l'intero volume di aria espirata dal paziente e devono essere progettati in modo da garantire che né la respirazione del paziente né il corretto funzionamento dell'apparecchiatura per l'anestesia siano compromessi, con dispositivi di sicurezza separati per ciascuna funzione.

Le tecniche più comunemente impiegate sono: un collegamento diretto ad un'uscita del vuoto con una camera di regolazione flessibile che consente l'emissione discontinua dei gas del ciclo respiratorio; dirigere il flusso dei gas espirati dal paziente verso il vuoto senza un collegamento diretto; dirigere il flusso dei gas provenienti dal paziente verso il ritorno del sistema di ventilazione installato in sala operatoria ed espellere tali gas dalla sala operatoria e dall'edificio. Tutti questi sistemi sono tecnicamente facili da implementare e molto efficienti dal punto di vista dei costi; si raccomanda l'uso di respiratori installati come parte del progetto. Nei casi in cui i sistemi che eliminano direttamente i gas di scarico non possono essere utilizzati a causa delle caratteristiche particolari di una procedura, si può ricorrere a un'aspirazione localizzata vicino alla fonte di emissione, purché non influisca sul sistema di ventilazione generale o sulla pressione positiva della sala operatoria.

Deve essere garantita una *ventilazione generale* con un minimo di 15 ricambi/ora in sala operatoria, essa deve essere perfettamente regolata. Non solo deve mantenere una pressione positiva e rispondere alle caratteristiche termoigrometriche dell'aria ambiente, ma deve anche fornire un minimo di 15-18 ricambi all'ora. Inoltre, deve essere prevista una procedura di monitoraggio per garantirne il corretto funzionamento.

La *manutenzione preventiva* del circuito di anestesia deve essere pianificata e regolare. È necessario stabilire procedure di manutenzione preventiva che includano ispezioni regolari dei respiratori; la verifica dell'assenza di emissione di gas nell'aria ambiente deve far parte del protocollo seguito alla prima accensione dell'apparecchiatura e il suo corretto funzionamento deve essere controllato per quanto riguarda la sicurezza del paziente. Il corretto funzionamento del circuito di anestesia deve essere verificato attraverso il controllo delle perdite, la sostituzione periodica dei filtri e il controllo delle valvole di sicurezza.

È necessario utilizzare *controlli ambientali e biologici*, le cui attuazioni forniscono informazioni non solo sul corretto funzionamento dei vari elementi tecnici (estrazione dei gas, ventilazione generale), ma anche sull'adeguatezza delle procedure di lavoro per contenere l'emissione di gas di scarico nell'aria. Oggi questi controlli non presentano problemi tecnici e possono essere attuati in modo economico, per questo sono raccomandati.

L'istruzione e la formazione del personale esposto sono fondamentali. Per ottenere un'efficace riduzione dell'esposizione professionale ai gas anestetici di scarto è necessario educare tutto il personale di sala operatoria sui rischi potenziali e addestrarlo alle procedure necessarie. Questo vale in particolare per gli anestesisti e i loro assistenti, che sono i più direttamente coinvolti, e per i responsabili della manutenzione delle apparecchiature di anestesia e condizionamento.²⁸

Il rischio occupazionale

➤ *Categorie lavorative*

Le categorie lavorative a rischio di esposizione ai gas anestetici di scarto sono differenti.

In primis si riscontrano gli anestesisti, ma oltre ad essi anche i chirurghi, gli infermieri, i tecnici ed in generale tutto il personale di sala operatoria.

È più probabile che i lavoratori siano esposti ai gas anestetici di scarto nelle strutture operative prive di sistemi di ventilazione automatica o di aspirazione, nelle strutture operative in cui questi sistemi sono in cattive condizioni, oppure in sale di rianimazione in cui i gas espirati dai pazienti in fase di recupero non sono adeguatamente ventilati o aspirati.

Anche quando i sistemi di aspirazione e ventilazione sono in funzione, i lavoratori possono essere esposti a questi gas nelle seguenti condizioni: nel caso in cui si verificano perdite nel circuito respiratorio dell'anestesia (che può perdere gas se i connettori, i tubi e le valvole non vengono mantenuti e collegati saldamente); in quei casi in cui i gas anestetici fuoriescono durante il collegamento e lo scollegamento del sistema; quando il gas anestetico fuoriesce dal margine della maschera del paziente o dall'accoppiamento endotracheale.²⁷

➤ **Tossicologia occupazionale**

La tossicologia è una scienza che studia l'interazione tra i differenti sistemi biologici e gli agenti chimici con lo scopo di determinare i possibili effetti nocivi sugli organismi viventi e quindi di predisporre interventi adeguati al fine di prevenzione e cura dei danni.

La *tossicologia occupazionale* esamina l'esposizione della popolazione lavorativa agli agenti chimici, analizzando, tramite il dosaggio diretto dello xenobiotico o dei suoi metaboliti nelle differenti matrici biologiche come sangue o urina, la quantità di xenobiotico stesso penetrata nell'organismo. La *dose assorbita* si definisce come la quantità totale della sostanza assorbita, mentre la *dose efficace* si definisce come la quantità di sostanza che raggiunge un certo sistema biologico dove esercita un effetto avverso.³⁶

I risultati delle indagini tossicologiche sono importanti per monitorare i biomarcatori al fine di identificare eventuali esposizioni e per verificare il rispetto dei limiti di esposizione professionale a tutela della salute dei lavoratori. La tossicologia occupazionale utilizza metodi comuni ad altre forme di tossicologia. La sperimentazione animale viene utilizzata per identificare gli effetti avversi e stabilire i livelli di esposizione accettabili, oltre che per studiare il meccanismo d'azione e la relazione dose-risposta. Esistono diverse alternative in vitro alla sperimentazione animale in alcuni casi specifici, come la previsione dei sensibilizzatori cutanei e del potenziale di lesioni oculari, nonché modelli quantitativi di relazione struttura-attività. Talvolta, nei casi in cui il rischio per i volontari è trascurabile, vengono eseguiti studi controllati di sperimentazione sull'uomo, utilizzati per verificare se i risultati degli studi sugli animali sono applicabili all'uomo.³⁷

➤ **Tossicità**

I vantaggi dei moderni anestetici alogenati per via inalatoria comunemente utilizzati, come il sevoflurano, il desflurano e l'isoflurano, comprendono la potenza, la rapida induzione e il recupero dell'anestetico, i bassi tassi di metabolismo e la bassa solubilità nel sangue e nel grasso.³⁸ Tuttavia gli anestetici alogenati inalatori vengono degradati in prodotti potenzialmente tossici che possono essere collegati ad eventuali epatotossicità.³⁹ Le anomalie biochimiche epatiche sono caratterizzate da un aumento transitorio degli enzimi, come *l'alanina-aminotransferasi* (ALT), *l'aspartato amino-transferasi* (AST), la *gammaglutamiltransferasi* (GGT) e la *fosfatasi alcalina* (ALP), e dalla produzione di

proteina C-reattiva (CRP), che è un importante mediatore della risposta infiammatoria, poiché un suo aumento è correlato a quello della concentrazione di citochine. Un recente studio condotto su anestesisti, chirurghi, tecnici chirurgici e infermieri con una storia di almeno un anno di esposizione a protossido d'azoto, isoflurano e sevoflurano ha mostrato che, nonostante i livelli di ALT, AST e GGT fossero significativamente più alti nel gruppo esposto rispetto al gruppo di controllo, tutti i valori medi rientravano nell'intervallo di normalità.⁴⁰

Il ruolo degli *enzimi microsomiali* epatici ha ricevuto particolare attenzione nel tentativo di chiarire il meccanismo coinvolto nell'epatotossicità degli anestetici.

L'induzione di questi enzimi (citocromo P-450, citocromo b5, NADPH, citocromo c reduttasi, proteine microsomiali e biotrasformazione di diversi farmaci) è stata riportata in seguito all'inalazione di anestetici nei ratti. Negli animali, l'esposizione cronica all'alotano ha provocato un aumento delle dimensioni e un'alterazione grassa del fegato, nonché un aumento del contenuto del citocromo P-450 microsomiale epatico. Non sono stati osservati cambiamenti quando sono stati somministrati enflurano o isoflurano.⁴¹

In un ulteriore studio è stata evidenziata una crescita significativa delle concentrazioni sieriche di ALT, AST, ALP, GGT per tutti i gruppi esposti ai gas anestetici inalatori, rispetto al gruppo controllo non esposto. Nei gruppi esposti è stata osservata inoltre una significativa diminuzione dei livelli di *proteine sieriche totali* e di *albumina sierica* rispetto al gruppo di controllo. La patogenesi della tossicità epatica, correlata agli anestetici inalatori, comprende la riduzione del flusso sanguigno epatico e la produzione di metaboliti tossici. Come conseguenza della riduzione del flusso sanguigno epatico e dell'ossigenazione, la funzione epatica risulta alterata.^{42 30}

Il *citocromo P-450 2E1 (CYP2E1)* ha un ruolo cruciale, poiché la gravità dell'epatotossicità è associata al grado di metabolismo epatico di questo citocromo.⁴³ Tutti gli anestetici inalatori alogenati sono associati a lesioni epatiche; alotano, enflurano, isoflurano e desflurano vengono metabolizzati attraverso la via metabolica che coinvolge questo citocromo, subendo così una biotrasformazione che comporta la formazione di alcuni metaboliti immunogeni.⁴⁴

La *nefrotossicità* è stata inoltre valutata in uno studio dove sono state trovate associazioni positive statisticamente significative tra l'esposizione ai WAG e alterazioni del profilo

renale. I valori medi di KIM- 1 (kidney injury molecule-1), creatinina e calcio nel gruppo esposto erano significativamente più alti di quelli dei soggetti non esposti. Si riporta un'alta frequenza di malattie renali come risultato dell'esposizione professionale cronica ai gas anestetici tra il personale di sala operatoria e che quindi l'esposizione professionale a basse concentrazioni di gas anestetici potrebbe influenzare i parametri renali nel personale sanitario esposto.^{45 46}

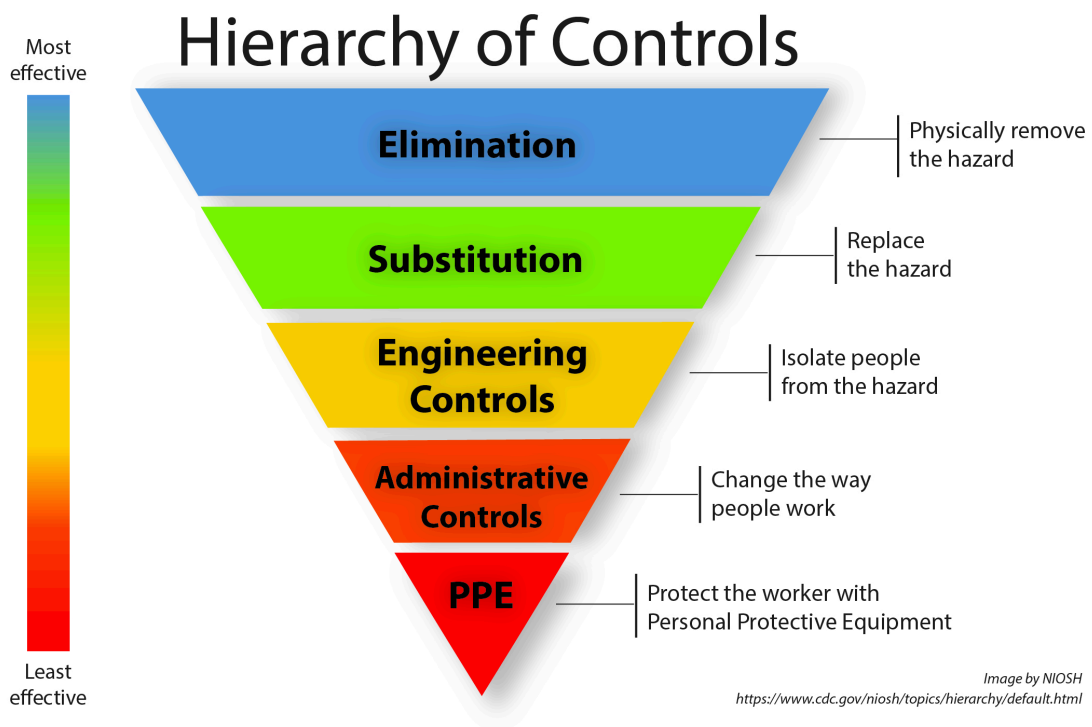
La *creatinina sierica* e la *BUN* sono due indicatori utili per valutare la funzione renale. Tuttavia, il loro utilizzo come biomarcatori sensibili e specifici per la diagnosi precoce delle lesioni renali presenta numerose limitazioni. In primo luogo, molti fattori non renali come età, genere, razza, peso corporeo, dieta e consumo di farmaci possono influenzare il livello di creatinina sierica. In secondo luogo, il tasso di produzione di urea non è stabile e aumenta con il consumo di diete ricche di proteine o in situazioni come emorragie, traumi muscolari e/o somministrazione di steroidi.⁴⁷

In particolare, sempre nel contesto della nefrotossicità, due prodotti di degradazione del sevoflurano sono stati citati come potenziali nefrotossine: lo *ione fluoruro*, prodotto dalla biotrasformazione del sevoflurano e il *composto A* prodotto dall'interazione del sevoflurano con l'assorbente di anidride carbonica nel circuito di anestesia. Gli ioni fluoruro sono prodotti dalla defluorurazione ossidativa del sevoflurano da parte del sistema del citocromo P450 nel fegato. Fino a poco tempo fa, si riteneva che il fluoruro inorganico fosse l'agente eziologico responsabile della nefrotossicità degli anestetici fluorurati, con un valore di concentrazione tossica di 50 µmol/L nel siero. Tuttavia, gli studi sulla somministrazione di sevoflurano negli animali e nell'uomo non hanno mostrato prove di nefrotossicità indotta da fluoruri, nonostante le concentrazioni sieriche di fluoruri inferiori.

Il meccanismo della tossicità renale del composto A invece è controverso e il dibattito si concentra sul ruolo della via della cisteina coniugata β-liasi renale nella biotrasformazione.²⁰

La gerarchia dei controlli

Il controllo dell'esposizione a qualsiasi agente potenzialmente pericoloso sul luogo di lavoro è essenziale per la protezione dei lavoratori. La gerarchia dei controlli è un sistema per determinare le modalità più consone a controllare le esposizioni e prevede cinque livelli di procedure differenti per eliminare o ridurre i pericoli. In ordine, in base all'efficacia generale, si hanno: *eliminazione*, *sostituzione*, *controlli tecnici*, *controlli amministrativi*, *dispositivi di protezione individuale (DPI)*.



L'*eliminazione* si esplica nel rimuovere il pericolo alla fonte, includendo anche la modifica del processo di lavoro per interrompere l'utilizzo di una certa sostanza tossica o di uno strumento affilato; viene ritenuta un'ottima modalità per proteggere i lavoratori, perché non può verificarsi alcuna esposizione.

La *sostituzione* consiste nell'utilizzare un'alternativa più sicura alla fonte del pericolo. In questo caso è opportuno, preso in considerazione un sostituto, confrontarne i nuovi

potenziali pericoli con quelli originari. Un sostituto viene definito efficace se riduce i potenziali effetti nocivi senza creare ulteriori rischi.

I *controlli tecnici* riducono o impediscono che i pericoli entrino in contatto con i lavoratori, possono comprendere la modifica delle attrezzature o dello spazio di lavoro, l'uso di barriere protettive, la ventilazione e altro ancora. I più efficaci fanno parte del progetto originale dell'apparecchiatura, rimuovono o bloccano il pericolo alla fonte prima che entri in contatto con il lavoratore impediscono agli utenti di modificare o interferire con il controllo, necessitano di un input minimo da parte dell'utente per funzionare correttamente senza interferire con il processo di lavoro o renderlo più difficile. I controlli ingegneristici possono avere un costo iniziale maggiore rispetto ai controlli amministrativi o ai DPI, tuttavia i costi operativi a lungo termine tendono a essere inferiori, soprattutto quando si tratta di proteggere più lavoratori. Inoltre, i controlli ingegneristici possono far risparmiare denaro in altre aree del processo lavorativo o del funzionamento della struttura.

I *controlli amministrativi* stabiliscono pratiche di lavoro che riducono la durata, la frequenza o l'intensità dell'esposizione ai pericoli. Possono includere: formazione sul processo di lavoro, la rotazione dei lavori, garantire adeguate pause di riposo, limitare l'accesso alle aree o ai macchinari pericolosi, regolazione della velocità della linea.

I *DPI* sono attrezzature indossate per ridurre al minimo l'esposizione ai pericoli, come ad esempio guanti, occhiali di sicurezza, protezioni per l'udito, elmetti e respiratori. Quando i dipendenti utilizzano i DPI, i datori di lavoro devono implementare un programma DPI che deve riguardare: valutazione dei rischi sul luogo di lavoro, selezione e utilizzo dei DPI, ispezione e sostituzione dei DPI danneggiati o usurati.⁴⁸

La Sorveglianza Sanitaria

Nell'articolo 41 del Decreto legislativo n°81 del 09/04/08 si tratta della Sorveglianza Sanitaria. Questa, effettuata dal medico competente, comprende:

- una visita medica preventiva con lo scopo di constatare l'assenza di qualsiasi controindicazione alla mansione cui il lavoratore è destinato per valutarne la sua idoneità alla mansione specifica;
- una visita medica periodica per monitorare le condizioni di salute dei lavoratori al fine di giudicarne l'idoneità alla mansione specifica. Tali accertamenti vengono eseguiti di norma una volta l'anno, ma la periodicità può essere stabilita diversamente dal medico competente a seconda della valutazione del rischio;
- una visita medica su richiesta del lavoratore, qualora il medico competente la ritenga essere correlata ai rischi professionali o al suo stato di salute, suscettibile di aggravamento a causa dell'attività lavorativa svolta;
- una visita medica in occasione del cambio della mansione, al fine di valutare l'idoneità alla mansione specifica;
- una visita medica al momento della cessazione del rapporto di lavoro nei casi previsti.

Una visita medica comprende gli esami clinici, biologici ed indagini diagnostiche, mirati al rischio occupazionale, che vengono ritenuti necessari dal medico competente, il quale in seguito esprime, relativo alla mansione specifica, un giudizio di *idoneità*, di *idoneità parziale* (temporanea o permanente, con prescrizioni o limitazioni), di *inidoneità temporanea*, o infine di *inidoneità permanente*.⁴⁹

Lo scopo della sorveglianza sanitaria, oltre il valutare l'idoneità specifica alla mansione, l'efficacia delle misure di prevenzione nel luogo di lavoro ed implementare misure e comportamenti lavorativi corretti, è quello di riscontrare precocemente anomalie cliniche o precliniche (diagnosi precoce) e prevenire potenziali peggioramenti della salute del lavoratore (prevenzione secondaria). La periodicità della sorveglianza quindi viene stabilita in base al tipo di rischio a cui è esposto il lavoratore, con il fine di evidenziare effetti precoci nocivi sulla salute.⁵⁰

Approccio metodologico per analisi di dati longitudinali di sorveglianza sanitaria

Nei decenni precedenti, gli studi clinici randomizzati sono stati la principale metodologia sperimentale utilizzata per raccogliere dati clinici. Raccolti all'interno di un quadro rigoroso, l'analisi dei dati degli studi clinici randomizzati viene utilizzata per rispondere a domande specifiche relative a una popolazione specifica (ovvero la popolazione selezionata per lo studio). Ciò rimane vero a condizione che le analisi siano eseguite in modo rigoroso, tenendo conto di tutte le ipotesi e i metodi richiesti (ad esempio, definizione di un campione rappresentativo della popolazione, randomizzazione, test controllati, applicazione di modelli appropriati ai dati). Tuttavia, i progressi della tecnologia, la democratizzazione degli strumenti informatici come computer e smartphone e l'aumento delle capacità di archiviazione dei dati offrono ai ricercatori nuove possibilità di raccogliere grandi quantità di dati sulla salute da analizzare.⁵⁷

Uno *studio longitudinale* è uno studio che analizza dati ripetuti, cioè in cui gli stessi dati sono stati misurati o raccolti su un individuo più volte nel tempo.⁵⁸ A differenza degli studi trasversali, gli effetti di coorte e gli effetti legati al tempo possono essere misurati separatamente. L'obiettivo principale di uno studio longitudinale è descrivere i cambiamenti nel tempo e misurare l'influenza individuale delle variabili per spiegare i cambiamenti osservati.⁵⁹ I dati longitudinali possono anche facilitare il cambiamento nel tempo quando si studiano particolari individui, per i quali ad esempio è possibile misurare i fattori di rischio nello sviluppo di malattie.^{60 74} Tuttavia l'analisi dei dati longitudinali è resa difficile da molte sfide e problemi metodologici, come la struttura correlata dei dati intra-individuali, le notevoli dimensioni degli insiemi di dati, le misurazioni irregolari nel tempo, i modelli non lineari (come la crescita rapida o le risposte stazionarie), i costrutti latenti e la combinazione di covariate statiche e variabili nel tempo. Ci sono anche problemi ancora più complesso da considerare, come i *dati correlati a cluster*, i *dati mancanti* e la stessa *modellazione longitudinale*.⁶¹

➤ ***Dati correlati a cluster***

I dati correlati a cluster si verificano quando all'interno della popolazione esistono gruppi preesistenti di individui che consentono una classificazione naturale dei soggetti in gruppi, altrimenti noti come cluster. Pertanto, le osservazioni dello stesso cluster sono correlate tra

loro, mentre le osservazioni tra i diversi cluster non sono correlate. Questa struttura richiede di considerare due possibili fonti di variabilità, ovvero la variabilità intra- e inter-cluster. Queste somiglianze nei dati possono tuttavia portare a una perdita di efficienza statistica e di integrità dei modelli utilizzati, rendendo necessario un aumento della dimensione del campione.⁶² È quindi necessario trovare un equilibrio adeguato tra il numero di cluster e il numero di pazienti.

L'analisi dei dati correlati ai cluster cerca di tenere conto della variabilità associata a ciascun livello della struttura e deve essere interpretata separatamente dalla variabilità complessiva.⁶³ Infatti, un'errata specificazione dell'effetto cluster o un'interpretazione poco attenta dei parametri del modello possono portare a risultati errati.⁶⁴ Per questo motivo, in letteratura sono stati progettati *modelli multilivello* (MLM), simili ai *modelli misti*, per affrontare questi problemi e analizzare dati con cluster correlati.⁶⁵

➤ ***Dati mancanti***

Il fenomeno dei dati mancanti è un problema comune nell'analisi dei dati, soprattutto nelle indagini longitudinali. È raro che un set di dati sia completo, in particolare per gli studi di lunga durata, a causa di omissioni occasionali o del ritiro dei soggetti. Di conseguenza, la mancanza di dati causa tre problemi principali: può introdurre una quantità significativa di bias, rendere più difficile l'elaborazione e l'analisi dei dati e indurre una perdita di potenza statistica.⁶⁶ In presenza di dati mancanti, i metodi più comunemente utilizzati includono l'analisi dei casi completi (o la cancellazione della lista) e il metodo dell'ultima osservazione riportata. Tuttavia, questi metodi sono troppo rischiosi e possono introdurre un bias significativo nella stima del parametro in esame.⁶⁷ Dopo aver identificato la struttura dei dati mancanti, è necessario occuparsi dell'identificazione del loro tipo. Anche in questo caso consideriamo tre tipi diversi: dati mancanti completamente a caso (MCAR), mancanti a caso (MAR) e mancanti non a caso (MNAR).⁶⁸

➤ ***Dati longitudinali e modellazione***

I modelli di dati ripetuti sono stati oggetto di molti anni di ricerca e sviluppo. Oggi la letteratura sull'argomento è consistente e molti di questi modelli sono stati utilizzati in

indagini longitudinali. Tra i modelli più utilizzati per l'analisi dei dati longitudinali, i più usati sono i modelli di varianza, sia *univariati* (ANOVA) che *multivariati* (MANOVA), i modelli a effetti casuali come i modelli *misti* o i modelli *lineari generalizzati* (GLM) che utilizzano equazioni di stima generalizzate. Tuttavia, altri modelli, come i modelli a traiettoria o le alternative ai modelli lineari e misti, come i modelli a *equazioni strutturali* (SEM) o i modelli *panel "cross-lagged"* (CLPM), sono apparsi in letteratura e costituiscono alternative promettenti per l'analisi dei dati longitudinali.⁶⁹

➤ **Modelli misti**

I modelli misti possono essere considerati un'estensione naturale dei modelli di regressione.⁷⁰ A differenza di questi ultimi, prevedono effetti casuali specifici per ogni individuo. La media e la varianza della risposta sono rispettivamente modellate come una combinazione lineare di componenti a effetto fisso e a effetto casuale, dove l'impatto dei fattori è ponderato e associato ai coefficienti del modello.⁷¹ A differenza dei modelli di analisi della varianza, sia i modelli marginali che quelli misti sono incondizionati. Questa caratteristica consente di modellare la variabile di risposta in funzione delle covariate e del tempo, rappresentando separatamente gli effetti sia all'interno del soggetto che tra i soggetti. Inoltre, sono particolarmente efficaci per fare previsioni individuali, anche in presenza di eventuali dati mancanti, perché le stime casuali mancanti sono imparziali. Più in generale, i modelli *misti lineari generalizzati* combinano le specificità dei modelli lineari generalizzati (GLM) e dei modelli misti, consentendo di generalizzare il tipo di variabile spiegata. Questa modifica costruttiva è ideale per l'analisi di strutture di dati longitudinali, poiché consente di tenere conto della correlazione intra-soggetto attraverso effetti casuali.^{72 73}

Obiettivi

Gli obiettivi di questo studio prevedono l'utilizzo dei dati di sorveglianza sanitaria nella popolazione esposta ai gas anestetici di scarto, in particolare negli specialisti in anestesia, dell'Ospedale Policlinico San Martino IRCSS di Genova al fine di poter valutare eventuali effetti precoci sul profilo epatico e renale in questa popolazione. I dati raccolti di sorveglianza sanitaria includono: Genere (Età; Anni di esposizione pre-coorte; Altezza; Sierologia+ HBV/HCV; Peso; AUDIT-C; Assunzione di farmaci epatotossici e/o nefrotossici; Urea; Creatinina; eGFR; ALT; GGT.

CAPITOLO SPERIMENTALE

Materiali e Metodi

È stato condotto uno studio osservazionale, con un disegno longitudinale retrospettivo con misure ripetute sulla stessa persona in tempi diversi, utilizzando i dati della sorveglianza sanitaria raccolti tra il 2016-2022. Questi dati sono raccolti nell'ambito dei programmi di sorveglianza sanitaria svolti dal Servizio di Medicina del Lavoro dell'Università di Genova e dell'Ospedale Policlinico San Martino, in conformità al Decreto Legislativo 81/2008.

L'obiettivo primario di uno studio longitudinale è la valutazione dei cambiamenti di una variabile di risposta nel tempo e dei fattori che la influenzano. Negli studi longitudinali esistono due importanti gruppi di cambiamenti: uno è rappresentato dai cambiamenti di un individuo nel tempo e l'altro dalle variazioni tra individui. Negli studi longitudinali, i dati hanno una struttura gerarchica a due livelli. Le misurazioni ripetute costituiscono le unità di primo livello, mentre gli individui costituiscono le unità di secondo livello. In questo caso, le osservazioni non sono indipendenti, pertanto è necessario utilizzare modelli appropriati che tengano conto delle dipendenze tra le osservazioni. Uno dei metodi statistici più utilizzati per dedurre le misure ripetute è l'analisi multivariata a modelli misti dei dati longitudinali. Questi modelli considerano gli effetti casuali nella modellazione, modellano i cambiamenti individuali e forniscono risultati più accurati. Sono chiamati modelli misti perché sono una combinazione di effetti casuali ed effetti fissi in un unico modello.

La formula generale di un modello misto è

$$y_i = X_i\beta + Z_i b_i + \epsilon_i$$

$$b_i \sim N_q(0, \Psi)$$

$$\epsilon_i \sim N_{n_i}(0, \sigma^2 \Lambda_i)$$

dove y_i è il vettore $n_i \times 1$ delle risposte per le osservazioni nel gruppo i , X_i è la matrice $n_i \times p$ del modello per gli effetti fissi per le osservazioni nel gruppo i , β è il vettore $p \times 1$ dei coefficienti dell'effetto fisso, Z_i è la matrice $n_i \times q$ del modello per gli effetti casuali per le osservazioni nel gruppo i , b_i è il vettore $q \times 1$ dei coefficienti degli effetti casuali per il gruppo

ϵ_i è il vettore $n_i \times 1$ degli errori per le osservazioni nel gruppo i , Ψ è la matrice di covarianza $q \times q$ per gli effetti casuali, $\sigma^2 \Lambda_i$ è la matrice di covarianza $n_i \times n_i$ per gli errori nel gruppo i . La popolazione dello studio era costituita da medici e chirurghi impiegati presso l'Ospedale Policlinico San Martino IRCCS di Genova, l'ospedale di riferimento regionale terziario per acuti per adulti con un organico complessivo di oltre 1000 medici. In questo ospedale, desflurano e sevoflurano sono attualmente utilizzati nelle procedure anestetiche che richiedono gas inalatori. In assenza di misurazioni precise delle esposizioni ai gas anestetici tra i diversi gruppi di lavoro, che sarebbero necessarie per creare livelli diversi, per valutare i potenziali effetti sulla salute dei gas anestetici di scarto, abbiamo campionato due coorti di lavoratori, una composta solo da specialisti e specializzandi in anesthesiologia, l'altra composta solo da medici non esposti a rischi chimici. Al fine di ridurre i fattori confondenti, due coorti equamente distribuite per genere ed età sono state selezionate in modo casuale. Per essere inclusi nello studio, i lavoratori dovevano essere privi di condizioni di salute acute e di malattie croniche epatiche o renali note e dovevano essere stati visitati almeno due volte nel periodo di interesse.

Fig. Distribuzione per genere non significativamente differente, tra esposti e non esposti.

Test campioni indipendenti										
		Test di Levene per l'eguaglianza delle varianze		Test t per l'eguaglianza delle medie						
		F	Sign.	t	gl	Sign. (a due code)	Differenza della media	Differenza errore standard	Intervallo di confidenza della differenza di 95%	
									Inferiore	Superiore
Genere (F=1)	Varianze uguali presunte	3,568	,061	1,082	168	,281	,082	,076	-,068	,233
	Varianze uguali non presunte			1,082	167,904	,281	,082	,076	-,068	,233

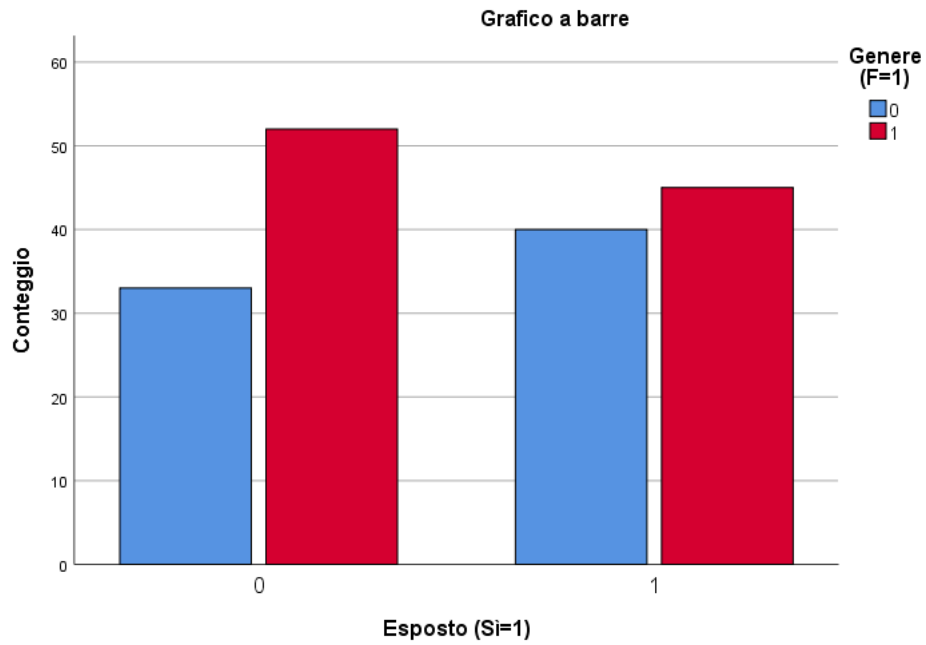
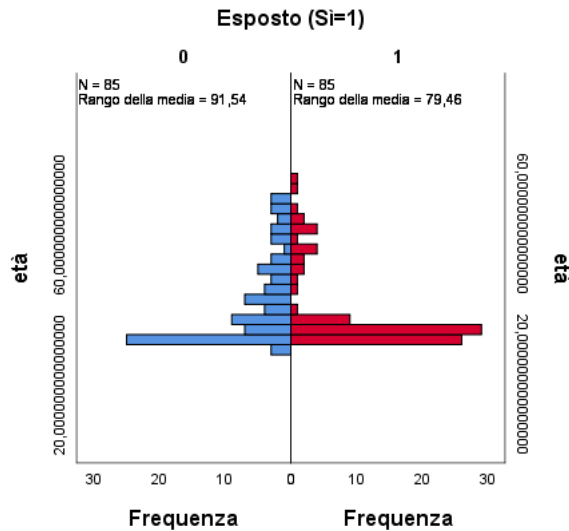


Fig. Distribuzione per età non significativamente differente, tra esposti e non esposti.

**Riepilogo test U di Mann-Whitney a
campioni indipendenti**

Numero totale di casi	170
U di Mann-Whitney	3099,500
W di Wilcoxon	6754,500
Statistica del test	3099,500
Errore standard	320,868
Statistica del test standardizzato	-1,599
Sign. asintotica (test a 2 vie)	,110

Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti



Le seguenti informazioni sono state estratte dalle cartelle sanitarie elettroniche in un set di dati:

Genere, età, anni di esperienza lavorativa e, per ogni visita ripetuta, indice di massa corporea (BMI), punteggio dell'Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT), uso di farmaci epatotossici (Drug Induced Liver Injury Rank (DILIRank) Dataset, FDA), uso di farmaci nefrotossici (ACE inibitori, antagonisti del recettore dell'angiotensina II, farmaci antinfiammatori non steroidei, tiazidici), urea plasmatica [mg/dL], creatinina plasmatica [mg/dL], velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) [mL/min/1,73m²], alanina transaminasi (ALT) [U/L] e gamma-glutamyl transferasi (GGT) [U/L].

Dopo aver esaminato le cartelle cliniche e applicato i criteri di esclusione, 170 lavoratori sono stati indicati come idonei a partecipare all'analisi.

Le statistiche descrittive sono riportate come medie con deviazione standard (DS) per le variabili continue e come frequenze e percentuali per le variabili categoriche. Per tenere conto del carattere longitudinale dei dati, con misurazioni ripetute nel periodo di follow-up e correlazione intra-classe a livello dei singoli lavoratori, abbiamo analizzato le tendenze dei parametri di esito (ALT, GGT, Urea, Creatinina, eGFR) con modelli misti lineari. Per cogliere l'evoluzione individuale nel tempo, le misurazioni sono state numerate in base all'ordine e alla data di esecuzione, per tenere conto degli appuntamenti mancati. Le

misurazioni sono annidate all'interno degli individui, che rappresentano gli effetti casuali del modello misto. Poiché la modellazione multilivello non richiede dati bilanciati, la mancanza di alcune misurazioni in alcuni soggetti non rappresenta un problema. Questo modello può essere esteso per includere situazioni in cui i tempi e la distanza delle misurazioni differiscono tra i partecipanti.

L'adattamento del modello è stato eseguito in modo graduale e il modello più adatto è stato selezionato in base a criteri informativi. I modelli di base includevano i parametri di esito in funzione del tempo in modelli con intercettazioni casuali e pendenza fissa.

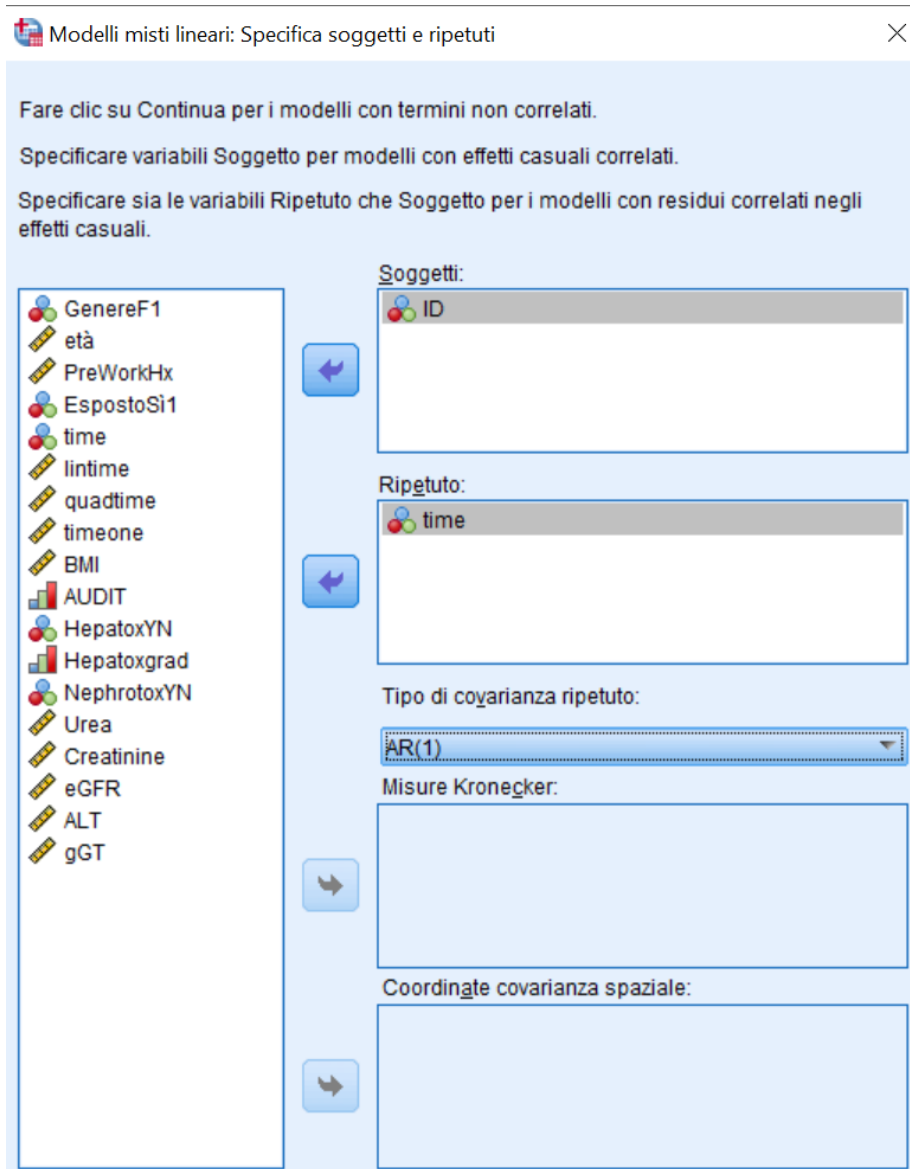
Il modello di pendenza casuale e il modello di intercetta casuale sono modelli di regressione multilivello. Nella nostra analisi, gli individui sono stati considerati come gruppi.

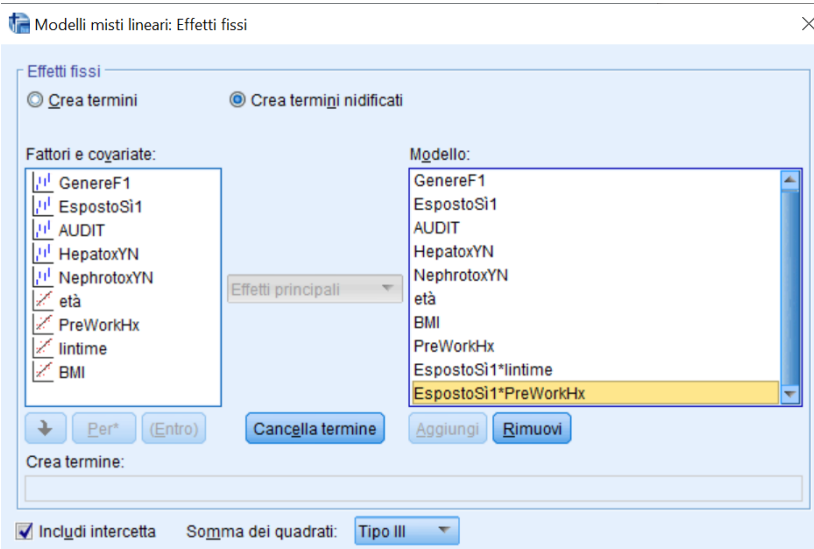
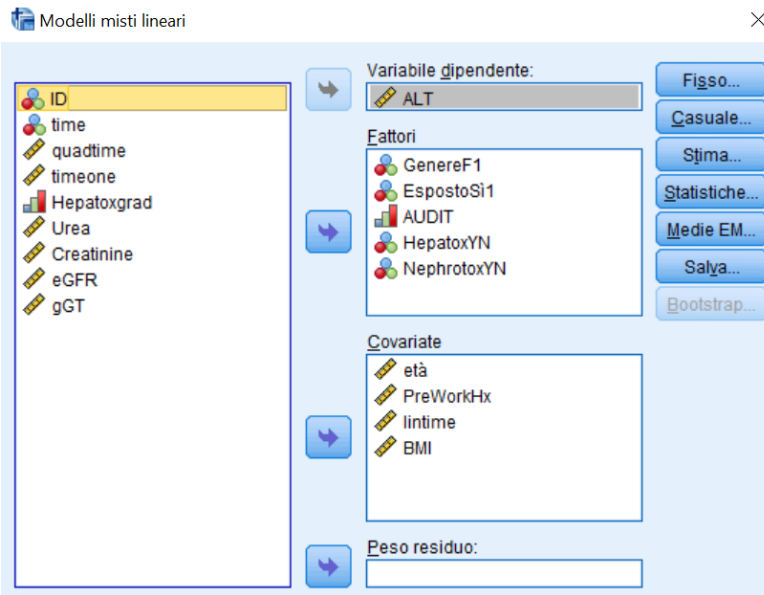
Il modello di intercetta casuale è un modello che prevede intercette casuali per gruppi diversi, che in questo caso equivalgono a persone diverse. In altre parole, in questo modello, invece di assumere che i profili epatici o renali di tutti i lavoratori siano in media gli stessi all'inizio e che le soglie aumentino con l'aumentare dell'esperienza lavorativa con la stessa pendenza (modello lineare), si è lasciato che persone diverse avessero profili diversi all'inizio con incrementi legati con l'aumentare dell'esperienza con una pendenza costante (ovvero, le differenze individuali sono state considerate nella visita medica iniziale, ma non sono state considerate per quanto riguarda l'aumento della soglia uditiva influenzata dall'esperienza lavorativa).

Il modello a pendenza casuale consente pendenze casuali della retta di regressione per gruppi diversi, equivalenti a persone diverse. In altre parole, anziché considerare il profilo epatico o renale medio causato dall'aumento dell'esperienza lavorativa come pendenza della retta di regressione per tutti gli individui, tiene conto delle differenze individuali nell'aumento dei marcatori influenzati dall'aumento dell'esperienza lavorativa. Si presume che tutti gli individui abbiano marcatori di funzionalità epatica e renale iniziali medi, tuttavia l'impatto dell'aumento dell'esperienza lavorativa è diverso nei profili dei vari individui. Pertanto, il modello migliore prevede profili di base diversi e pendenze della linea diverse per i diversi lavoratori, ed è definito dal modello delle pendenze e delle intercette casuali.

Abbiamo calcolato i valori di p a due code. Il livello di significatività statistica è stato fissato a $p < 0,05$. Tutti i calcoli sono stati eseguiti con IBM SPSS Statistics, Versione 26.0.

Fig. Definizione dei parametri utilizzati nel modello lineare misto tramite software SPSS
26.0.





Effetto casuale 1 di 1

Indietro Avanti

Tipo di covarianza: Non strutturato

Effetti casuali

Crea termini Crea termini nidificati Includi intercetta

Fattori e covariate:

- AUDIT
- HepatoxYN
- NephrotoxYN
- età
- PreWorkHx
- lintime
- BMI

Effetti principali

Modello:

lintime

Crea termine:

Raggruppamento di soggetti

Soggetti:

ID

Combinazioni:

ID

Visualizza previsioni parametro per questo insieme di casuali

Dimensione del modello^a

		Numero di livelli	Struttura della covarianza	Numero di parametri	Variabili soggetto	Numero di soggetti
Effetti fissi	Intercetta	1		1		
	EspostoSi1	2		1		
	GenereF1	2		1		
	BMI	1		1		
	età	1		1		
	AUDIT	6		5		
	HepatoxYN	2		1		
	NephrotoxYN	2		1		
	lintime	1		1		
	EspostoSi1 * PreWorkHx	2		2		
	EspostoSi1 * lintime	2		1		
Effetti casuali	Intercetta + lintime ^b	2	Non strutturato	3	ID	
Effetti ripetuti	time	5	Autoregressiv o primo ordine	2	ID	140
Totale		29		21		

a. Variabile dipendente: ALT.

b. A partire dalla versione 11.5, le regole di sintassi per il sottocomando RANDOM sono cambiate. La sintassi del comando potrebbe portare a risultati diversi da quelli prodotti dalle versioni precedenti. Se si utilizza la sintassi della versione 11, per ulteriori informazioni consultare la guida di riferimento per la sintassi corrente.

Criteri di informazione^a

Logaritmo della verosimiglianza limitata -2	2749,952
Criterio di informazione di Akaike (AIC)	2759,952
Criterio di Hurvich e Tsai (AICC)	2760,106
Criterio di Bozdogan (CAIC)	2784,859
Criterio bayesano di Schwarz (BIC)	2779,859

I criteri di informazione sono visualizzati in un formato che predilige le dimensioni più piccole.

a. Variabile dipendente: ALT.

Tutte le attività sono state svolte in conformità alla Dichiarazione di Helsinki e agli standard sanitari vigenti secondo le raccomandazioni del Ministero della Salute italiano. Tutti gli studenti inclusi nell'indagine hanno firmato un consenso informato scritto secondo le procedure sanitarie di routine del Programma di Sorveglianza Sanitaria dell' Ospedale Policlinico San Martino IRCCS di Genova. I dati personali di tutti i soggetti coinvolti nell'indagine sono stati protetti secondo la legge italiana.

Risultati

Un totale di N = 170 lavoratori ha partecipato ad almeno due visite mediche di sorveglianza sanitaria tra il 2016 e il 2022. Il numero medio di visite per lavoratore è risultato essere di 3,32; n = 18 lavoratori hanno effettuato 5 visite, n = 55 hanno effettuato 4 visite, n = 60 hanno effettuato 3 visite e, infine, n = 37 hanno effettuato 2 visite. Il follow-up medio è risultato essere di 2,89 anni. Tutte le caratteristiche demografiche sono riepilogate nella Tabella 1. Complessivamente, il 57,1% degli operatori era di genere femminile, l'età media era di 39,89 anni (Deviazione Standard - DS - 10,82) e l'anzianità lavorativa media prima della prima valutazione sanitaria era di 2,34 anni (DS 4,22). Stratificando per stato di esposizione, il genere femminile è risultato pari al 52,9% e al 61,2%, l'età media di 38,52 anni (DS 10,54) e 41,25 anni (DS 10,99) e l'anzianità media di 2,93 (DS 5,54) e 1,76 (DS 2,14), rispettivamente tra gli anestesisti e gli altri medici non esposti.

Tabella 1. Caratteristiche demografiche dei partecipanti allo studio, stratificate per stato di esposizione

Caratteristiche demografiche	Partecipanti (N = 170)		
	Totale	Esposti (n = 85)	Non esposti (n = 85)
maschi [n (%)]	73 (42,9)	40 (47,1)	33 (38,8)
donne [n (%)]	97 (57,1)	45 (52,9)	52 (61,2)
età [anni] (M±DS)	39,9 (10,8)	38,5 (10,5)	41,3 (11,0)
anzianità lavorativa prima dell'iscrizione [anni] (M±DS)	2,3 (4,2)	2,9 (5,5)	1,8 (2,1)

Le caratteristiche e i valori medi dei parametri di funzionalità epatica e renale dei partecipanti alla valutazione basale e alle visite successive sono riassunti nella Tabella 2. Al momento della prima visita medica, il BMI medio risultava essere pari a 22,91 (range 16,00-39,54), il 75,8% riferiva di bere alcolici (punteggio medio AUDIT tra i bevitori pari a 2,04, DS 0,39) e il 24,7% riferiva di utilizzare farmaci con possibile tossicità epatica (punteggio medio di gravità Drug Induced Liver Injury Rank (DILIrank) pari a 3,59, DS 2,14) mentre il 4,7% riferiva di utilizzare farmaci nefrotossici. Stratificando i valori della prima valutazione in base allo stato di esposizione, abbiamo riscontrato che il BMI medio risultava essere pari a 22,77 (range 17,43-36,65) e 23,05 (range 16,00-39,54), la prevalenza del consumo di alcol era dell'81,8% (punteggio AUDIT 2,03, DS 0,26) e del 67,3% (punteggio AUDIT 2,06, DS 0,53), l'uso di farmaci con possibile tossicità epatica era del 22,4% e del 27,1% mentre l'uso di farmaci con possibile tossicità renale era del 3,5% e del 5,9%, rispettivamente tra gli anestesisti e il gruppo non esposto.

Tabella 2. Media delle variabili indipendenti ripetute e valori dei parametri di esito durante i cinque punti temporali.

Variabili a misura ripetuta	Numero di esami				
	1 (basale) (n=170)	2 (n=127)	3 (n=127)	4 (n=97)	5 (n=43)
BMI (M±DS)	22,9 (3,8)	22,7 (3,5)	22,8 (3,6)	23,8 (4,2)	23,9 (4,2)
Punteggio AUDIT (M±DS)	1,5 (0,9) da 124 soggetti	1,6 (1,1) da 106 soggetti	1,5 (0,9) da 92 soggetti	1,4 (1,0) da 60 soggetti	1,4 (1,0) da 30 soggetti
Uso di farmaci con tossicità epatica [n (%)]	42 (24,7)	27 (21,3)	30 (23,6)	22 (22,7)	14 (32,6)

Uso di farmaci con tossicità renale [n (%)]	8 (4,7)	3 (2,4)	7 (5,5)	8 (8,2)	7 (16,3)
Urea (M±DS)	31,7 (8,2)	31,1 (9,6)	31,8 (9,3)	32,3 (9,3)	33,0 (10,5)
Creatinina (M±DS)	0,88 (0,17)	0,87 (0,16)	0,86 (0,15)	0,87 (0,16)	0,87 (0,19)
eGFR (M±DS)	102,8 (16,0)	104,5 (15,0)	102,9 (15,2)	100,6 (15,1)	99,3 (17,1)
ALT (M±DS)	19,9 (12,2)	17,8 (9,2)	17,8 (9,4)	18,8 (9,2)	20,3 (11,4)
GGT (M±DS)	21,4 (29,8)	20,8 (28,1)	19,3 (22,5)	22,4 (27,7)	25,5 (26,9)

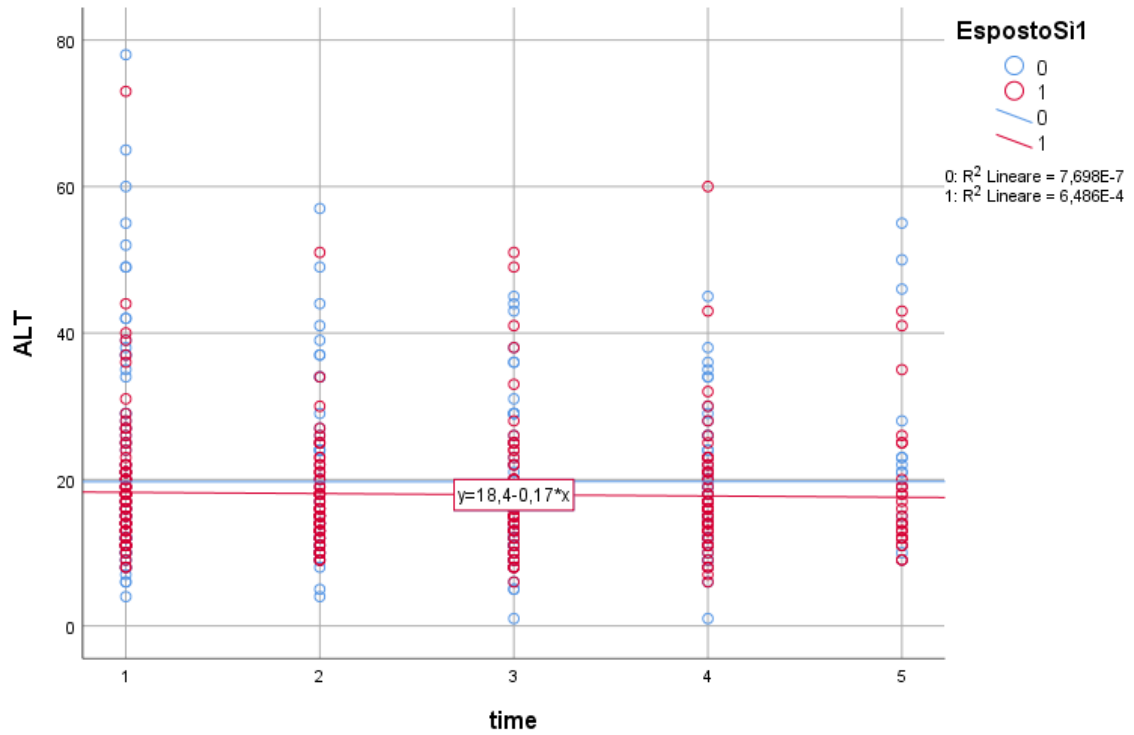
La Figura 1 mostra ogni parametro di esito nei diversi momenti di misurazione, stratificato per stato di esposizione. Ogni punto rappresenta i risultati della misurazione di un singolo lavoratore. Graficamente, le linee di regressione per i gruppi esposti e non esposti non mostrano un incremento con il tempo, e quest'ultima coorte mostra un valore complessivo più alto sia nei parametri di funzionalità epatica che renale. Come dettagliato nella Tabella 3, il confronto tra le valutazioni basali e finali dei due gruppi ha mostrato un aumento significativo della filtrazione glomerulare stimata tra i soggetti esposti rispetto a quelli non esposti. Tuttavia, come si può notare dalla Figura 2, esiste una grande variabilità tra gli individui che compongono ciascuna coorte, di cui si è tenuto conto applicando un modello misto lineare.

Tabella 3. Confronto dei valori dell'esame basale e finale tra soggetti esposti e non esposti

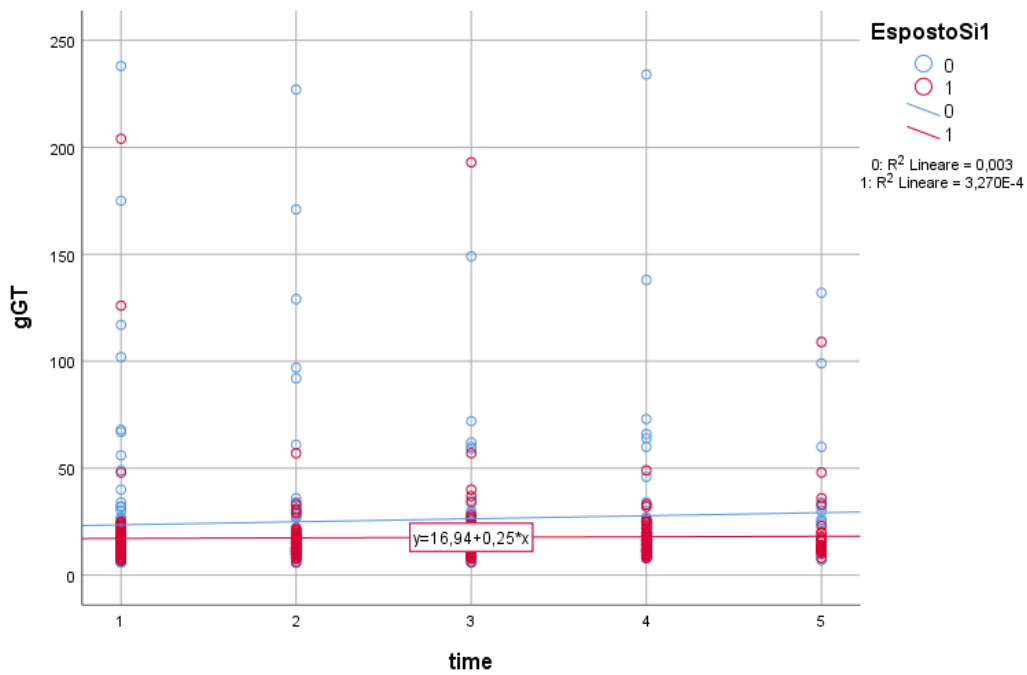
Parametro		N	Media	Deviazione std.	Media errore standard	Z (sign.)
#1ALT	non esposto	85	20,86	14,491	1,572	-0,63 (0,53)
	esposto	85	18,93	9,391	1,019	
#1GGT	non esposto	85	24,51	34,225	3,712	-0,94 (0,35)
	esposto	85	18,19	24,373	2,644	
#1UREA	non esposto	85	31,82	8,049	0,873	-0,21 (0,84)
	esposto	85	31,64	8,440	0,915	
#1Creatinina	non esposto	85	0,882	0,1781	0,0193	-0,11 (0,91)
	esposto	85	0,878	0,1538	0,0167	
#1eGFR	non esposto	85	100,42	17,040	1,848	-1,70 (0,09)
	esposto	85	105,07	14,526	1,576	
#5ALT	non esposto	15	24,47	14,525	3,750	-1,58 (0,11)
	esposto	28	18,07	8,927	1,687	
#5GGT	non esposto	15	35,67	35,532	9,174	-1,85 (0,06)
	esposto	28	20,11	19,521	3,689	
#5UREA	non esposto	15	36,20	13,327	3,441	-1,35 (0,18)
	esposto	28	31,25	8,444	1,596	
#5Creatinina	non esposto	15	0,907	0,2576	0,0665	-0,87 (0,39)
	esposto	28	0,843	0,1399	0,0264	
#5eGFR	non esposto	15	90,07	16,351	4,222	-2,69 (0,007)
	esposto	28	104,18	15,675	2,962	

Figura. 1 Grafico a dispersione dei parametri di funzionalità epatica e renale in base allo stato di esposizione durante gli esami successivi. A (ALT), B (gGT), C (Urea), D (Creatinina), E (eGFR).

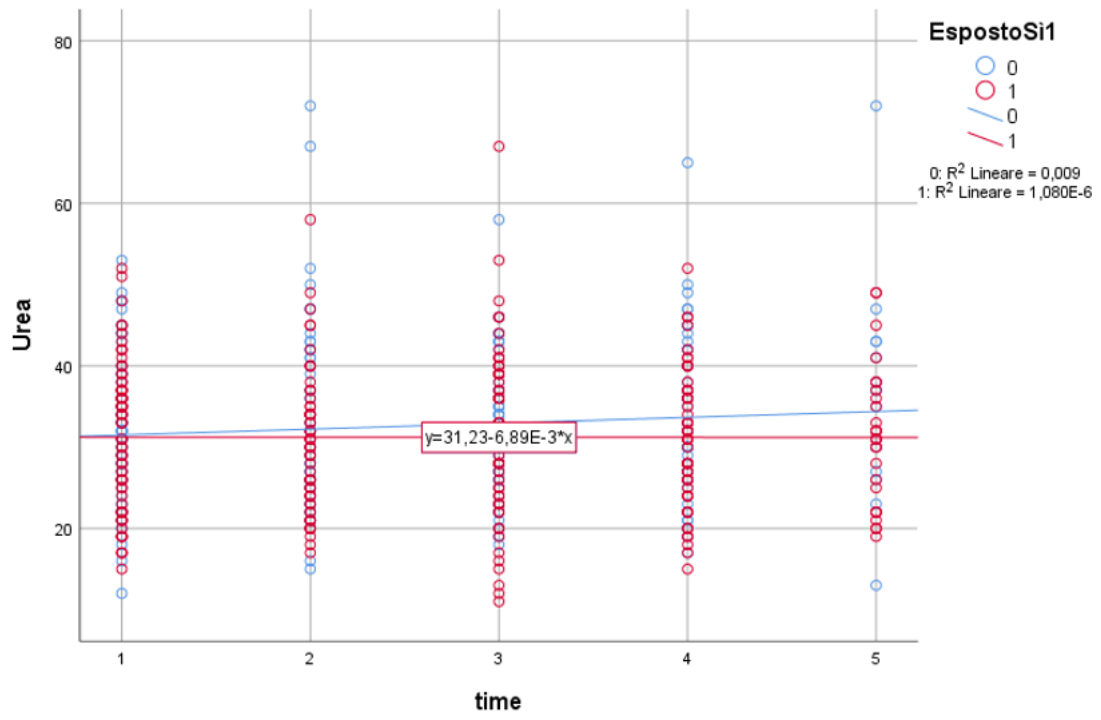
A.



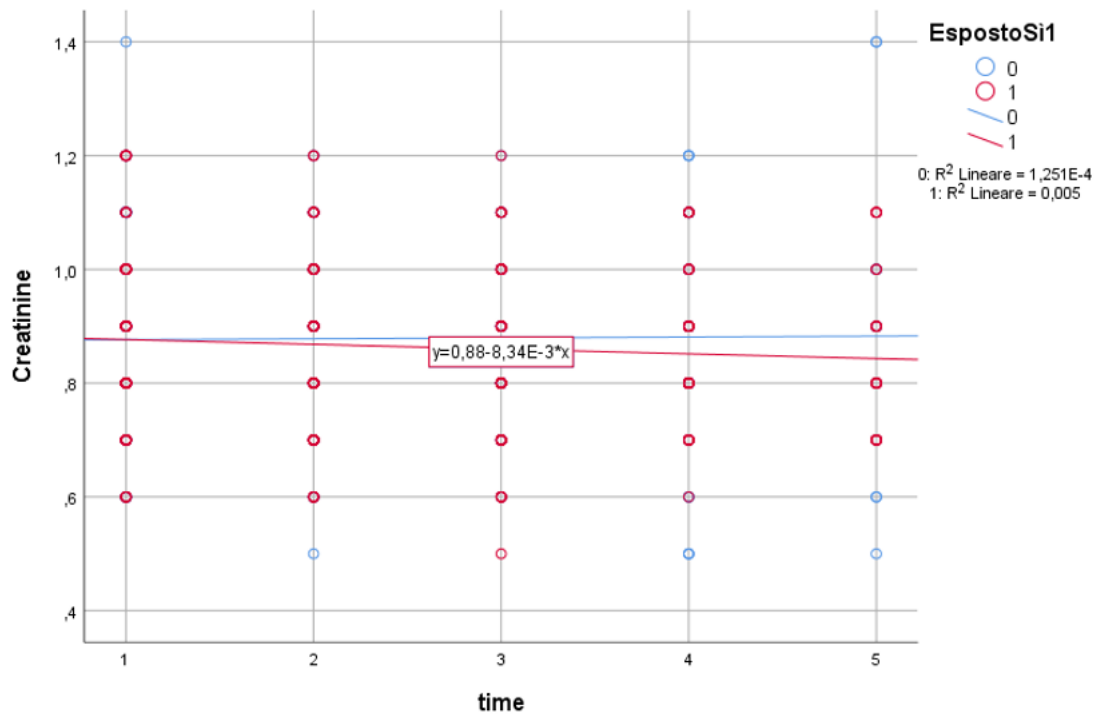
B.



C.



D.



E.

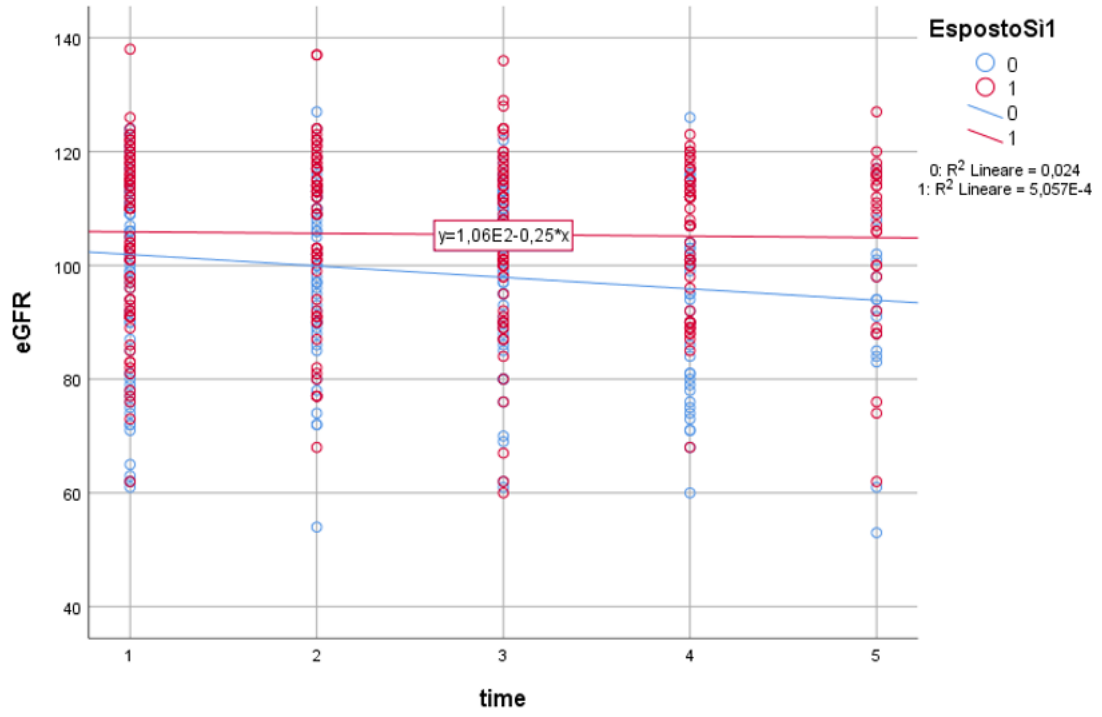
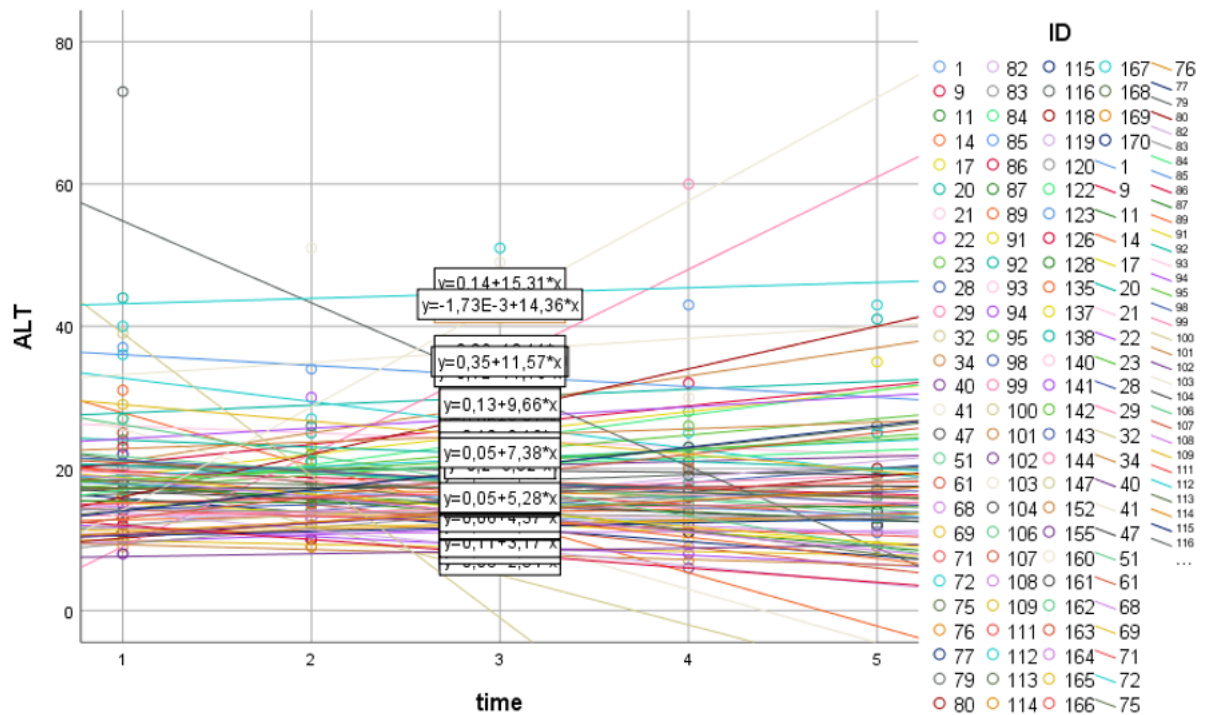


Figura 2. Linee di regressione individuali per le ALT durante i periodi di tempo, tra i soggetti esposti, che mostrano la variabilità tra gli individui.



L'analisi del modello misto lineare ha mostrato che la varianza tra le osservazioni era spiegata per ALT da genere, BMI, uso di farmaci ed esposizione per anni di anzianità; per gGT da genere, punteggio AUDIT, esposizione per anni di anzianità; per urea da genere, età; creatinina da genere, punteggio AUDIT; eGFR da genere, età, punteggio AUDIT. Informazioni dettagliate sulle statistiche ottenute sono riportate nella Tabella 5.

Valutando la stima media marginale risultante per ciascuna variabile di esito in base allo stato di esposizione e al genere, abbiamo riscontrato valori medi di ALT tra i soggetti maschi non esposti di 25,7 (95%CI 21,2-30,1), mentre tra le lavoratrici di 19,9 (95%CI 15,3-24,6), e tra i soggetti maschi esposti di 25,5 (95%CI 21,2-29,9) mentre tra le donne di 19,8 (95%CI 15,2-24,5), senza alcuna differenza statistica al confronto a coppie ($p = 0,91$).

Gli stessi confronti sono stati eseguiti per GGT ($p=0,27$), urea ($p=0,64$), creatinina (0,68), eGFR (0,61), senza alcuna differenza significativa tra i gruppi, come dettagliato nella Tabella 4.

Tabella 4. Stime medie marginali per ogni variabile di esito stratificata per stato di esposizione e genere. A (ALT), B (gGT), C (Urea), D (Creatinina), D (eGFR).

A.

Stime^a

EspostoSì1	GenereF1	Media	Errore std.	gl	Intervallo di confidenza 95%	
					Limite inferiore	Limite superiore
0	0	25,666 ^b	2,264	251,998	21,207	30,125
	1	19,949 ^b	2,344	260,244	15,333	24,565
1	0	25,541 ^b	2,193	247,326	21,222	29,860
	1	19,824 ^b	2,352	244,355	15,191	24,458

a. Variabile dipendente: ALT.

b. Le covariate presenti nel modello vengono valutate sui seguenti valori: BMI = 22,878241874036550, età = 37,130730852211440, PreWorkHx = 1,395995145631069, lintime = 1,4320.

B.

Stime^a

EspostoSì1	GenereF1	Media	Errore std.	gl	Intervallo di confidenza 95%	
					Limite inferiore	Limite superiore
0	0	34,695 ^b	6,246	217,846	22,385	47,006
	1	26,018 ^b	6,372	239,626	13,467	38,570
1	0	30,311 ^b	6,044	222,454	18,400	42,222
	1	21,634 ^b	6,547	229,180	8,734	34,534

a. Variabile dipendente: gGT.

b. Le covariate presenti nel modello vengono valutate sui seguenti valori: BMI = 22,878241874036550, età = 37,130730852211440, PreWorkHx = 1,395995145631069, lintime = 1,4320.

C.

Stime^a

EspostoSì1	GenereF1	Media	Errore std.	gl	Intervallo di confidenza 95%	
					Limite inferiore	Limite superiore
0	0	37,919 ^b	2,290	256,343	33,410	42,428
	1	32,471 ^b	2,352	267,564	27,841	37,101
1	0	38,446 ^b	2,216	254,635	34,082	42,811
	1	32,999 ^b	2,354	251,186	28,362	37,635

a. Variabile dipendente: Urea.

b. Le covariate presenti nel modello vengono valutate sui seguenti valori: BMI = 22,878241874036550, età = 37,130730852211440, PreWorkHx = 1,395995145631069, lintime = 1,4320.

D.

Stime^a

EspostoSì1	GenereF1	Media	Errore std.	gl	Intervallo di confidenza 95%	
					Limite inferiore	Limite superiore
0	0	,984 ^b	,035	224,732	,915	1,052
	1	,810 ^b	,036	244,821	,739	,880
1	0	,976 ^b	,034	224,388	,909	1,042
	1	,801 ^b	,036	231,252	,730	,873

a. Variabile dipendente: Creatinine.

b. Le covariate presenti nel modello vengono valutate sui seguenti valori: BMI = 22,878241874036550, età = 37,130730852211440, PreWorkHx = 1,395995145631069, lintime = 1,4320.

E.

Stime^a

EspostoSi1	GenereF1	Media	Errore std.	gl	Intervallo di confidenza 95%	
					Limite inferiore	Limite superiore
0	0	100,820 ^b	3,519	231,263	93,887	107,752
	1	107,001 ^b	3,588	250,262	99,935	114,067
1	0	101,834 ^b	3,410	231,388	95,115	108,553
	1	108,015 ^b	3,642	235,968	100,840	115,190

a. Variabile dipendente: eGFR.

b. Le covariate presenti nel modello vengono valutate sui seguenti valori: BMI = 22,878241874036550, età = 37,130730852211440, PreWorkHx = 1,395995145631069, lintime = 1,4320.

Tabella 5. Stime degli effetti fissi nell'analisi del modello misto lineare per ciascun esito, che mostra l'effetto sulla variabilità per variabili indipendenti. A (ALT), B (gGT), C (Urea), D (Creatinina), E (eGFR).

A.

Stime degli effetti fissi^a							
Parametro	Stima	Errore std.	gl	t	Sign.	Intervallo di confidenza 95%	
						Limite inferiore	Limite superiore
Intercetta	5,939281	8,393391	341,488	,708	,480	-10,569976	22,448537
[EspostoSi1=0]	,566023	1,485321	135,197	,381	,704	-2,371446	3,503492
[EspostoSi1=1]	0 ^b	0
[GenereF1=0]	5,716713	1,229996	156,069	4,648	,000	3,287126	8,146300
[GenereF1=1]	0 ^b	0
BMI	,627453	,161963	184,387	3,874	,000	,307915	,946992
età	,099807	,081520	181,533	1,224	,222	-,061042	,260655
[AUDIT=0]	-,547007	6,624815	220,026	-,083	,934	-13,603220	12,509207
[AUDIT=1]	-,181142	6,851626	232,670	-,026	,979	-13,680298	13,318015
[AUDIT=2]	,626169	6,562966	211,975	,095	,924	-12,310870	13,563208
[AUDIT=3]	8,273153	7,046335	243,514	1,174	,241	-5,606390	22,152696
[AUDIT=4]	-2,256991	9,029720	265,293	-,250	,803	-20,036024	15,522042
[AUDIT=7]	0 ^b	0
[HepatoxYN=0]	-,178424	1,019566	393,109	-,175	,861	-2,182908	1,826060
[HepatoxYN=1]	0 ^b	0
[NephrotoxYN=0]	-8,516340	2,734394	247,236	-3,115	,002	-13,902018	-3,130661
[NephrotoxYN=1]	0 ^b	0
lvertime	-,081307	,330418	79,060	-,246	,806	-,738979	,576366
[EspostoSi1=0] * PreWorkHx	-,030074	,492292	195,942	-,061	,951	-1,000944	,940796
[EspostoSi1=1] * PreWorkHx	-,499859	,194391	167,749	-2,571	,011	-,883628	-,116091
[EspostoSi1=0] * lvertime	-,766192	,574610	122,686	-1,333	,185	-1,903626	,371243
[EspostoSi1=1] * lvertime	0 ^b	0

a. Variabile dipendente: ALT.

b. Questo parametro viene impostato su zero perché è ridondante.

B.

Stime degli effetti fissi^a

Parametro	Stima	Errore std.	gl	t	Sign.	Intervallo di confidenza 95%	
						Limite inferiore	Limite superiore
Intercetta	-8,722935	18,415798	361,116	-,474	,636	-44,938614	27,492744
[EspostoSi1=0]	-5,276991	4,888417	117,838	-1,079	,283	-14,957526	4,403544
[EspostoSi1=1]	0 ^b	0
[GenereF1=0]	8,676994	4,088678	148,635	2,122	,035	,597549	16,756439
[GenereF1=1]	0 ^b	0
BMI	,552005	,466068	296,175	1,184	,237	-,365219	1,469229
età	,465177	,260000	163,073	1,789	,075	-,048224	,978577
[AUDIT=0]	-,897513	10,554269	155,414	-,085	,932	-21,745843	19,950818
[AUDIT=1]	,034624	10,972464	161,887	,003	,997	-21,632987	21,702235
[AUDIT=2]	-1,824552	10,323254	146,053	-,177	,860	-22,226808	18,577704
[AUDIT=3]	23,811621	11,424455	174,198	2,084	,039	1,263451	46,359791
[AUDIT=4]	5,454860	24,472826	166,643	,223	,824	-42,861885	53,771604
[AUDIT=7]	0 ^b	0
[HepatoxYN=0]	,455651	1,922145	286,582	,237	,813	-3,327661	4,238962
[HepatoxYN=1]	0 ^b	0
[NephrotoxYN=0]	-5,447346	6,678857	310,440	-,816	,415	-18,588899	7,694206
[NephrotoxYN=1]	0 ^b	0
linterime	-,127902	,637688	99,616	-,201	,841	-1,393117	1,137313
[EspostoSi1=0] * PreWorkHx	4,859893	1,590676	143,111	3,055	,003	1,715636	8,004150
[EspostoSi1=1] * PreWorkHx	-,927774	,651056	134,275	-1,425	,156	-2,215426	,359877
[EspostoSi1=0] * linterime	1,104450	1,103271	136,176	1,001	,319	-1,077309	3,286209
[EspostoSi1=1] * linterime	0 ^b	0

a. Variabile dipendente: gGT.

b. Questo parametro viene impostato su zero perché è ridondante.

C.

Stime degli effetti fissi^a

Parametro	Stima	Errore std.	gl	t	Sign.	Intervallo di confidenza 95%	
						Limite inferiore	Limite superiore
Intercetta	24,315803	8,504153	323,370	2,859	,005	7,585353	41,046254
[EspostoSi1=0]	1,154768	1,366474	121,937	,845	,400	-1,550317	3,859854
[EspostoSi1=1]	0 ^b	0
[GenereF1=0]	5,447619	1,209875	148,692	4,503	,000	3,056850	7,838387
[GenereF1=1]	0 ^b	0
BMI	,085925	,160228	185,565	,536	,592	-,230177	,402027
età	,277097	,079974	175,607	3,465	,001	,119264	,434931
[AUDIT=0]	-8,927925	6,900869	233,394	-1,294	,197	-22,523882	4,668031
[AUDIT=1]	-9,557912	7,106450	248,243	-1,345	,180	-23,554536	4,438712
[AUDIT=2]	-7,615644	6,854807	226,705	-1,111	,268	-21,122926	5,891639
[AUDIT=3]	-10,772293	7,242097	260,066	-1,487	,138	-25,032907	3,488321
[AUDIT=4]	13,609284	9,353986	252,447	1,455	,147	-4,812508	32,031075
[AUDIT=7]	0 ^b	0
[HepatoxYN=0]	-,763637	,980641	358,197	-,779	,437	-2,692175	1,164901
[HepatoxYN=1]	0 ^b	0
[NephrotoxYN=0]	-,176699	2,670020	282,312	-,066	,947	-5,432373	5,078976
[NephrotoxYN=1]	0 ^b	0
lntime	,435648	,290374	56,944	1,500	,139	-,145828	1,017124
[EspostoSi1=0] * PreWorkHx	-,766411	,491097	190,079	-1,561	,120	-1,735112	,202290
[EspostoSi1=1] * PreWorkHx	,108741	,192760	161,256	,564	,573	-,271918	,489400
[EspostoSi1=0] * lntime	-,321436	,513481	92,866	-,626	,533	-1,341127	,698256
[EspostoSi1=1] * lntime	0 ^b	0

a. Variabile dipendente: Urea.

b. Questo parametro viene impostato su zero perché è ridondante.

D.

Stime degli effetti fissi^a

Parametro	Stima	Errore std.	gl	t	Sign.	Intervallo di confidenza 95%	
						Limite inferiore	Limite superiore
Intercetta	,674590	,115643	328,208	5,833	,000	,447095	,902085
[EspostoSi1=0]	-,005544	,024799	133,528	-,224	,823	-,054593	,043506
[EspostoSi1=1]	0 ^b	0
[GenereF1=0]	,174285	,020800	151,312	8,379	,000	,133189	,215380
[GenereF1=1]	0 ^b	0
BMI	-,000346	,002604	213,893	-,133	,894	-,005479	,004786
età	-,000707	,001343	169,476	-,526	,599	-,003358	,001944
[AUDIT=0]	,146707	,080793	158,131	1,816	,071	-,012865	,306279
[AUDIT=1]	,177534	,083662	168,947	2,122	,035	,012377	,342691
[AUDIT=2]	,160039	,079666	149,807	2,009	,046	,002625	,317453
[AUDIT=3]	,132063	,086452	182,033	1,528	,128	-,038513	,302639
[AUDIT=4]	,392928	,135793	187,660	2,894	,004	,125051	,660806
[AUDIT=7]	0 ^b	0
[HepatoxYN=0]	,001300	,013350	360,328	,097	,922	-,024954	,027555
[HepatoxYN=1]	0 ^b	0
[NephrotoxYN=0]	-,009564	,040143	272,409	-,238	,812	-,088594	,069467
[NephrotoxYN=1]	0 ^b	0
lintage	-,004834	,004199	68,923	-1,151	,254	-,013211	,003542
[EspostoSi1=0] * PreWorkHx	,012275	,008129	162,524	1,510	,133	-,003778	,028328
[EspostoSi1=1] * PreWorkHx	,002744	,003285	148,263	,835	,405	-,003747	,009235
[EspostoSi1=0] * lintage	,000288	,007277	104,033	,040	,969	-,014143	,014719
[EspostoSi1=1] * lintage	0 ^b	0

a. Variabile dipendente: Creatinine.

b. Questo parametro viene impostato su zero perché è ridondante.

E.

Stime degli effetti fissi^a

Parametro	Stima	Errore std.	gl	t	Sign.	Intervallo di confidenza 95%	
						Limite inferiore	Limite superiore
Intercetta	144,816780	12,039402	334,378	12,029	,000	121,134267	168,499294
[EspostoSi1=0]	,244847	2,434580	137,816	,101	,920	-4,569114	5,058808
[EspostoSi1=1]	0 ^b	0
[GenereF1=0]	-6,181281	2,081837	150,685	-2,969	,003	-10,294642	-2,067920
[GenereF1=1]	0 ^b	0
BMI	,238791	,258992	218,868	,922	,358	-,271646	,749227
età	-,672798	,133815	169,560	-5,028	,000	-,936955	-,408641
[AUDIT=0]	-17,682628	8,932486	181,899	-1,980	,049	-35,307240	-,058016
[AUDIT=1]	-18,807712	9,181006	193,257	-2,049	,042	-36,915549	-,699876
[AUDIT=2]	-18,773711	8,844907	174,893	-2,123	,035	-36,230204	-1,317219
[AUDIT=3]	-16,571812	9,409210	204,752	-1,761	,080	-35,123178	1,979553
[AUDIT=4]	-36,263650	14,208619	194,625	-2,552	,011	-64,286283	-8,241017
[AUDIT=7]	0 ^b	0
[HepatoxYN=0]	,975700	1,325780	350,098	,736	,462	-1,631795	3,583194
[HepatoxYN=1]	0 ^b	0
[NephrotoxYN=0]	1,874697	3,823800	263,887	,490	,624	-5,654343	9,403737
[NephrotoxYN=1]	0 ^b	0
lintage	-,288391	,341004	112,634	-,846	,400	-,964005	,387224
[EspostoSi1=0] * PreWorkHx	-1,014709	,818860	164,025	-1,239	,217	-2,631575	,602157
[EspostoSi1=1] * PreWorkHx	-,199579	,331177	150,796	-,603	,548	-,853924	,454767
[EspostoSi1=0] * lintage	-,084780	,618593	139,844	-,137	,891	-1,307783	1,138223
[EspostoSi1=1] * lintage	0 ^b	0

a. Variabile dipendente: eGFR.

b. Questo parametro viene impostato su zero perché è ridondante.

Discussione e conclusioni

In questo studio longitudinale sono stati analizzati retrospettivamente i dati di sorveglianza sanitaria nel mondo reale per valutare i potenziali effetti dell'esposizione ai gas anestetici di scarto sugli anestesisti. I livelli di esposizione ai WAG dipendono da diversi parametri, tra cui l'assenza o la presenza di adeguati sistemi di ventilazione e di scavenging nelle sale operatorie, il tipo di intervento chirurgico, l'entità delle perdite dalle maschere per anestesia durante la somministrazione dei gas anestetici ai pazienti, le perdite dalle macchine e la durata dei turni giornalieri. Infatti, sebbene nelle sale chirurgiche vengano eseguite misurazioni ambientali periodiche dell'esposizione ai gas inalati per valutare l'efficacia dei sistemi di evacuazione, della ventilazione e di altre procedure di sicurezza, che proteggono con successo i lavoratori dalle esposizioni ad alte dosi e dai conseguenti effetti acuti, i possibili effetti cronici dovuti alle basse dosi di gas sulla salute dei lavoratori vengono valutati dai medici del lavoro durante le visite mediche annuali. In questo modo, i medici del lavoro possono valutare direttamente i potenziali effetti sulla salute dei singoli lavoratori. L'applicazione di appropriati tipi di studi epidemiologici longitudinali può tuttavia ampliare la portata di questa valutazione all'intera popolazione esposta. Dopo un follow-up mediano di 2,9 anni (massimo 5 anni) e tenendo conto dell'età, del genere, del BMI, del consumo di alcol e dell'uso di farmaci, non abbiamo riscontrato alcuna alterazione tra i lavoratori esposti, poiché la variabilità dei dati è stata spiegata da altri fattori, in particolare il genere, il BMI e l'invecchiamento, che sono fattori ben noti nella variabilità fisiologica della funzione epatica e renale.^{75 76 77} Sulla base di questi risultati, è possibile dedurre l'efficacia a lungo termine di misure di controllo implementate. Studi precedenti, che avevano valutato l'esposizione effettiva utilizzando dati di monitoraggio sia ambientali che biologici, avevano riscontrato un significativo effetto sanitario pre-critico sulla funzione epatica e renale degli operatori sanitari esposti. Tuttavia, l'esposizione comprendeva protossido di azoto e isoflurano oltre che il sevoflurano, due gas noti per i loro maggiori profili tossici su questi organi, e i parametri di funzionalità epatica e renale, sebbene aumentati, sono rimasti nel range di normalità.⁴⁰ Il National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) ha raccomandato valori limite di esposizione raccomandati (REL) di 2 ppm per tutti gli agenti alogenati. I livelli degli indici di esposizione biologica (BEI) per questi gas anestetici non sono stati stabiliti dall'American Conference of Governmental Industrial Hygienists

(ACGIH). Tuttavia, alcuni autori hanno riportato limiti biologici equivalenti sulle urine di 3,6 µg/l per il sevoflurano basati sul limite di esposizione NIOSH di 2 ppm.⁷⁸

Questo studio è stato caratterizzato da alcune limitazioni, tra cui la mancanza di misurazioni precise e tempestive dell'esposizione a ciascun gas, sia a livello ambientale che individuale, la mancanza di informazioni sul tipo specifico di intervento chirurgico e sull'ubicazione della sala operatoria e il numero limitato di partecipanti. Inoltre, i dati raccolti durante le visite periodiche di sorveglianza sanitaria si limitano a pochi parametri generali, riducendo l'accuratezza dei possibili effetti nocivi, in particolare per quanto riguarda la reprotossicità.

L'inclusione di questi dati nell'analisi gerarchica multilivello avrebbe potuto migliorare la definizione del livello di esposizione e del possibile effetto.

Tuttavia, lo studio è stato rafforzato da diversi aspetti, grazie all'approccio metodologico rigoroso del modello misto lineare che consente di analizzare i dati sulla salute sul lavoro che, per definizione, sono costituiti dai dati di una coorte nel corso del tempo. Infatti, l'obiettivo principale di uno studio longitudinale è descrivere i cambiamenti nel tempo e misurare l'influenza individuale delle variabili per spiegare i cambiamenti osservati. Tuttavia, molte sfide e problemi metodologici rendono difficile l'analisi dei dati longitudinali. Questi problemi analitici includono la struttura correlata dei dati intra-individuali, le notevoli dimensioni degli insiemi di dati, le misurazioni irregolari nel tempo, i modelli non lineari (come la crescita rapida o le risposte stazionarie), i costrutti latenti e la combinazione di covariate statiche e variabili nel tempo.⁵⁷ In questa prospettiva, questo studio rappresenta una *proof of concept* che potrebbe essere applicata a tutti gli aspetti della sorveglianza sanitaria e potrebbe migliorare la comprensione di molti potenziali effetti subcritici sulla salute, tenendo conto delle differenze intergruppo a più livelli, dell'analisi tra individui, ma anche dell'analisi all'interno del gruppo e dell'individuo.

BIBLIOGRAFIA

1. Lacca G, Mangiapane N, *Patologia e prevenzione da gas anestetici*. 2013; Pubblicato 07/2013
2. Scheiermann P, Herzog F, Siebenhofer A, Strametz R, Weberschock T. Intravenous versus inhalational anesthesia for pediatric inpatient surgery - A systematic review and meta-analysis. *J Clin Anesth*. 2018;49:19-25.
doi:10.1016/j.jclinane.2018.05.014
3. Jerath A, Parotto M, Wasowicz M, Ferguson ND. Volatile Anesthetics. Is a New Player Emerging in Critical Care Sedation?. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;193(11):1202-1212. doi:10.1164/rccm.201512-2435CP
4. Spence J, Belley-Côté E, Ma HK, et al. Efficacy and safety of inhaled anaesthetic for postoperative sedation during mechanical ventilation in adult cardiac surgery patients: a systematic review and meta-analysis. *Br J Anaesth*. 2017;118(5):658-669. doi:10.1093/bja/aex087
5. Jerath A, Panckhurst J, Parotto M, et al. Safety and Efficacy of Volatile Anesthetic Agents Compared With Standard Intravenous Midazolam/Propofol Sedation in Ventilated Critical Care Patients: A Meta-analysis and Systematic Review of Prospective Trials. *Anesth Analg*. 2017;124(4):1190-1199.
doi:10.1213/ANE.0000000000001634
6. Circolare del Ministero della Sanità n. 5 del 14/3/1989. “Esposizione professionale ad anestetici in sala operatoria”.
7. CDC, The National Institute for Occupational Safety and Health, Chemical Hazards: Health and Safety Practices Survey of Healthcare Workers, disponibile su: <https://www.cdc.gov/niosh/topics/healthcarehsps/gases.html>
8. Franco G. Occupational exposure to anaesthetics: liver injury, microsomal enzyme induction and preventive aspects. *G Ital Med Lav*. 1989;11(5):205-208.
9. Bruce, DL and MJ Bach. 1976. Effects of Trace Concentrations of Anesthetic Gases on Behavioral Performance of Operating Room Personnel. DHEW (NIOSH) Publication No. 76-169. 1976. Cincinnati.

10. Enflurane. In: *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury*. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; January 1, 2018.
11. Chung E, Muzio MR. Enflurane. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; May 14, 2022.
12. Hawkley TF, Preston M, Maani CV. Isoflurane. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; August 15, 2022.
13. Buffington CW, Romson JL, Levine A, Duttlinger NC, Huang AH. Isoflurane induces coronary steal in a canine model of chronic coronary occlusion. *Anesthesiology*. 1987;66(3):280-292. doi:10.1097/00000542-198703000-00004
14. Miller AL, Theodore D, Widrich J. Inhalational Anesthetic. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; September 6, 2022.
15. Michel F, Constantin JM. Sevoflurane inside and outside the operating room. *Expert Opin Pharmacother*. 2009;10(5):861-873. doi:10.1517/14656560902798752
16. Sakai EM, Connolly LA, Klauck JA. Inhalation anesthesiology and volatile liquid anesthetics: focus on isoflurane, desflurane, and sevoflurane. *Pharmacotherapy*. 2005;25(12):1773-1788. doi:10.1592/phco.2005.25.12.1773
17. Campagna JA, Miller KW, Forman SA. Mechanisms of actions of inhaled anesthetics. *N Engl J Med*. 2003;348(21):2110-2124. doi:10.1056/NEJMra021261
18. Edgington TL, Muco E, Maani CV. Sevoflurane. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; June 11, 2022.
19. Fernández-Meré LA, Muñoz González F, Sopena Zubiria LA, Alvarez Blanco M. Sevoflurano y disfunción hepática [Sevoflurane and liver dysfunction]. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. 2008;55(3):184-185. doi:10.1016/s0034-9356(08)70538-3
20. Gentz BA, Malan TP Jr. Renal toxicity with sevoflurane: a storm in a teacup?. *Drugs*. 2001;61(15):2155-2162. doi:10.2165/00003495-200161150-00001
21. Tuncalı B, Pekcan YÖ, Ayhan A, Erol V, Yılmaz TH, Kayhan Z. Retrospective Evaluation of Patients who Underwent Laparoscopic Bariatric Surgery. *Turk J Anaesthesiol Reanim*. 2018;46(4):297-304. doi:10.5152/TJAR.2018.72687
22. Meyer MJ. Desflurane Should Des-appear: Global and Financial Rationale. *Anesth Analg*. 2020;131(4):1317-1322. doi:10.1213/ANE.00000000000005102

23. Khan J, Liu M. Desflurane. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; June 11, 2022.
24. Liu Q, Ma L, Fan SZ, et al. Frontal EEG Temporal and Spectral Dynamics Similarity Analysis between Propofol and Desflurane Induced Anesthesia Using Hilbert-Huang Transform. *Biomed Res Int*. 2018;2018:4939480. Published 2018 Jul 15. doi:10.1155/2018/4939480
25. Desflurane. In: *Drugs and Lactation Database (LactMed®)*. Bethesda (MD): National Institute of Child Health and Human Development; November 16, 2020.
26. *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury*. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012.
27. CDC, National Institute for Occupational Safety & Health, Waste Anesthetic Gases; Occupational Hazards in Hospital, disponibile su: <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2007-151/pdfs/2007-151.pdf?id=10.26616/NIOSH PUB2007151>
28. ILO, Encyclopaedia of Occupational Health & Safety, Waste Anaesthetic Gases, disponibile su: <https://www.iloencyclopaedia.org/part-xvii-65263/health-care-facilities-and-services/item/451-waste-anaesthetic-gases>
29. Braz LG, Braz JRC, Cavalcante GAS, Souza KM, Lucio LMC, Braz MG. Comparação de resíduos de gases anestésicos em salas de operação com ou sem sistema de exaustão em hospital universitário brasileiro [Comparison of waste anesthetic gases in operating rooms with or without an scavenging system in a Brazilian University Hospital]. *Rev Bras Anesthesiol*. 2017;67(5):516-520. doi:10.1016/j.bjan.2017.02.001
30. Emara AM, Alrasheedi KA, Aldubayan MA, Alhowail AH, Elgarabawy RM. Effect of inhaled waste anaesthetic gas on blood and liver parameters among hospital staff. *Hum Exp Toxicol*. 2020;39(12):1585-1595. doi:10.1177/0960327120938840
31. Guardino, X and MG Rosell. 1985. Exposición laboral a gases anestésicos. In *Notas Técnicas de Prevención*. No. 141. Barcelona: INSHT
32. Rosell, MG, P Luna, and X Guardino. 1989. Evaluación y Control de Contaminantes Químicos en Hospitales. Technical Document No. 57. Barcelona: INSHT.

33. Guardino, X and MG Rosell. 1995. Exposure monitoring to anesthetic gases. In *Occupational Health for Health Care Workers*, edited by M Hagburg, F Hoffmann, U Stössel, and G Westlander. Solna: National Institute of Occupational Health.
34. Guardino, X and MG Rosell. 1992. Exposure at work to anesthetic gases. A controlled risk? *Janus* 12:8-10.
35. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). 1975. Development and Evaluation of Methods for the Elimination of Waste Anesthetic Gases and Vapors in Hospitals. DHEW (NIOSH) Publication No. 75-137. Cincinnati, OH: NIOSH
36. INAIL, *Conoscere il rischio, Agenti chimici, Cenni sulla tossicità degli agenti chimici*, 2018, disponibile su:
https://www.inail.it/cs/internet/docs/tossicita_agenti_chimici_pdf_2443085453976.pdf?section=attivita
37. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. *Postgrad Med J*. 1981;57(666):271.
38. Jakobsson J. Desflurane: a clinical update of a third-generation inhaled anaesthetic. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2012;56(4):420-432. doi:10.1111/j.1399-6576.2011.02600.x
39. Kharasch, E.D., Frink, E.J., Artru, A., Michalowski, P., Rooke, G.A., Nogami, W., 2001. Long-duration low-flow sevoflurane and isoflurane effects on postoperative renal and hepatic function. *Anesth. Analg.* 93, 1511–1520. <https://doi.org/10.1097/0000539-200112000-00036>
40. Neghab, M., Amiri, F., Soleimani, E., Yousefinejad, S., Hassanzadeh, J., 2020. Toxic responses of the liver and kidneys following occupational exposure to anesthetic gases. *EXCLI J*. 19, 418–429. <https://doi.org/10.17179/excli2019-1911>
41. Arici S, Karaman S, Dogru S, et al. Effects of isoflurane in an intoxication model: experimental study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17(13):1738-1743.
42. Mazze RI, Calverley RK, Smith NT. Inorganic fluoride nephrotoxicity: prolonged enflurane and halothane anesthesia in volunteers. *Anesthesiology*. 1977;46(4):265-271.

43. Safari S, Motavaf M, Seyed Siamdoust SA, Alavian SM. Hepatotoxicity of halogenated inhalational anesthetics. *Iran Red Crescent Med J.* 2014;16(9):e20153. Published 2014 Sep 5. doi:10.5812/ircmj.20153
44. Fee JP, Thompson GH. Comparative tolerability profiles of the inhaled anaesthetics. *Drug Saf.* 1997;16(3):157-170. doi:10.2165/00002018-199716030-00002
45. Cohen EN. Toxicity of inhalation anaesthetic agents. *Br J Anaesth.* 1978;50:665-75.
46. Caciari T, Capozzella A, Tomei F, Fiaschetti M, Schifano MP, Gioffrè PA, et al. Professional exposure to anaesthetic gases in health workers: estimate of some hepatic and renal tests. *Clin Ter.* 2013;164:e5-9.
47. Klaassen CD, Amdur MO. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. New York: McGraw-Hill, 2013.
48. CDC, The National Institute of Safety and Health, Hierarchy of Controls, disponibile su: <https://www.cdc.gov/niosh/topics/hierarchy/default.html>
49. D.lgs. 9 aprile 2008, n. 81, Testo coordinato con il D.Lgs. 3 agosto 2009, n. 106. Testo unico sulla salute e sicurezza sul lavoro. Aggiornamento gennaio 2023
50. INAIL, Istituto Nazionale per l'Assicurazione contro gli Infortuni sul Lavoro, Sorveglianza Sanitaria, disponibile su: <https://www.inail.it/cs/internet/attivita/prevenzione-e-sicurezza/conoscere-il-rischio/agenti-cancerogeni-e-mutageni/sorveglianza-sanitaria.html>
51. Barr J, Fraser GL, Puntillo K, Ely EW, Gélinas C, Dasta JF, Davidson JE, Devlin J W, Kress JP, Joffe AM, et al.; American College of Critical Care Medicine. Clinical practice guidelines for the management of pain, agitation, and delirium in adult patients in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2013;41:263–306
52. CDC, The National Institute for Occupational Safety and Health, Controlling Exposures to Nitrous Oxide During Anesthetic Administration, disponibile su: <https://www.cdc.gov/niosh/docs/94-100/>

53. Sahlman L, Henriksson BA, Martner J, Ricksten SE. Effects of halothane, enflurane, and isoflurane on coronary vascular tone, myocardial performance, and oxygen consumption during controlled changes in aortic and left atrial pressure. Studies on isolated working rat hearts in vitro. *Anesthesiology*. 1988 Jul;69(1):1-10.
54. Burburan SM, Xisto DG, Rocco PR. Anaesthetic management in asthma. *Minerva Anesthesiol*. 2007 Jun;73(6):357-65.
55. Sleight JW, Vizuete JA, Voss L, Steyn-Ross A, Steyn-Ross M, Marcuccilli CJ, Hudetz AG. The electrocortical effects of enflurane: experiment and theory. *Anesth Analg*. 2009 Oct;109(4):1253-62.
56. Fang ZX, Eger EI 2nd, Laster MJ, Chortkoff BS, Kandel L, Ionescu P. Carbon monoxide production from degradation of desflurane, enflurane, isoflurane, halothane, and sevoflurane by soda lime and Baralyme. *Anesth Analg*. 1995 Jun;80(6):1187-93. doi: 10.1097/00000539-199506000-00021. PMID: 7762850.
57. Colin-Chevalier R, Dutheil F, Cambier S, et al. Methodological Issues in Analyzing Real-World Longitudinal Occupational Health Data: A Useful Guide to Approaching the Topic. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(12):7023. Published 2022 Jun 8. doi:10.3390/ijerph19127023
58. Diggle, P.; Heagerty, P.; Liang, K.-Y.; Zeger, S. *Analysis of Longitudinal Data*, 2nd ed.; OUP: Oxford, UK, 2002; 396p.
59. Fitzmaurice, G.M.; Laird, N.M.; Ware, J.H. *Applied Longitudinal Analysis*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2012; 742p.
60. Caruana EJ, Roman M, Hernández-Sánchez J, Solli P. Longitudinal studies. *J Thorac Dis*. 2015;7(11):E537-E540. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2015.10.63
61. Edwards LJ. Modern statistical techniques for the analysis of longitudinal data in biomedical research. *Pediatr Pulmonol*. 2000;30(4):330-344. doi:10.1002/1099-0496(200010)30:4<330::aid-ppul10>3.0.co;2-d
62. Weiss, R.E. *Modeling Longitudinal Data*; Springer Science & Business Media: New York, NY, USA, 2005; 445p.
63. Snijders, T.A.B.; Bosker, R.J. *Multilevel Analysis: An Introduction to Basic and Advanced Multilevel Modeling*, 2nd ed.; SAGE: Thousand Oaks, CA, USA, 2011; 370p.

64. Begg MD, Parides MK. Separation of individual-level and cluster-level covariate effects in regression analysis of correlated data. *Stat Med.* 2003;22(16):2591-2602. doi:10.1002/sim.1524
65. Hox, J.J.; Moerbeek, M.; van de Schoot, R. *Multilevel Analysis: Techniques and Applications*, 3rd ed.; Routledge: Abingdon, UK, 2017; 365p.
66. Hedeker, D.; Gibbons, R.D. Application of random-effects pattern-mixture models for missing data in longitudinal studies. *Psychol. Methods* 1997, 2, 64–78.
67. Donner, A. The Relative Effectiveness of Procedures Commonly Used in Multiple Regression Analysis for Dealing with Missing Values. *Am. Stat.* 1982, 36, 378–381.
68. Little, R.J.A.; Rubin, D.B. *Statistical Analysis with Missing Data*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: New York, NY, USA, 2002.
69. Liu C, Cripe TP, Kim MO. Statistical issues in longitudinal data analysis for treatment efficacy studies in the biomedical sciences. *Mol Ther.* 2010;18(9):1724-1730. doi:10.1038/mt.2010.127
70. Verbeke, G. Linear Mixed Models for Longitudinal Data. In *Linear Mixed Models in Practice: A SAS-Oriented Approach*; Lecture Notes in Statistics; Verbeke, G., Molenberghs, G., Eds.; Springer: New York, NY, USA, 1997; pp. 63–153.
71. Laird NM, Ware JH. Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics.* 1982;38(4):963-974.
72. Cnaan, A.; Laird, N.M.; Slasor, P. Using the general linear mixed model to analyse unbalanced repeated measures and longitudinal data. *Stat. Med.* 1997, 16, 2349–2380.
73. McCulloch, C.E.; Neuhaus, J.M. Generalized Linear Mixed Models. In *Encyclopedia of Biostatistics*; American Cancer Society: Atlanta, GA, USA, 2005.
74. Van Belle, G.; Fisher, L.D.; Heagerty, P.J.; Lumley, T. *Biostatistics: A Methodology for the Health Sciences*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2004; 895p.
75. Manolio TA, Burke GL, Savage PJ, et al. Sex- and race-related differences in liver-associated serum chemistry tests in young adults in the CARDIA study. *Clin Chem.* 1992;38(9):1853-1859.
76. Salvaggio A, Periti M, Miano L, Tavanelli M, Marzorati D. Body mass index and liver enzyme activity in serum. *Clin Chem.* 1991;37(5):720-723.

77. O'Leary JG, Wong F, Reddy KR, et al. Gender-Specific Differences in Baseline, Peak, and Delta Serum Creatinine: The NACSELD Experience. *Dig Dis Sci*. 2017;62(3):768-776. doi:10.1007/s10620-016-4416-7
78. Accorsi A, Valenti S, Barbieri A, Raffi GB, Violante FS. Proposal for single and mixture biological exposure limits for sevoflurane and nitrous oxide at low occupational exposure levels. *Int Arch Occup Environ Health*. 2003;76(2):129-136. doi:10.1007/s00420-002-0379-4