

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Impatto sulla salute dei siti inquinati:
metodi e strumenti per la ricerca e le valutazioni**

A cura di
Pietro Comba (a) Fabrizio Bianchi (b) Ivano Iavarone (a) e Roberta Pirastu (c)

*(a) Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

*(b) Istituto di Fisiologia Clinica, Sezione di Epidemiologia,
Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pisa*

*(c) Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo,
La Sapienza Università di Roma*

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

07/50

Istituto Superiore di Sanità

Impatto sulla salute dei siti inquinati: metodi e strumenti per la ricerca e le valutazioni.

A cura di Pietro Comba, Fabrizio Bianchi, Ivano Iavarone e Roberta Pirastu

2007, ii, 217 p. Rapporti ISTISAN 07/50

Il presente Rapporto fa seguito ai precedenti Rapporti ISTISAN 05/1 “Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell’Unione Europea” e Rapporti ISTISAN 06/19 “Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità”, presentando una serie di approfondimenti relativi a quattro principali aree tematiche. Questo Rapporto in primo luogo, affronta il tema di quale sia il contributo dell’epidemiologia alla valutazione dell’impatto sanitario nei siti inquinati. Il secondo tema affrontato è quello dei meccanismi biologici soggiacenti ai fenomeni che, a livello di popolazione, si indagano con approccio epidemiologico. La terza sezione è relativa a una serie di approfondimenti in campo statistico, in particolare il ruolo della deprivazione socio-economica, il rischio di risultati falsamente positivi a causa dei confronti multipli e le condizioni per effettuare la metanalisi in epidemiologia ambientale. Il quarto gruppo di contributi fornisce basi scientifiche per il disegno di studi epidemiologici relativi ad agenti neurotossici, cancerogeni chimici e fibre di amianto.

Parole chiave: Studio epidemiologico, Siti inquinati, Valutazione d’impatto sanitario

Istituto Superiore di Sanità

Health impact in contaminated sites: methods and instruments for research and evaluation.

Edited by Pietro Comba, Fabrizio Bianchi, Ivano Iavarone and Roberta Pirastu

2007, ii, 217 p. Rapporti ISTISAN 07/50

Following previous Rapporti ISTISAN 05/1 “Epidemiological studies in sites of National interest for environmental remediation in Italian regions funded by European Union structural funds”, and Rapporti ISTISAN 06/19 “Epidemiologic studies in polluted sites: scientific background, methodology, management, and aspects of equity”, this Report presents a series of contributions that bring further elements on four major issues. First, the contribution of epidemiology to health impact assessment in contaminated sites is addressed. The second point is the understanding of biological mechanisms underlying the associations observed by epidemiological studies at population level. The third one deals with some relevant statistical aspects, namely the role of socioeconomic deprivation, the risk of falsely positive results due to multiple testing and the requirements for performing meta-analyses in environmental epidemiology. The fourth group of contributions is aimed at providing scientific foundations to epidemiological studies on neurotoxic agents, chemical carcinogens and asbestos fibres.

Key words: Epidemiological study, Contaminated sites, Health impact evaluation

Si ringrazia Daniele Savelli del Reparto di Epidemiologia Ambientale per la sua preziosa collaborazione nelle fasi di stesura del presente Rapporto, svolta con elevata competenza e grande impegno. Si ringrazia inoltre Cinzia Carboni del Reparto di Epidemiologia Ambientale per la sua efficace e qualificata attività di ricerca e reperimento delle fonti bibliografiche, supporto tecnico alla redazione del Rapporto e contributo all’organizzazione degli incontri di lavoro relativi alla trattazione dei temi in oggetto.

Per informazioni su questo documento scrivere a: pietro.comba@ss.it.

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Comba P, Bianchi F, Iavarone I, Pirastu R. (Ed.). *Impatto sulla salute dei siti inquinati: metodi e strumenti per la ricerca e le valutazioni*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2007. (Rapporti ISTISAN 07/50).

Presidente dell’Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2007

INDICE

Introduzione

| | |
|----------------------------------|---|
| <i>Luciana Gramiccioni</i> | 1 |
|----------------------------------|---|

SEZIONE 1

Il contributo dell'epidemiologia alla valutazione di impatto sulla salute dei siti inquinati

| | |
|--|----|
| Prospettive di sorveglianza ambiente e salute | |
| <i>Fabrizio Bianchi</i> | 5 |
| Impatto sanitario nei siti inquinati: caratterizzazione epidemiologica e ruolo delle ipotesi a priori | |
| <i>Roberto Pasetto, Marta Benedetti, Lucia Fazzo, Ivano Iavarone, Stefania Trinca, Pietro Comba</i> | 22 |
| Mortalità nei siti inquinati: utilizzo delle cause multiple | |
| <i>Susanna Conti, Stefano Maria D'Ottavi, Giada Minelli</i> | 37 |
| Risarcimento del danno ambientale: aspetti medico legali | |
| <i>Carlo Bracci, Gabriele Norcia</i> | 42 |

SEZIONE 2

Indicatori di esposizione, suscettibilità e danno precoce nei siti inquinati: elementi metodologici e applicativi

| | |
|--|-----|
| Rischio sanitario e ambientale associato ai siti inquinati | |
| <i>Loredana Musmeci, Mirella Bellino, Eleonora Beccaloni, Fabrizio Falleni, Maria Rita Cicero, Federica Scaini</i> | 51 |
| Contaminazione ambientale da metalli e composti organoalogenati: il biomonitoraggio in indagini di ricerca e di sorveglianza epidemiologica | |
| <i>Ivano Iavarone</i> | 57 |
| Meccanismi di biodisponibilità nel suolo di contaminanti ambientali persistenti | |
| <i>Gianniantonio Petruzzelli, Francesca Pedron</i> | 68 |
| Contaminanti ambientali e cancerogenesi: esempi di meccanismi d'azione | |
| <i>Gabriele Aquilina</i> | 76 |
| Monitoraggio biologico dei metalli pesanti | |
| <i>Nicola Violante, Francesco Petrucci, Sergio Costantini, Maria Ciprotti, Sonia D'Ilio, Oreste Senofonte</i> | 93 |
| Biomonitoraggio umano nella stima dell'esposizione a inquinanti organici persistenti | |
| <i>Elena De Felip</i> | 103 |
| Indicatori di effetto precoce e di suscettibilità genetica per il rischio cancerogeno in relazione alla contaminazione ambientale | |
| <i>Andrea Zijno, Riccardo Crebelli, Mariarosaria D'Errico, Eugenia Dogliotti</i> | 110 |

SEZIONE 3

Aspetti statistici degli studi sui siti inquinati

| | |
|--|-----|
| Uso dell'indice di deprivazione materiale in epidemiologia descrittiva <i>Laura Grisotto, Dolores Catelan, Corrado Lagazio, Annibale Biggeri</i> | 123 |
| Sorveglianza epidemiologica e identificazione degli eccessi in epidemiologia descrittiva <i>Dolores Catelan, Annibale Biggeri</i> | 135 |
| Metanalisi ed eterogeneità in epidemiologia ambientale <i>Michela Baccini, Annibale Biggeri</i> | 144 |
| Analisi di mortalità in un sito con sorgenti localizzate: il caso di Taranto <i>Maria Angela Vigotti, Domenica Cavone, Antonella Bruni, Sante Minerba, Michele Conversano</i> | 155 |
| Analisi di correlazione geografica tra esiti sanitari ed esposizione a rifiuti in un'area con sorgenti diffuse: il caso delle Province di Napoli e Caserta <i>Fabrizio Minichilli, Francesco Mitis</i> | 166 |

SEZIONE 4

Basi scientifiche per indagini mirate

| | |
|---|-----|
| Effetti sul sistema nervoso dell'esposizione ambientale a neurotossine <i>Nicola Vanacore, Francesca Galeotti</i> | 183 |
| Residenza in prossimità di industrie petrolchimiche: componente ambientale e occupazionale del rischio cancerogeno <i>Roberta Pirastu, Alessandro Marinaccio, Roberto Pasetto</i> | 189 |
| Sorveglianza epidemiologica e sanitaria in siti inquinati da amianto <i>Amerigo Zona, Caterina Bruno</i> | 197 |

Considerazioni conclusive

| | |
|--|-----|
| Il ruolo dell'epidemiologia nella valutazione dell'impatto di salute nei siti inquinati <i>Benedetto Terracini</i> | 211 |
|--|-----|

INTRODUZIONE

Luciana Gramiccioni

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il presente Rapporto è il terzo di una serie relativa allo studio dello stato di salute delle popolazioni che risiedono nei siti inquinanti. I precedenti Rapporti, lo 05/1: "Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea", a cura di L. Cori, M. Cocchi e P. Comba, e lo 06/19: "Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità" a cura di F. Bianchi e P. Comba, avevano tracciato il quadro generale entro il quale si colloca la materia da trattare, attraverso elaborazioni concettuali e analisi di alcune situazioni concrete. Nel Workshop tenutosi al CNR il 14 dicembre 2006 fu discusso come procedere, ed emersero alcune indicazioni di priorità (Cori *et al.*, 2007, Not Ist Super Sanità 2007;20(2):3-7). Su queste basi, nel 2007, autori appartenenti a diverse istituzioni hanno prodotto il presente Rapporto, con approfondimenti relativi a quattro principali aree tematiche.

In primo luogo, si affronta il tema di quale sia il contributo dell'epidemiologia alla valutazione dell'impatto sanitario nei siti inquinati evidenziando la stretta connessione fra la qualità dei protocolli degli studi, la persuasività scientifica dei risultati e il loro potenziale utilizzo nella valutazione dei nessi causali. Da questo percorso derivano applicazioni rilevanti per l'individuazione delle priorità del risanamento ambientale, e può venire un contributo per stimare l'entità del danno ambientale alla salute.

Il secondo tema affrontato è quello dei meccanismi biologici soggiacenti ai fenomeni indagati a livello di popolazione attraverso le indagini epidemiologiche. L'attuale orientamento della comunità scientifica che si occupa di salute e ambiente è quello di integrare i livelli individuale-biologico e di popolazione senza far collassare l'uno sull'altro. In questo quadro, una disamina aggiornata delle questioni che connotano l'utilizzo degli indicatori di esposizione, suscettibilità e danno precoce nei siti inquinati, risulta del massimo interesse e pone le basi per una nuova generazione di studi che coniughino la dimensione di popolazione e la consapevolezza dei meccanismi patogenetici.

La terza sezione del Rapporto è relativa a una serie di approfondimenti in campo statistico. Tre dei cinque contributi di questa sezione sono stati realizzati dal Prof. Biggeri dell'Università di Firenze, che con i suoi collaboratori, ha aderito con entusiasmo alla proposta formulata dagli curatori del Rapporto trattando tre temi fondamentali: il ruolo della deprivazione socioeconomica, il rischio di risultati falsamente positivi a causa dei confronti multipli, e le condizioni per effettuare le metanalisi in epidemiologia ambientale.

Infine, il quarto gruppo di contributi si propone di fornire basi scientifiche per lo sviluppo di indagini epidemiologiche mirate in tre specifici ambiti tematici: esposizione ad agenti neurotossici, a cancerogeni chimici, a fibre di amianto. Si tratta di scenari di esposizione che ricorrono con una certa frequenza nei siti inquinati, e che richiedono agli operatori della sanità pubblica conoscenze aggiornate e familiarità con le più accreditate metodologie d'indagine.

Circa la metà dei contributi qui raccolti sono stati prodotti dai ricercatori di diversi reparti del Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria di questo Istituto. Molte altre istituzioni hanno fornito preziosi contributi, e si è creata una rete di sinergie che auspicabilmente durerà nel tempo, con l'obiettivo di rispondere sempre meglio alla richiesta di chiarire le correlazioni fra ambiente e salute e di fornire basi scientifiche ai processi decisionali su questi temi.

SEZIONE 1

Il contributo dell'epidemiologia alla valutazione di impatto sulla salute dei siti inquinati

PROSPETTIVE DI SORVEGLIANZA AMBIENTE E SALUTE

Fabrizio Bianchi

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Fisiologia Clinica, Sezione di Epidemiologia, Pisa

Introduzione

Sistemi di sorveglianza di malattie non trasmissibili sono stati attivati fino dagli anni '80 per identificare precocemente incrementi o *cluster* di eventi, fornire strumenti per gestire allarmi che possono provenire anche da segnalazioni episodiche, dare indicazioni per indagare le cause mediante indagini epidemiologiche analitiche (1).

La definizione di sorveglianza è andata via via affinandosi, da quella di Langmuir maturata nel campo delle malattie trasmissibili, che può essere ritenuta la capostipite "Osservazione in continuo della distribuzione e dell'andamento di incidenza attraverso la rilevazione sistematica, la preparazione e la valutazione di rapporti di morbidità, mortalità e altri dati rilevanti e la regolare diffusione di dati verso tutti coloro che hanno il desiderio (o necessità) di conoscere" (2), ad altre più recenti a cura del CDC "Raccolta sistematica in continuo, analisi e interpretazione di dati sanitari essenziali per pianificare, implementare e valutare il sistema sanitario pubblico, da integrare strettamente all'attività di diffusione, a cadenza periodica, di tali dati nei confronti di tutti coloro che sono interessati. L'anello finale della catena è costituito dall'applicazione di questi dati nella prevenzione e controllo (3, 4).

Tra gli aspetti principali da cogliere si segnala la presenza fino dalla prima definizione di attenzione alla diffusione dei risultati verso gli interessati a conoscere e, nelle formalizzazioni più recente, l'esplicito riferimento all'uso dei risultati a fini di prevenzione e l'allargamento di orizzonte ai settori dei rischi ambientali, dei comportamenti, degli incidenti, delle malattie croniche e delle condizioni avverse per la salute materna e del bambino (5).

Nel corso dello sviluppo dei sistemi di sorveglianza sono andate precisandosi e aggiungendosi scopi e motivazioni d'uso, che attualmente sono riassumibili in:

- guidare azioni immediate di sanità pubblica;
- misurare il carico di malattia, fattori associati e rischi per la popolazione;
- monitorare andamenti, incluso la identificazione di epidemie e pandemie;
- guidare la pianificazione, l'implementazione e la valutazione di programmi per prevenire e controllare malattie, incidenti o esposizioni;
- identificare cambiamenti nelle pratiche sanitarie e i loro effetti;
- suggerire priorità per l'allocazione di risorse per la sanità pubblica;
- descrivere la storia naturale della malattia;
- fornire basi per la ricerca epidemiologica (6).

Dalle definizioni e utilizzi della sorveglianza della salute pubblica risulta ben visibile l'indirizzo agli effetti sulla salute (es. malattie, disabilità, incidenti) e l'assenza di riferimento a tutto quanto c'è e c'è stato a monte dell'effetto: dai fattori ambientali di pericolo e rischio, all'esposizione a tali fattori, ambedue processi rilevanti nelle attività di gestione e controllo dell'ambiente a scopi di sanità pubblica.

La crescita di attenzione sul legame tra pressioni ambientali e potenziali effetti sulla salute ha comportato una parallela crescita di consapevolezza della necessità di sviluppare la sorveglianza in campo ambiente e salute.

Da sorveglianze su ambiente e malattie a sorveglianza ambiente-salute

Passare da un sistema di sorveglianza epidemiologica “generalista” ad un sistema di sorveglianza epidemiologica “mirato” ad aree inquinate, presuppone almeno la condivisione di due assunzioni:

- a) che sia documentata la presenza di pressioni ambientali riconosciute o ipotizzate dannose per la salute umana (lo stesso concetto si potrebbe declinare parlando di fattori ambientali che costituiscono pericolo e rischio per la salute);
- b) che sia accettata la modalità di affrontare il problema non attraverso sorveglianze separate sull’ambientale e la salute, bensì mediante una sorveglianza integrata su ambiente e salute.

Il primo di questi assunti è facilitato in aree ad elevato rischio di crisi ambientale, nei siti di interesse nazionale per le bonifiche e in aree considerate, in modi diversi, ad alta pressione ambientale ⁽¹⁾.

Vedremo in seguito che le difficoltà si spostano sulla definizione delle aree e dei gruppi esposti, tema per altro affrontato estesamente da due articoli di Comba e Iavarone nel precedente rapporto ISTISAN dedicato ai siti inquinati (7, 8).

Il secondo assunto è il tema principale del presente lavoro e sarà oggetto di argomentazioni, discussione e di una proposta operativa.

Agli argomenti dei due assunti corrispondono due distinti tipi di sorveglianza: dei fattori di pericolo e rischio presenti nell’ambiente e dell’esposizione a tali fattori.

La sorveglianza dei fattori di pericolo e di rischio consiste nella valutazione, dell’occorrenza, della distribuzione e dell’andamento dei livelli di agenti pericolosi (sostanze chimiche tossiche, agenti fisici, fattori biomeccanici, agenti biologici) riconosciuti o ipotizzati responsabili di malattie (9).

La sorveglianza dell’esposizione consiste nel monitoraggio di soggetti appartenenti alla popolazione target, mirato alla misura di marcatori di esposizione o parametri di modificazione fisiologica o anche di effetti clinicamente non apparenti (pre- o sub-clinici) (10).

Mentre l’attività di sorveglianza di malattie infettive, malattie croniche, incidenti è stata definita, formalizzata e sperimentata da molto tempo, e l’attività di monitoraggio di inquinanti ambientali ha visto un grande slancio negli ultimi anni, più critica e immatura appare la componente relativa all’esposizione, sulla quale vale la pena soffermarsi maggiormente.

È a questo punto evidente che la capacità di mettere in relazione tra loro le tre componenti di sorveglianza su pericoli, esposizioni e malattie, costituisce la chiave per realizzare un processo

⁽¹⁾ Le prime, introdotte nel quadro normativo italiano con la Legge n. 349 dell’8 luglio 1986, sulla base di una compromissione dell’ambiente «non contrastabile con mezzi ordinari», a causa di inquinamento dovuto a un particolare polo produttivo, presenza di fonti diffuse di contaminazione o dissesto idrogeologico. I siti di interesse nazionale per le bonifiche, oggi 54 in Italia, sono stati identificati dalla Legge 426/1998 con riferimento alla contaminazione dei suoli e alla presenza di rifiuti tossici. Altre zone sotto attenzione sono quelle interessate dalla presenza di amianto (articolo 20 della Legge n. 93 del 23 marzo 2001), le migliaia di siti di bonifica di interesse regionale e le aree con particolari insediamenti produttivi, come i 1.120 stabilimenti a rischio di incidente rilevante (DL.vo 334/1999), gli inceneritori di rifiuti, le centrali di produzione di energia elettrica. Altre aree a forte pressione ambientale sono state identificate attraverso indagini svolte da gruppi di ricercatori indipendentemente dalle normative di legge (11).

completo di sorveglianza su ambiente e salute per la sanità pubblica, come schematizzato in Figura 1.

Una definizione di sistema di sorveglianza ambiente e salute è “la sistematica e continua raccolta, archiviazione e analisi di dati relativi a malattie correlate all’ambiente, a rischi e esposizioni ambientali, e la tempestiva diffusione di informazioni a coloro che hanno bisogno di tali conoscenze decidere azioni” (10, 12) ⁽¹⁾.

| | | |
|--|--|-------------------------------|
| ↓ | L’agente costituisce un pericolo per ambiente e salute | |
| | L’agente è presente nell’ambiente | Sorveglianza dei pericoli |
| | Esiste una via di esposizione | |
| | Ci sono soggetti esposti all’agente | Sorveglianza dell’esposizione |
| | L’agente raggiunge organi e tessuti bersaglio | |
| | L’agente produce effetti avversi non apparenti | |
| Gli effetti avversi diventano clinicamente apparenti | Sorveglianza di effetti sulla salute | |

Figura 1. Processo attraverso il quale un agente ambientale produce un effetto avverso e relativo tipo di sorveglianza sanitaria

Per costruire un sistema di sorveglianza su ambiente e salute in grado di individuare cambiamenti di esposizioni riconosciute rischiose o dannose per la salute e identificare agenti nocivi precedentemente non conosciuti, bene si comprende l’importanza di avere dati pianificati su esposizioni ed effetti riconosciuti o ipotizzati associati.

La necessità di evoluzione verso un sistema di sorveglianza di indicatori ambiente-salute è stata recentemente affrontata sia in termini generali (13) sia in aree inquinate (11).

Anticipiamo da subito quattro elementi di maggiore preoccupazione, sui quali ci soffermeremo più volte nel prosieguo:

- Capacità limitate nell’identificare cause ambientali specifiche della maggior parte degli eventi avversi di salute. Queste limitazioni sono particolarmente restrittive nel caso di malattie con lungo periodo di induzione-latenza, specie se la causa è dovuta all’azione di fattori non persistenti nel corpo umano, che non producono effetti singoli o marcatori identificabili, o non sono riferibili a fonti o aree inquinanti con caratterizzazione tossicologica conosciuta;
- Bassa utilizzabilità di dati rilevati per altri scopi, almeno nello stato di archiviazione corrente, in particolare per problemi di registrazione e disponibilità in tempi utili, di incompletezza e scarsa qualità del dato riferito all’*outcome*, di riferibilità alla popolazione target;
- La difficile gestione degli allarmi pubblici in relazione alle conoscenze scientifiche e al contesto sociale in cui vengono prese le decisioni;
- Il ruolo crescente dell’uso di marcatori biologici per fornire misure dirette dell’assorbimento giornaliero e del carico corporeo di sostanze inquinanti, o anche misure indirette di stati alterati di risposta fisiologica o immunologia alterata (es affezioni renali croniche legate ad esposizione a cadmio o varie polveri allergeniche) (14). Allo stesso argomento sono dedicati i contributi di Iavarone, Violante *et al.*, De Felip, pubblicati nel presente volume.

⁽¹⁾ In US “Environmental health surveillance” e “*environmental health tracking*” vengono considerati sinonimi

Inquadramento metodologico

In campo biomedico e di sanità pubblica la sorveglianza è un'attività di "Osservazione sistematica":

- a) Sperimentazione di laboratorio e sperimentazioni cliniche controllate
- b) Osservazione pianificata (indagine epidemiologica analitica)
- c) Osservazione sistematica (sorveglianza epidemiologica)
- d) Osservazione non sistematica (attenzione epidemiologica, con segnalazione episodica di casistica-clusters)

Mentre le prime due tipologie sono attività di ricerca biomedica per la sanità pubblica, la sorveglianza epidemiologica, così come il blocco delle attività di osservazione non sistematica, è una attività di sanità pubblica. Ovviamente, la componente di ricerca gioca un ruolo fondamentale per lo sviluppo di metodi e strumenti che incrementano la validità e le prestazioni di sorveglianza.

Tutto questo vale anche per la sorveglianza in **aree inquinate circoscritte**, che in relazione alle caratteristiche locali assume alcuni elementi critici più o meno pronunciati che debbono essere tenuti di conto in fase di progettazione del sistema:

- rarità delle patologie sensibili specifiche o elevata frequenza di malattie sensibili ma aspecifiche (*es. linfomi non Hodgkin o tumori del polmone*)
- bassa percentuale di esposti ad agenti specifici rispetto alla popolazione considerata esposta o comunque posta sotto sorveglianza come unicum;
- moderato potere cancerogeno, mutageno e/o teratogeno della maggior parte degli agenti ambientali;
- eterogeneità di esposizione (*cofattori, effetti di confondimento, modificazione, interazione*)
- suscettibilità genetica (*polimorfismi, interazioni gene-gene e gene-ambiente*).

A fronte di questi elementi critici esistono approcci, metodi e strumenti che rendono possibile, oltre che opportuna, l'implementazione di una sorveglianza in aree inquinate circoscritte. Aspetti epidemiologici e statistici di stretto interesse ai fini del presente lavoro sono affrontati dai lavori di Pasetto *et al.*, Catelan *et al.*, Baccini *et al.* pubblicati nel presente volume.

Le basi del sistema di sorveglianza ambiente e salute

Fonti informative

Per permettere valutazioni integrate c'è bisogno di sistemi informativi finalizzati a valutare il rischio ambientale per la salute umana che siano in grado di dialogare tra loro.

A questo scopo è utile definire un sistema di indicatori ambiente e salute (IAS), che diano informazioni utili ai decisori, siano di supporto alla gestione dei rischi e aiutino a rispondere a preoccupazioni delle comunità locali. Per questo sono necessarie informazioni su:

- patologie che vengono relazionate a cause ambientali,
- potenziali fattori di rischio,
- esposizioni che rappresentano un potenziale pericolo per la salute della popolazione e di gruppi più vulnerabili.

Il compito della definizione degli IAS trae vantaggio dalla grande mole di lavoro effettuata a livello europeo e che ha prodotto la lista ECOEHIS (15).

Dunque, occorre identificare una serie di variabili di tipo ambientale e sanitario per le quali devono essere attivi (o attivati) i flussi informativi necessari, secondo la cadenza temporale e l'aggregazione geografica specificata dall'indicatore, in maniera omogenea negli anni e nei diversi ambiti territoriali.

Gli archivi del sistema potranno essere alimentati da:

- Fonti informative sanitarie correnti (mortalità, ricoveri, CEDAP, consumo farmaci, ecc.)
- Registri di patologia (tumori, mesoteliomi, malformazioni congenite)
- Indagini ad hoc

Le statistiche correnti non permettono in generale di sorvegliare l'incidenza (nuovi casi) degli eventi, anche se per mezzo dei primi ricoveri in ospedale per alcune patologie si possono ricavare stime attendibili (16).

I registri di patologia permettono la conoscenza delle fluttuazioni nel tempo dell'incidenza di patologie ambiente-correlate, tuttavia poiché essi operano di solito in regioni geografiche limitate, le fluttuazioni temporali possono avere la necessità di essere confrontate in più regioni, a livello nazionale e internazionale.

Per assolvere queste funzioni i registri devono avere dimensioni adeguate, elemento che richiama l'importanza della partecipazione dei registri stessi a reti collaborative che garantiscono standard elevati di qualità e confronto.

A proposito delle caratteristiche di rilevazione e registrazione, qualità, completezza disponibilità, citate in precedenza, l'argomento è stato trattato in moltissime occasioni e per lo specifico dei siti inquinati nei due volumi ISTISAN 05/1 e 06/19 (17, 18).

In questa sede è utile ricordare l'esperienza di sistematizzazione delle fonti dei dati usati negli US a supporto del sistema di sorveglianza ambiente e salute pubblica, che per ogni fonte informativa prevede che siano riportati:

- categoria di tipo di evento (pericolo, esposizione, effetto);
- dimensione del programma (nazionale, statale),
- organizzazione responsabile (es. EPA, ATSDR, NIDA, NIH),
- fonte dei dati (es. sistema di monitoraggio, indagini di popolazione, flussi informativi sanitari, registri di patologia, medici di famiglia, ecc.),
- limitazioni dei dati (ritardo di disponibilità, incompletezza, non rappresentatività, bassa qualità, difficoltà di disaggregazione) (10).

Protocollo per la sorveglianza e l'identificazione di allarmi

Per identificare situazioni di allarme e testare rapidamente ipotesi esplicative lo stesso allarme, che si tratti di un fattore ambientale specifico del quale è sospetto il meccanismo di azione o che non ci sia un'ipotesi causale a priori, occorre dotare il sistema di un protocollo di indagine-analisi basato su eventi sentinella, analisi periodiche, monitoraggio statistico.

Il primo tipo consiste di eventi così rari che il solo loro verificarsi costituisce motivo di allarme. Sul piano ambientale sono da considerarsi tali tutti quegli eventi anomali che non possono essere ritenuti casuali, come molte tipologie di incidenti; sul piano degli eventi di salute sono disponibili liste di malattie che possono costituire metodo e base informativa di riferimento per identificare associazioni con cause ambientali (19).

Analisi periodiche e monitoraggio statistico

La valutazione dell'andamento nel tempo e nello spazio viene effettuata sia mediante analisi al termine di periodi prefissati (periodiche) sia in continuo, cioè via via che gli eventi si verificano.

Per le **analisi periodiche**, le valutazioni si basano su test a posteriori, solitamente di tipo concettualmente semplice, di facile esecuzione e comprensione, quali a esempio il test Chi-quadro per il trend (20, 21) o il rapporto tra casi osservati e casi attesi, in forma non o standardizzata per altri parametri. Non di rado viene fatto ricorso anche a tecniche più sofisticate come il metodo della finestra mobile o SCAN (22, 23).

Per le **analisi in continuo** esistono metodi che tengono conto, in vario modo, degli eventi che si verificano. Questi metodi di analisi sequenziale, definiti anche "autorinforzanti" in quanto rafforzano la loro prestazione cumulando gli eventi precedenti, hanno bisogno di dati disaggregati nel tempo, e di tecniche più sofisticate, che a fronte di maggiore difficoltà concettuale ed esecutiva hanno il pregio di offrire migliori prestazioni.

I metodi più conosciuti e utilizzati sono le carte cumulative di controllo o CUSUM (24), il metodo SETS (25) e sue modificazioni (26), e diversi altri prevalentemente sofisticati (27), non molto impiegati a causa dei requisiti stringenti sui dati necessari e del non facile uso a livello locale.

La scelta del metodo è una fase piuttosto delicata perché in talune situazioni può comportare importanti conseguenze in termini di risultati raggiungibili.

Nell'esempio che segue (Tabella 1) si possono apprezzare le differenze di prestazione di tre tecniche, valutata in termini di numero di casi attesi prima di evidenziare un vero allarme: al diminuire del valore dell'incremento di rischio da evidenziare si assiste ad una progressiva migliore prestazione delle CUSUM, rispetto agli altri 2 metodi, tra i quali quello basato sul semplice rapporto tra osservati e attesi risulta sempre il meno prestante.

Tabella 1. Confronto fra tre tecniche statistiche di monitoraggio

| Incremento di rischio | N. attesi in Ho | Errore di I tipo (a) | N. attesi in H1 (b) | | |
|-----------------------|-----------------|----------------------|---------------------|--------------|-------------------|
| | | | CUSUM | SET mod. (c) | Osservati /Attesi |
| 5,11 | 0,19 | 95 | 6,8 | 5,3 | 12,1 |
| 4,11 | 0,28 | 140 | 8,1 | 7,2 | 38,4 |
| 2,90 | 0,62 | 310 | 12,6 | 13,8 | 44,9 |
| 1,97 | 1,95 | 975 | 26,9 | 40,2 | 96,0 |

Caratteristiche di taratura del sistema: A.R.L. in A.Q.L.= 500 (500 periodi prima di dare un allarme in condizioni di qualità accettabile, e A.R.L. in R.Q.L.=7 (7 periodi senza dare un allarme in condizioni di qualità di funzionamento da rifiutare) (a) eventi attesi prima di un allarme in Ho (prima di falso allarme); (b) eventi attesi in H1 (prima di un vero allarme); (c) metodo SET modificato (26)

Metodi di analisi spaziale

Nell'analisi spaziale l'interesse si sposta sull'obiettivo di individuare tendenze all'addensamento di una distribuzione di eventi (*clustering*) e di identificare gli stessi addensamenti anomali (*cluster*).

Per *cluster* si intende "un gruppo geograficamente circoscritto di eventi di dimensione e concentrazione tali da rendere improbabile che siano di natura casuale" (28).

Considerando congiuntamente un *cluster* di eventi sanitari e una esposizione ambientale, si possono delineare cinque diverse situazioni:

- il cluster è riportato senza indicazioni di possibile causa ambientale
- sono riportati sia il cluster che la potenziale causa ambientale
- il cluster è identificato dal sistema di sorveglianza
- c'è un rapporto su una o più esposizioni ambientali che rappresentano elemento di preoccupazione in relazione alla capacità di causare cluster di eventi sanitari
- è conosciuta o ipotizzata una potenziale associazione tra esposizione ambientale e eventi sanitari, degna di investigazione scientifica, non necessariamente a livello locale.

In fase di progettazione ed esecuzione della componente “spaziale” della sorveglianza è importante avere come riferimento tre criteri principali condizionanti la scelta di approccio e i relativi metodi di analisi statistica:

- l'ambito di studio (locale o globale),
- il tipo di dati sui quali si può fare affidamento, aggregati per area (sezione di censimento, distretto sanitario, sub area dell'area in studio), o individuali come punti geroriferenziati su mappa;
- il tipo di inquinamento presente sul territorio (diffuso o da sorgente singola o circoscritta).

Sulla base delle conoscenze sulla fonte di inquinamento si costruisce l'ipotesi da sottoporre a test statistico, che sarà di **tipo non focalizzato o generalizzato**, qualora si tratti di distribuzione diffusa (esempio aree disseminate da discariche illegali di rifiuti) o di **tipo focalizzato** nel caso di sorgente puntuale (esempio un impianto siderurgico, una raffineria, un inceneritore) (Tabella 2).

Tabella 2. Caratteristiche di test non-focalizzati e focalizzati per l'analisi spaziale

| Caratteristiche | Test non focalizzati (globali o locali) | Test focalizzato |
|---------------------------|---|---|
| Domanda a cui rispondere | Ci sono pattern insoliti di malattia? Vicino ad un caso particolare ci sono casi più ravvicinati di quanto atteso ? | C'è un <i>cluster</i> di casi intorno ad una sorgente localizzata? |
| Ipotesi nulla | Non esiste tendenza alla <i>clusterizzazione</i> , non esiste nessun <i>cluster</i> | Non c'è nessun <i>cluster</i> intorno al focus |
| Esempi | Studi dell'incidenza di malattie espresse come pattern di punti (ad esempio casi o dati riferiti a casi e controlli) o l'incidenza/prevalenza per piccole aree. | Studi intorno a sorgenti di inquinamento, come raffinerie, discariche, inceneritori |
| Test con dati individuali | Funzione K di Ripley (29), Statistica Scan di Kulldorff (30,31) | Regressione Logistica (32), Metodo di Diggle (33,34) |
| Test con dati aggregati | Metodi <i>bayesiani</i> empirici e gerarchici (35,36), Besag&Newell (37), Statistica di Moran (38) | Test di Stone (39), Score di Waller (40,41), Metodo di Bithell (42,43) |

L'argomento è trattato diffusamente nel presente Rapporto (Catelan e Biggeri, Baccini e Biggeri).

Riassumendo, nella scelta dei metodi di cui dotare un sistema di sorveglianza è importante tenere in considerazione:

- a) le principali caratteristiche dei metodi stessi:
 - semplicità di implementazione, uso, gestione;
 - sensibilità alle piccole variazioni;
 - possibilità di usare dati/informazioni già disponibili.

b) i principali elementi critici per il monitoraggio statistico:

- disponibilità di dati di un adeguato gruppo di controllo storico (baseline) o di riferimento geografico (popolazione standard),
- bassa frequenza attesa dell'indicatore ambiente-salute da porre sotto sorveglianza, soprattutto in aree circoscritte con ridotta popolazione residente,
- quota ridotta, spesso non conosciuta, di esposti/suscettibili sul totale della popolazione sotto sorveglianza.

Su questi argomenti presentiamo di seguito tre approfondimenti e relativi messaggi.

Importanza del contesto della sorveglianza: la metafora del pistolero texano

Sviluppiamo questo concetto col seguente esempio: *supponiamo di osservare 15 casi con Linfoma non Hodgkin concentrati in un periodo di 2 mesi*; avendo una frequenza attesa (stimata sulla base di specifico *baseline*) di 6,6 la probabilità di avere un risultato uguale o maggiore per solo effetto del caso è 0,00339.

Considerando quel bimestre nell'ambito di una osservazione della durata di 2 anni si dovranno considerare 12 possibili bimestri per cui la probabilità di avere concentrati per caso 15 eventi in almeno uno dei 12 periodi, secondo la distribuzione binomiale di probabilità, diventa = $1 - (1 - 0,00339)^{12} = 0,039$ (*in situazione di indipendenza tra periodi*).

Ma in questo modo si sono considerati solo i possibili bimestri contigui (disgiunti); ove si considerassero tutti i possibili periodi (in parte sovrapposti l'un l'altro!) il metodo SCAN (22,23) ci fornisce una probabilità di osservare per il solo effetto del caso un massimo di 15 eventi pari a 0,1365. L'esempio mostra tre risultati statistici molto diversi tra loro: altamente significativo, significativo, non significativo, a seconda dell'approccio di osservazione.

Il messaggio più generale che ne scaturisce è di non trascurare l'importanza della decisione sull'ambito (sia temporale sia spaziale che spazio-temporale) di osservazione, soprattutto per evitare l'uso scorretto dell'approccio post-hoc, ben rappresentato dalla metafora del pistolero texano (che prima spara e poi disegna il bersaglio attorno al foro provocato dal suo proiettile) (44), nel sostenere la non casualità di *cluster* di casi spontaneamente segnalati, indipendentemente da ipotesi di rischio, non distinguendo da situazioni con ipotesi a priori basate sulla presenza di rischi o esposizioni (45).

Diluizione di effetto

È quel fenomeno che accade quando si osserva una popolazione piuttosto di uno specifico gruppo esposto o suscettibile sul quale agisce un fattore di rischio.

Uno stesso effetto si può avere quando si sorveglia una categoria diagnostica a-specifica piuttosto di una diagnosi specifica (es. tutti i tumori e tumore del fegato e vie biliari) sulla quale agisce il fattore esogeno associato o ipotizzato tale.

La Tabella 3 mostra il differente impatto di un rischio relativo specifico che agisce su sottogruppi con differente proporzione di esposti: nel primo esempio un rischio relativo specifico (RRs) di 5 che agisce su una proporzione ridotta di esposti (es. di riga A = 0,5%) si diluisce in un rischio relativo globale estremamente ridotto (RRg = 1,02 nell'esempio) osservando l'intera comunità, il quale per essere evidenziato necessiterebbe di un numero di attesi elevatissimo (30.000) e di un numero minimo di osservati (numero critico di osservati) di poco più numeroso (30.285) per dare uno scostamento statisticamente significativo. All'aumentare della proporzione di esposti diminuisce l'effetto di diluizione e con esso il

numero di attesi e osservati critici, fino alla situazione della riga F in cui è tutta la popolazione ad essere esposta e quindi il RR_s è uguale al RR_g e sarà sufficiente osservare 4 casi per avere un allarme significativo rispetto a 1,10 attesi.

Tabella 3. Numero critico di casi attesi e osservati in una popolazione, necessari per mettere in evidenza un RR globale (RR_g) a partire da un rischio relativo specifico (RR_s) che agisce su gruppi diversi di esposti

| Proporzione di esposti (%) | RR _s = 5 | | | RR _s = 10 | | |
|----------------------------|---------------------|-----------|-------------------------|----------------------|-----------|-------------------------|
| | RR _g | N. atteso | N. critico di osservati | RR _g | N. atteso | N. critico di osservati |
| A) 0,5 | 1,02 | 30.000,0 | 30.285,0 | 1,05 | 6.100,0 | 6.228,0 |
| B) 1,0 | 1,04 | 7.100,0 | 7.239,0 | 1,09 | 1.600,0 | 1.666,0 |
| C) 5,0 | 1,20 | 340,0 | 370,0 | 1,45 | 40,0 | 52,0 |
| D) 10,0 | 1,40 | 49,0 | 62,0 | 1,90 | 12,0 | 19,0 |
| E) 50,0 | 3,00 | 3,5 | 8,0 | 5,50 | 11,0 | 4,0 |
| F) 100,0 | 5,00 | 1,1 | 4,0 | 10,00 | 0,0 | 3,0 |

RR_s = rischio relativo specifico, che agisce sul gruppo di esposti; RR_g = rischio relativo generico, che agisce sull'intera popolazione; N. critico di osservati = numero minimo di casi che occorre osservare affinché si possa mettere in evidenza uno scostamento statisticamente significativo rispetto al numero di casi attesi.

Nella Tabella ad un RR specifico di 10 corrispondono valori più elevati di RR globale, con corrispondenti valori più contenuti di casi attesi e osservati critici.

Il messaggio che emerge da questo esempio è di considerare adeguatamente i possibili effetti di diluizione, cioè dimensionare il sistema di sorveglianza su conoscenze solide sulle popolazioni e i gruppi da sorvegliare e sugli indicatori di effetto, che siano malattie nel caso della sorveglianza epidemiologica “classica” o indicatori di associazione tra ambiente e salute.

Prestazioni e potenza del sistema

A titolo di esemplificazione, la Tabella 4 mette in evidenza quanto grande sia la diversa capacità di un sistema di sorveglianza di evidenziare un certo incremento di rischio in relazione alla percentuale di popolazione esposta e del tasso dell'evento: con una prevalenza alla nascita da 0,1 a 10 per 1.000 l'allarme può essere ottenuto in tempo contenuto solo se la percentuale di popolazione esposta non è troppo piccola (esempi 1 e 4), al contrario, occorrono tempi lunghissimi per evidenziare l'effetto di un fattore di rischio che agisca su un sottogruppo ridotto ($\leq 1\%$), anche se la forza del rischio relativo è elevata (esempi 2 e 3). È chiaro che per le situazioni più ostiche da fronteggiare (patologia rara e esposizione rara) si propone inevitabilmente il ricorso a disegni multi-centro e a reti collaborative.

Il messaggio che scaturisce da quest'esempio è che, al momento della progettazione di un programma di sorveglianza o di un'indagine epidemiologica, occorre tenere conto di numerosi elementi per dimensionare correttamente l'indagine e al contempo evitare aspettative sovradimensionate rispetto alle realistiche possibilità di performance del sistema.

Tabella 4. Esempi di potenza di un sistema di sorveglianza nell'identificazione di rischi che agiscono su sottogruppi diversi di popolazione

| | Esempio 1 | Esempio 2 | Esempio 3 | Esempio 4 |
|--------------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|---------------------|
| Fattore di rischio | Talidomide | Acido valproico | Solventi organici | Antiemetici |
| Malformazione | Riduzione arti | Spina bifida | Sistema nervoso | Labio±palato |
| <i>Parametri rilevanti</i> | | | | |
| Tasso alla nascita (π_0) | 0,0024 | 0,001 | 0,002 | 0,0006 |
| RR specifico (R') | 175 | 20 | 175 | 15 |
| (%) esposta a rischio | 2 | < 0,1 | 0,1 | 1,98 |
| RR generico (R) | 4,48 | 1,02 | 1,174 | 1,98 |
| π_0 (*) R | 0,0108 | 0,001 | 0,0023 | 0,00119 |
| Nati prima di allarme | 625 | > 30.000.000 | 210.000 | 16.000 |
| Tempo pre-allarme | ≈ 9 giorni | > 1.200 anni | > 8 anni | > 33 sett. |

(1, 2): esempi riadattati da Khoury e Holzman (46, 3, 4); esempi fittizi; (*): riferiti a 25.000 nascite/anno.

Riassumendo, **il messaggio generale** che emerge dai tre esempi è che occorre dedicare grande attenzione alla dimensione della popolazione da sorvegliare (il contesto di osservazione), alla scelta dei metodi (la dimensione statistica) e, soprattutto nelle aree inquinate, alla definizione dei gruppi esposti e vulnerabili (la diluizione e la concentrazione). Quest'ultimo livello di conoscenza è critico sia per la definizione del disegno di sorveglianza sia per le azioni da intraprendere a seguito di un segnale di attenzione o di fuori controllo, incluse quelle di comunicazione, e quindi è da considerare di basilare importanza l'impegno per il suo raggiungimento (47).

Dopo l'allarme

Che cosa fare una volta che il sistema abbia segnalato una uscita dalle condizioni prestabilite come di normale funzionamento, includenti anche livelli di fluttuazione accettabili, è stato oggetto di ripetute sistematizzazioni e formalizzazioni che hanno prodotto raccomandazioni e linee guida, ad iniziare da quelle dei CDC (48), alle quali se ne sono aggiunte molte altre (49).

Pur non entrando nel dettaglio del complesso argomento, è rilevante porre l'attenzione su due diverse (opposte) situazioni relative all'ipotesi a seguito di segnalazione da parte di un sistema di sorveglianza:

- *cluster* in cerca di ipotesi causale esplicativa; si tratta di una attività di indagine post-hoc a seguito di rapporto di *cluster*, che rappresenta la situazione più comune, è ardua da valutare, è spesso controversa e non richiede inferenza statistica;
- ipotesi causale in cerca di *cluster*; tipica attività di ricerca intorno a sorgente di esposizione localizzata o diffusa, per la quale l'inferenza statistica è appropriata.

Tutte le linee guida condividono un percorso più o meno articolato in fasi di attività di verifica, il più articolato ma anche chiaro dei quali ci sembra sia quello proposto dal Ministero della salute della Nuova Zelanda (50).

Un'articolazione generale delle linee guida su allarmi e *cluster* è riportata nella Figura 2.

| |
|--|
| <p>Verifica di caso</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diagnosi confermata e accurata • Duplicati • Residenza del caso <p>Dimensione diagnostica</p> <ul style="list-style-type: none"> • Eterogeneità delle diagnosi • Presenza di altre patologie, storia familiare • Presenza di <i>cluster</i> di diagnosi simili nello stesso periodo <p>Dimensione spaziale</p> <ul style="list-style-type: none"> • Presenza di altri <i>cluster</i> entro Regione • Provenienza dallo stesso presidio ospedaliero • Presenza di altri <i>cluster</i> in altre regioni nello stesso periodo <p>Dimensione temporale</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Cluster</i> parte di un trend • <i>Cluster</i> sovrapposti <p>Dimensione eziologia (per i <i>cluster</i> verificati non dipendenti da problemi di qualità del dato/cambiamenti/ecc.)</p> <ul style="list-style-type: none"> • fattori di rischio conosciuti e non conosciuti da indagare secondo il tipo di anomalia • presenza di preoccupazione a livello locale circa esposizioni ambientali potenzialmente correlate <p>Elementi di insoddisfazione delle comunità locali Perché la comunità non è soddisfatta (ovvero perché dovrebbe esserlo)? Di solito sono ignorate o sottostimate:</p> <ul style="list-style-type: none"> • le necessità di informazione • le necessità di linguaggio adeguato alla comunicazione • le necessità di superamento dei problemi ambientali già conosciuti • le necessità di rafforzamento di servizi sanitari adeguati • le preoccupazioni per altri eventi sanitari • le preoccupazioni per altre esposizioni ambientali • le pubblicità dannosa per la comunità • la mancanza/perdita di fiducia nelle amministrazioni/autorità la pericolosità di attività lavorative a livello locale |
|--|

Figura 2. Linee guida per l'indagine su allarmi e cluster

Per saperne di più sul piano operativo (disegno, dimensione, controlli) si consiglia di visitare il sito web del servizio di consulenza del progetto EUROCAT per la sorveglianza delle malformazioni congenite (51).

In sintesi, le raccomandazioni procedurali più stringenti sembrano essere:

- Occorre sfruttare al massimo tutti gli elementi per l'analisi statistica
- Le informazioni su malattia, agenti ambientali, ipotesi etiologiche:
 - rappresentano elementi per la determinazione della scala e del dettaglio necessari per l'analisi;
 - forniscono elementi per arrivare a test più precisi e ipotesi più strette che aumentano la potenza delle tecniche statistiche.
- La plausibilità biologica è un importante prerequisito per realizzare uno studio epidemiologico su larga scala.
- Se vi è solo la plausibilità statistica è opportuno monitorare i dati dopo l'allarme per verificare:
 - se l'aumento dei casi persiste;

- se emerge qualcosa di anormale si rendono necessari calcoli più elaborati (soprattutto aggiustamento per confondenti).
- I test statistici in quanto tali hanno scarso significato, poiché l'analisi statistica è molto di più che una semplice attività di testing, in quanto:
 - offre un quadro che aiuta ad inferire con i dati empirici (bene o male definiti);
 - l'importante è analizzare i dati da vari punti di vista e usare una gamma complementare di test statistici.
- La risposta a cluster resterà sempre legata ad un lavoro di ipotesi che però può essere compensato da una adeguata e completa documentazione.

Proposta di sistema di sorveglianza su ambiente e salute

Una proposta sistematica di eventi sentinella ambiente e salute (ESAS) è stata preparata da una apposita conferenza di consenso organizzata dall'ATSDR agli inizi degli anni '90 (52).

Gli eventi sono suddivisi in due tipologie:

Tipo I) Condizioni acute come indicatori sentinella di inquinamenti ambientali, nella forma definita da Rutstein (19):

- intossicazioni da pesticidi, metalli o altre sostanze presenti in siti di discarica, come piombo e monossido di carbonio, con particolare attenzione ai gruppi più vulnerabili come i bambini;
- alcuni tumori che, seppure caratterizzati da lunghi periodi di induzione-latenza, sono stati associati con un grado elevato di specificità ad esposizioni ad agenti chimici o fisici, come il mesotelioma pleurico, il cancro della vagina a cellule chiare, l'angiosarcoma epatico;
- pubertà precoce come indicatore di esposizione a interferenti endocrini, come molti pesticidi, prodotti industriali, additivi alimentari;
- emoglobinemie come indicatore classico di intossicazione;
- neuropatie da esposizioni a tossici di origine chimica, come il metilmercurio per la malattia di Minamata.

Tipo II) Modelli inusuali di incidenza di malattie o condizioni identificate attraverso sorveglianza:

- cancro della vescica, in particolare in non fumatori e in non esposti occupazionali;
- cancro del polmone in non fumatori;
- cancro del fegato in non bevitori;
- tumori rari con prove di associazione con esposizioni ambientali, come rhabdomyosarcoma, leucemia mieloblastica, leucemia acuta nel bambino e leucemia granulocitica nell'adulto;
- asma nei bambini, in particolare affanno in bambini non allergici e non esposti a fumo passivo;
- nuove malattie rare ambiente-correlate, come la mialgia eosinofila, la sindrome dell'olio tossico, la malattia di Kawasaki;
- misure di marcatori biologici di esposizioni ambientali, come quelle di concentrazione nei liquidi biologici di inquinanti organici persistenti (POPs);
- addotti al DNA o emoglobina.

La costruzione di un sistema di sorveglianza basato su ESAS richiede importanti modifiche alle basi di dati oggi disponibili e un cospicuo riorientamento culturale di ampi settori della sanità pubblica e della protezione ambientale (53).

Recentemente il dibattito scientifico sul tema ha ripreso vigore ed è disponibile una rassegna sistematica su vantaggi e svantaggi, condizioni, limitazioni e potenzialità del SSAS, che conclude con una “esortazione” a: incorporare nuove tecnologie per incrementare la valutazione dei livelli di esposizione della popolazione e degli effetti correlati, rendere possibile la disseminazione dei nuovi dati e risultati, consentire l’uso per indirizzi politici su nuovi pericoli ambientali e sanitari (54).

Il centro di ricerca per le politiche della California ha prodotto un rapporto completo sulla strategia da seguire per implementare il sistema di sorveglianza ambiente e salute, che costituisce la base più che sufficiente per preparare una strategia adeguata alla situazione Italiana (55).

La definizione e sperimentazione di un sistema di Sorveglianza epidemiologica in aree con pressioni ambientali (SEAPA) in grado di monitorare l’andamento spaziale e temporale dello stato di salute delle popolazioni residenti e di gruppi vulnerabili e suscettibili, è stata recentemente oggetto di una proposta (56).

IL SEAPA deve essere dotato di almeno tre funzioni per conoscere e interpretare la relazione ambiente-salute:

- deve essere in grado di misurare specifici fattori di pericolo e di rischio, esposizioni ed esiti sanitari;
- deve basarsi su un flusso di dati routinari (diversi da quelli ottenibili dalle indagini ad hoc che forniscono un diverso contributo rispetto alle attività di sorveglianza);
- deve produrre dati connotati per definire, programmare, valutare le attività di tutela e promozione della salute pubblica.

Poiché molte situazioni di contaminazione ambientale sono caratterizzate da una insufficiente conoscenza degli inquinanti, dei processi di inquinamento, delle modalità di esposizione e dei rischi potenziali, è appropriato adottare un approccio multidisciplinare e un sistema di indagine basato su priorità.

Per identificare le priorità di intervento è essenziale disporre di una buona base di evidenze sull’associazione tra effetti sanitari e fattori di rischio. Poi la sorveglianza in continuo fornirà nuovi elementi utili per confermare o modificare le priorità di intervento.

Lo sviluppo di un “Protocollo per la Sorveglianza Ambiente-Salute in siti inquinati” si propone di produrre un sistema coordinato e dinamico per prevenire e controllare gli effetti avversi sulla salute legati alla interazione tra la popolazione e l’ambiente in cui essa vive:

1. per la definizione e caratterizzazione dei fattori di rischio sono necessari numerosi parametri ambientali e sanitari. La frequenza e distribuzione del fattore di rischio nell’area in studio rappresentano la base conoscitiva per la definizione dell’ambito di osservazione (campionamento) della popolazione sul territorio;
2. le conoscenze di base sviluppate al punto precedente consentono di individuare gruppi a diversa esposizione e maggiormente vulnerabili, nonché popolazioni di riferimento (esposizione nulla). Per tali soggetti gli studi *ad hoc* sono un utile strumento di approfondimento su esposizione e *outcome* sanitari;
3. le informazioni ottenute dai punti precedenti, rivestono notevole importanza per la definizione di una batteria di indicatori Ambiente-Salute (IAS);
4. dai *linkage* tra dati ambientali e sanitari è possibile individuare andamenti anomali. Di conseguenza si sviluppa un circuito di indagine finalizzato alla gestione dell’evento anomalo con l’attivazione di strumenti di partecipazione e comunicazione a diversi livelli in ambito locale (popolazione o amministrazione o sistema sanitario);

5. la disponibilità di un archivio completo e validato di dati su ambiente e salute è strumento di indubbio valore per studi finalizzati all'ampliamento delle conoscenze scientifiche.

Conclusioni

Nella sorveglianza ambiente e salute, specie in aree circoscritte, su eventi rari, su esposizioni ridotte o su situazioni miste, esiste un'elevata probabilità statistica che molti allarmi si verifichino per effetto del caso (molte valutazioni ripetute nel tempo e nello spazio), mentre nel caso di segnalazioni "esterne" al sistema di sorveglianza sussiste il tipico rischio della selezione a posteriori (metafora del pistolero texano).

Nessuna segnalazione deve essere mai considerata come conclusiva, essendo sempre necessaria l'indagine mirata alla conferma statistico-probabilistica e alla ricerca della causa.

Nessuna segnalazione deve essere trascurata perché, fino a prova contraria, è da considerarsi anomala.

L'adozione di un Protocollo di sorveglianza sanitaria nei siti inquinati è strumento adeguato a rispondere alle numerose domande che nascono sia da una preoccupazione lecita dei cittadini nei confronti dell'ambiente in cui vivono e dell'impatto sulla propria salute, sia dalla richiesta da parte dei decisori politici di conoscenze affidabili, con le quali operare e valutare scelte politiche e programmatiche basate su prove.

Bibliografia

1. Institute of Medicine. *The Future of Public Health*. Washington, DC: National Academy Press; 1988.
2. Langmuir, A.D. "The Surveillance of Communicable Diseases of National Importance." *N Engl J Med* 268 (1963):182-92.
3. Thacker, S.B., and Berkelman, R.L. "Public Health Surveillance in the United States." *Epidemiology Reviews* 10 (1988):164-90.
4. Thacker, S.B., and Berkelman, R.L., and Stroup, D.F. "The Science of Public Health Surveillance". *J Public Health Policy* 10 (1989):187-203.
5. Steven M. Teutsch, R. Elliott Churchill. *Principles and Practice of Public Health Surveillance*. New York: Oxford University Press, 2000.
6. AA.VV. Updated Guidelines for Evaluating Public Health Surveillance Systems, Recommendations from the Guidelines Working Group. *Morbidity and Mortality Weekly Repor.* July 27, 2001/50(RR13);1-35.
7. Comba P, Fazzo L. Disegno dello studio epidemiologico nei siti inquinati: aspetti di validità, fattibilità In: Bianchi F, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). P. 5-17.
8. Iavarone I. Valutazione dell'esposizione ad inquinanti ambientali. In: Bianchi F, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). P. 18-33.
9. Wegman DH. Hazard Surveillance. In: Halperin W, Baker EL Jr (Ed). *Public Health Surveillance*. New York, NY: Van Nostrano Reinhold Co. 1992. p. 62-75.
10. Thacker SB, Stroup DF, Parrish RG, Anderson HA. Surveillance in Environmental Public Health: Issues, Systems, and Sources. *Am J Public Health* 1996;86:633-638.

11. Bianchi F, Biggeri A, Cadum E, Comba P, Forastiere F, Martuzzi M, Terracini B. Epidemiologia ambientale e aree inquinate in Italia. *Epidemiol Prev* 2006;30(3):146-152.
12. Last JA. A visitor's impressions of major environmental toxicity issues in the Mercosur. *Toxicology* 2001;156(2-3):175-8.
13. Bianchi F, Terracini B. Potenzialità, criticità e prospettive dell'integrazione ambiente-salute. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/01). P. 125-135.
14. Bianchi F. Il biomonitoraggio in epidemiologia ambientale. In: Bianchi F, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). P. 51-70.
15. ECOEHIS. Development of Environment and Health indicators for the European Union Countries. Disponibile all'indirizzo: http://www.euro.who.int/EHIndicators/Methodology/20030527_5; ultima consultazione 17/11/2007.
16. Simonato L, Zambon P, Rodella S, Giordano R, Guzzinati S, Stocco CF, Tognazzo S, Winkelmann R. A computerised cancer registration network in the Veneto region, North-east of Italy: a pilot study. *Br J Cancer* 1996;73:1436-1439.
17. Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/01).
18. Bianchi F, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19).
19. Rutstein DD, Mullan RJ, Frazier TM, Halperin WE, Melius JM, Sesito JP. Sentinel health events (occupational): a basis for physician recognition and public health surveillance. *Am J Public Health* 1983;73(9):1054-1062.
20. Armitage P. Tests for linear trends in proportions and frequencies. *Biometrics* 1955;11:375-386.
21. Agresti A. *Categorical Data Analysis*. New York: John Wiley and Sons; 2002.
22. Naus J, Wallenstein S. Temporal surveillance using scan statistics. *Stat Med* 2006;25(2):311-324.
23. Wallenstein S, Naus J, Glaz J. Power of the scan statistic for detection of clustering. *Stat Med* 1993;12(19-20):1829-43.
24. Page ES. Cumulative sum charts, *Techonometrics* 1961;3:1-9.
25. Chen R. The relative efficiency of the sets and the cusum techniques in monitoring the occurrence of a rare event. *Stat Med* 1987;6(4):517-25.
26. Gallus G, Radaelli G, Marchi M. Poisson approximation to a negative binomial process in the surveillance of rare health events. *Methods Inf Med* 1991;30(3):206-9.
27. Lawson AB and Kleinman K (Ed). *Spatial and Syndromic Surveillance for Public Health*. New York: John Wiley & Sons, Ltd; 2005.
28. Knox EG. Detection of clusters. In: Elliott P (Ed). *Methodology of enquiries into disease clustering*. London: Small Area Health Statistics Unit; 1989. p 17-20.
29. Ripley BD. The second-order analysis of stationary point processes. *J Appl Probab* 1976;13:255-66.
30. Kulldorff M, Nagarwalla N. Spatial disease clusters: detection and inference. *Stat Med* 1995;14:799-810.
31. Kulldorff M. A spatial scan statistics. *Communications in Statistics Theory and Methods* 1997;26:1481-96.

32. Hosmer D, Lemeshow WS. *Applied Logistic Regression, 2nd ed.* New York; Chichester, Wiley; 2000.
33. Diggle PJ, and Rowlinson BS. A conditional approach to point process modeling of elevated risk. *J R Stat Soc* 1994;157:433-440.
34. Diggle PJ. A point process modelling approach to raised incidence of a rare phenomenon in the vicinity of a prespecified point. *J R Stat Soc* 1990;153:349-362.
35. Besag, J, York J, Mollié A. Bayesian image restoration, with two applications in spatial statistics. *Ann. Inst. Stat. Math* 1991;43:1-59.
36. Mollié A. Bayesian mapping of Hodgkin's disease in France. Spatial epidemiology. In: Elliot P, Wakefield JC, Best NG, Briggs DJ (Ed). *Methods and Applications*. Oxford: University Press Oxford; 2000. p 267-285.
37. Besag J, Newell J. The Detection of Clusters in Rare Diseases. *J R Stat Soc A*; 1991;154:143-55.
38. Moran PAP. Notes on continuous stochastic phenomena. *Biometrika* 1950;37:17-23.
39. Stone RA. Investigation of excess of environmental risks around putative sources; statistical problems and a proposed test. *Stat Med* 1988;7:649-60.
40. Waller LA, Turnbull BW, Clark LC, and Nasca P. Spatial pattern analyses to detect rare disease clusters. In: Lange N, Ryan L, Billard L, Brillinger D, Conquest L, Greenhouse J (Ed). *Case Studies in Biometry*. New York: John Wiley & Sons, Inc; 1994. p. 13-16.
41. Waller L, Lawson AB. The power of focused tests to detect disease clustering. *Stat Med* 1995;14:2291-308.
42. Bithell JF. The choice of test for detecting raised disease risk near a point source. *Stat Med* 1995;14:2309-2322.
43. Bithell JF. Disease mapping using the relative risk function estimated from areal data. In: Lawson AB, Biggeri A, Bohning D, Lesaffre E, Viel JF, Bertollini R (Ed). *Disease mapping and risk assessment for public health*. New York: John Wiley & Sons; 1999. p. 247-55.
44. Neutra R. Counterpoint from a cluster-buster. *Am J Epidemiol* 1990;132:1-8.
45. Biggeri A. Il Gruppo di studio ministeriale su Radio Vaticana e il caso del "rospo ostetrico". *Epidemiol Prev* 2001;25(6):239-244.
46. Khoury MJ, Holtzman NA. On the ability of birth defects monitoring to detect new teratogens. *Am J Epidemiol* 1987;126(1):136-43.
47. Fazzo L, Comba P. Il ruolo dei gruppi ad alto rischio nello studio delle relazioni tra ambiente e salute *Ann. Ist. Sup. Sanità* 2004;40(4):417-426.
48. Centers for Disease Control. Guidelines for investigating clusters of health events. MMWR 1990;39 (no RR-11). Disponibile all'indirizzo: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001797.htm>; ultima consultazione 19/11/2007.
49. Arrundale J, Bain M *et al.* Handbook and Guide to the investigation of Clusters of Diseases. Leeds, University of Leeds, 1997.
50. Ministry of Health Manatu Hauora. Investigating Clusters of Non-Communicable Disease: Guidelines for Public Health Services. Wellington, New Zealand. 1997.
51. EUROCAT Cluster Advisory Service. Disponibile all'indirizzo: <http://www.eurocat.ulster.ac.uk/clusteradservice.html>; ultima consultazione 19/11/2007.
52. Shy C, Greenberg R, Winn D. Sentinel Health Events of Environmental Contamination: A Consensus Statement. *Environ Health Perspect* 1994;102 (3):316-7.

53. Aldrich TE, Leaverton PE. Sentinel event strategies in environmental health. *Annu Rev Pub Health* 1993;(14):205-17.
54. Ritz B, Tager I, and Balmes J. Can Lessons from Public Health Disease Surveillance Be Applied to Environmental Public Health Tracking? *Environ Health Perspect* 2005;113(3):243-9.
55. California Policy Research Center, University of California. *Strategies for establishing an Environmental Health Surveillance System in California: A Report of the SB 702 Expert Working Group*. Berkeley, CA. pp. 114;2004. Disponibile all'indirizzo: <http://www.ucop.edu/cprc>; ultima consultazione 19/11/2007.
56. Linzalone N, Cori L, Minichilli F, Pierini A, Pizzuti R, Santoro M, Serinelli M, Siciliano T e Bianchi F. *Proposta per un protocollo per la sorveglianza ambiente-salute in siti inquinati*, Atti della XXXI Riunione Annuale dell'Associazione Italiana di Epidemiologia, Ostuni 17-19 Ottobre 2007.

IMPATTO SANITARIO NEI SITI INQUINATI: CARATTERIZZAZIONE EPIDEMIOLOGICA E RUOLO DELLE IPOTESI A *PRIORI*

Roberto Pasetto, Marta Benedetti, Lucia Fazzo, Ivano Iavarone, Stefania Trinca, Pietro Comba
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

La nozione di sito inquinato si è consolidata, a livello europeo, in questi ultimi anni. Un recente documento della *European Environment Agency* (EEA) (1) censisce 250.000 siti inquinati, dei quali circa 80.000 sono stati bonificati. Metalli pesanti e oli minerali sono i contaminanti più frequentemente individuati nei suoli, mentre nell'acqua di falda si segnalano soprattutto oli minerali e idrocarburi clorurati. L'EEA stima che le bonifiche dureranno decenni, e che nel frattempo il numero dei siti da bonificare aumenterà.

In Italia, la nozione di sito di interesse nazionale per la bonifica ha una sua precisa specificazione normativa, entrata nell'inquadramento legislativo con il Decreto 22 del 1997 (Decreto Ronchi), riguardo i rifiuti e i suoli da essi contaminati. Successivamente, la Legge 426 del 1998 detta i criteri per la definizione degli stessi e identifica i primi 15 siti di interesse nazionale per la bonifica, dato l'impatto ambientale e sanitario e socio-economico dell'inquinamento in essi presenti, allargandone il campo di intervento ai casi nei quali la contaminazione non sia determinata esclusivamente dai rifiuti. Il Decreto Ministeriale 471/1999 (regolamento applicativo del Decreto del 1997), indica le modalità e le procedure per gli interventi di bonifica e menziona la valutazione del rischio sanitario tra i criteri per l'individuazione degli interventi di interesse nazionale.

Come discusso in un precedente Rapporto ISTISAN (2, 3) e nel capitolo di L. Musmeci del presente Rapporto, in Italia sono stati finora individuati alcune migliaia di siti da bonificare, 54 dei quali definiti di interesse nazionale per l'entità e la tipologia della contaminazione. La definizione di sito di interesse nazionale tiene conto anche della potenzialità di effetti avversi sulla salute, e proprio nel nostro paese si è sviluppata una specifica riflessione su finalità e metodi dell'indagine epidemiologica nei siti inquinati (4, 5).

Obiettivo del presente contributo è esaminare le questioni concettuali e metodologiche connesse alla caratterizzazione epidemiologica nei siti inquinati, anche attraverso l'esame di alcuni *case-studies*, con particolare attenzione al ruolo delle ipotesi *a priori* nel disegno dello studio e nell'interpretazione dei risultati.

Caratterizzazione epidemiologica dei siti inquinati

La verifica di ipotesi è propria delle scienze sperimentali ma è anche l'ambizione delle discipline osservative come l'epidemiologia. L'epidemiologia ambientale è esclusivamente osservazionale, qualora la si voglia intendere come disciplina che studia i rischi ambientali per la salute umana ed esclude i rischi legati a scelte personali. L'epidemiologia ambientale nei siti inquinati si basa su studi "propriamente osservazionali", nei quali non solo vengono adottati i

disegni di studio epidemiologico di tipo osservazionale ma si è condizionati, nelle scelte del disegno dello studio e nell'acquisizione delle informazioni, dal contesto contingente relativo ai singoli siti. La possibilità di verificare determinate ipotesi è in relazione ai limiti del contesto (si pensi a solo titolo esemplificativo al problema della numerosità campionaria, ove la popolazione interessata dall'inquinamento in una certa area rappresenta di per sé un insieme già definito nello spazio e nel tempo).

Ulteriore elemento da prendere in considerazione è quello della possibilità di definire la "forza" *a priori* delle ipotesi da verificare. Questa dipende sia dalla caratterizzazione delle esposizioni conseguenti all'inquinamento ambientale di area (6), che dalle conoscenze relative al rischio ad esse causalmente associato.

Considerate tali premesse, il ruolo e il peso da dare alle ipotesi *a priori*, cambiano a seconda del contesto.

In questo quadro, va anzitutto evidenziato che la definizione spazio-temporale di sito inquinato, in particolare dei siti di interesse nazionale per le bonifiche (SIN), scaturisce da una serie di esigenze, anche amministrative, che possono esulare dalla dimensione chimico-tossicologica dell'inquinamento dell'area. Da ciò consegue che spesso la definizione amministrativa dell'area inquinata (nei SIN i Comuni interessati dall'inquinamento) e dell'inizio temporale dell'inquinamento, sia diversa sostanzialmente da quella reale. Le difficoltà crescono quando si vogliono utilizzare le informazioni sull'inquinamento al fine di indagini epidemiologiche (6). È quindi necessaria una prima istruttoria per ottenere le informazioni disponibili per definire le reali dimensioni spaziali e temporali dell'inquinamento. La caratterizzazione ambientale, che andrebbe mirata anche ad un utilizzo a scopi di indagine epidemiologica, dovrebbe portare alla individuazione di un profilo di pericolo, sulla base del quale pianificare le indagini epidemiologiche di prima generazione. Ad essa andrebbe associata la ricerca e l'acquisizione di ulteriori informazioni ambientali e territoriali che descrivano il processo di antropizzazione a cui è sottoposta l'area in esame. Esse dovrebbero riguardare vari ambiti come le caratteristiche geomorfologiche e naturalistiche dell'area, l'uso del suolo, le attività produttive, le infrastrutture, le componenti demografiche e sociali e gli stili di vita delle popolazione residenti.

Gran parte di queste informazioni sono oggi facilmente reperibili grazie alla larga diffusione nei vari settori (territoriali, ambientali, sociali, sanitari, ecc.) di flussi informativi che, nella maggior parte dei casi comprendono oltre alla componente descrittiva anche la componente spaziale, ovvero la georeferenziazione. Ciò consente di associare dati di natura diversa purché riferiti allo stesso ambito geografico avvalendosi di strumenti quali i sistemi informativi geografici GIS (7).

Caratterizzazione territoriale

Nella fase iniziale dello studio, la caratterizzazione territoriale, realizzata attraverso l'acquisizione e l'organizzazione in un GIS dei dati provenienti dai vari flussi informativi, della cartografia tematica e delle immagini telerilevate, dovrebbe avere l'obiettivo di definire uno scenario di base che, oltre a descrivere le caratteristiche ambientali e geografiche dei siti contaminati, dovrebbe offrire l'opportunità di localizzare i fenomeni che hanno una rilevanza spaziale e stabilire cosa si trovi in un luogo definito. In tal modo, tra tutti gli elementi mappati e descritti da dati alfanumerici (attributi), sarebbe possibile individuare quelli di maggior rilevanza per lo studio sui quali indirizzare la ricerca di ulteriori e più dettagliate informazioni. A titolo esemplificativo, nel caso dello studio preliminare condotto nell'area del polo industriale di Termoli e del sito di interesse nazionale di Guglionesi (8), lo studio di mortalità a livello

comunale è stato integrato da una prima descrizione del territorio volta ad individuare la distribuzione spaziale delle possibili fonti di rischio, della popolazione esposta e di eventuali cluster di patologia. L'applicazione di questa metodologia nella prima fase degli studi di epidemiologia ambientale, oltre ad agevolare l'opera di disegno dello studio, potrebbe contribuire alla definizione di nuove ipotesi o a saggiare la validità di quelle formulate in precedenza.

Nelle fasi successive dello studio, con l'ulteriore acquisizione dei dati sanitari, dei dati ambientali e di quelli territoriali, verrebbe implementata una base informativa geografica sempre più completa e dettagliata. In questo contesto l'integrazione attraverso la comune localizzazione geografica, di informazioni di natura diversa, come ad esempio quelle relative ai soggetti esposti, ai parametri ambientali, alla popolazione residente, alle condizioni socioeconomiche, potrebbe contribuire a migliorare la stima dell'esposizione con la messa a punto di indicatori più specifici.

Obiettivi degli studi epidemiologici nei siti inquinati

Per comprendere il ruolo delle ipotesi *a priori* nella valutazione dell'impatto sulla salute delle contaminazioni ambientali nei siti inquinati, occorre richiamare l'attenzione sui principali contributi e obiettivi degli studi epidemiologici in questi contesti:

- a) Valutazione di Impatto Sanitario retrospettiva (9)
- b) Contributo alla definizione delle priorità per le bonifiche
- c) Definizione di programmi di sorveglianza epidemiologica

Su queste tre nozioni si tornerà più avanti con la discussione di tre specifici case-studies. Preliminarmente all'esame di case-studies, interessa ribadire, che le indagini epidemiologiche nei siti inquinati sono "propriamente osservazionali" e in relazione all'unità di osservazione si distinguono in:

- studi analitici (individui come unità di osservazione). Tali studi sono considerati i più idonei alla verifica di specifiche ipotesi ma, come già indicato, nel caso dei siti inquinati sono presenti molti limiti di contesto che condizionano anche l'interpretazione dei risultati come verifica di ipotesi (10,11).
- studi ecologici (popolazione come unità di osservazione). Tali studi sono tradizionalmente considerati meno idonei a fornire indicazioni rilevanti sul piano eziologico. Tuttavia la metodologia si è molto evoluta, ed è opportuno soffermarsi su alcuni recenti sviluppi.

Descrizione del rischio di area

Per la descrizione del rischio di area, le semplici mappature dei Rapporti Standardizzati di Mortalità (SMR) possono fornire una visualizzazione di eventuali aggregazioni, ma vanno interpretate con cautela: aree con pochi casi attesi (conseguenza della rarità degli eventi e/o della bassa numerosità della popolazione residente) risultano in SMR poco stabili, ma se sono vaste tenderanno a dominare visivamente le mappe. Il metodo bayesiano empirico di *smoothing* (lisciamento), elabora degli stimatori che rappresentano un compromesso tra gli SMR locali e la media dell'area, ma rimuove i valori estremi, il che è appropriato soprattutto per stime instabili: il grado di lisciamento determinerà il livello di sensibilità e specificità della stima.

Lo studio di *clustering* è molto vicino a quello delle mappe, con simili problemi. Se esiste una forte ipotesi *a priori* circa una sorgente di esposizione, il framework statistico è più robusto, rispetto a quando lo studio nasce da una segnalazione di cluster di patologia. Se lo studio di

clustering si fa a livello nazionale, ovvero è multicentrico, aumenta la potenza statistica senza problemi di bias di selezione, ma questo implica che le sorgenti di inquinamento abbiano effetti costanti.

In sintesi, gli studi geografici finalizzati ad una valutazione causale offrono un'alternativa per generare e analizzare dati e per prendere in esame specifiche ipotesi; sebbene essi siano soggetti a bias e misclassificazione, sono generalmente facili, veloci, e meno dispendiosi. Se queste esplorazioni e altri studi generano sufficiente evidenza in supporto a specifiche ipotesi, studi analitici potranno allora essere usati per saggiare queste ipotesi con l'uso di dati a livello individuale (12-14).

Un assunto negli studi geografici è che la popolazione dell'area unitaria sia omogenea, sia per l'esposizione in studio che per altri possibili confondenti, visto che una variabilità all'interno dell'area unitaria porterebbe un bias. Svolgere quindi questi studi a livello microgeografico a scala di piccola area, diminuisce il bias ecologico, approssimando il livello individuale. In questa ottica ad es. il gruppo della Small Area Health Statistic Unit dell'Imperial College di Londra ha sviluppato sofisticate metodologie per studi su piccole aree con l'utilizzo di dati correnti e repliche in aree simili e più recentemente sta testando gli strumenti analitici innovativi anche in contesti di altri Paesi (13). D'altra parte studiare piccole aree comporta problemi di numerosità delle popolazioni, con pochi casi e stime non stabili, che risulteranno quindi più suscettibili ad errori o variazioni della qualità dei dati sia del numeratore (i casi) sia del denominatore (la popolazione) (12). Molto vicini a questo approccio sono gli studi sulle coorti residenziali, che indagano gli esiti sanitari a livello di gruppo, in sub-popolazioni che risiedono in prossimità di un ipotetico punto sorgente di esposizione, e che si possono ritenere omogenee al loro interno, e questo riporta alla tematica degli studi analitici precedentemente citata.

L'interpretazione dei risultati di questi studi, la stima dei parametri e i test di ipotesi, dipenderanno dalla forza delle ipotesi *a priori* (si veda al riguardo l'approfondimento in Allegato).

Gli studi epidemiologici svolti nei siti inquinati sono mirati ad ottenere informazioni utili localmente, la generalizzabilità dei risultati ad altri contesti non è un obiettivo ma può essere una ricaduta (ad esempio studi simili in contesti simili potrebbero essere valutati in metanalisi osservazionali). Il *National Institute for Environmental Health Sciences* (NIEHS) ad es. sostiene l'importanza di dare una maggiore importanza nella pratica della sanità pubblica agli studi basati sulle comunità, in quanto possono consentire la prevenzione di patologie che ammettano cause ambientali anche prima di avere una completa comprensione dei soggiacenti meccanismi patogenetici (15).

Caratterizzazione epidemiologica

A causa dell'insieme dei limiti a cui ogni studio epidemiologico svolto nei siti inquinati è inevitabilmente sottoposto, il singolo studio non va visto come isolato. La sua utilità va considerata nell'ambito della definizione di un framework epidemiologico, l'insieme di studi che tra di loro integrati permettono una caratterizzazione epidemiologica di area. Ciò dovrebbe consentire il raggiungimento degli obiettivi precedentemente indicati di valutazione di impatto sanitario retrospettiva e contributo alla definizione delle priorità per le bonifiche.

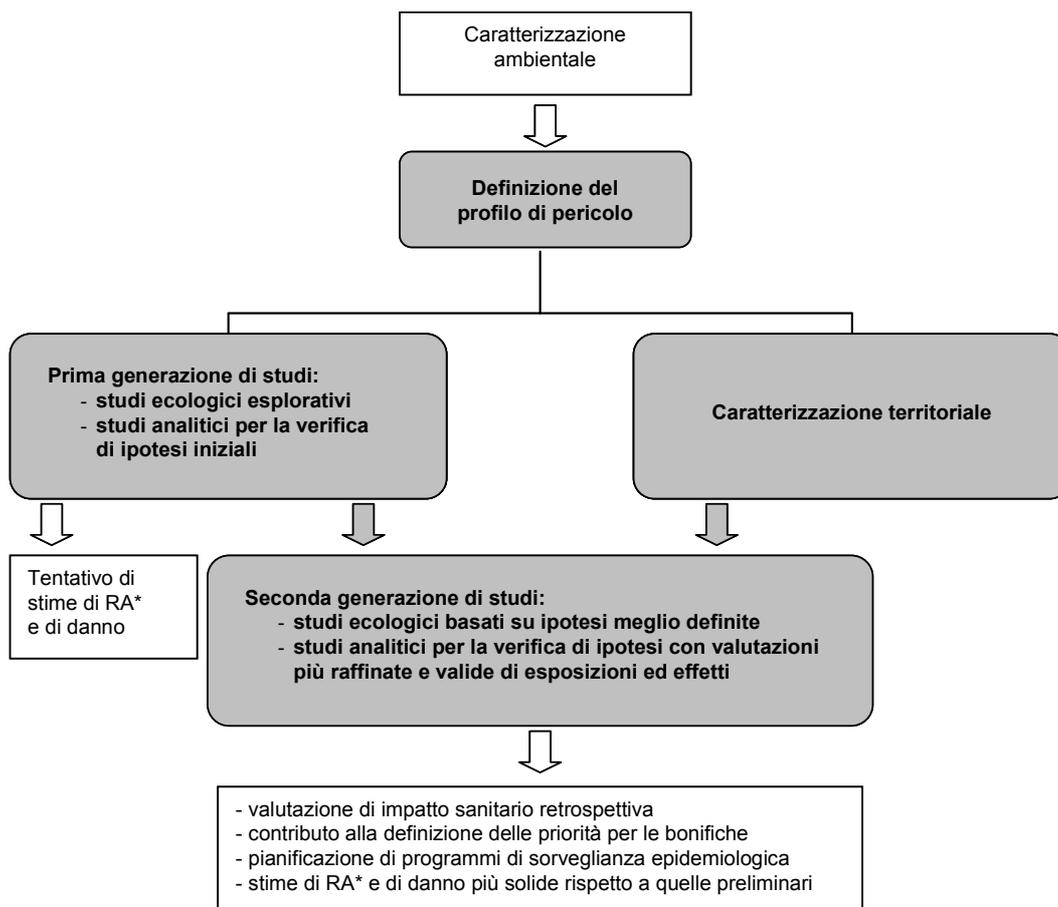
Il framework dovrebbe avere le caratteristiche di consequenzialità e modulazione in relazione al contesto, che per ogni sito inquinato presenta caratteristiche uniche.

Schematicamente si può prevedere che la caratterizzazione epidemiologica venga raggiunta attraverso diverse fasi (Figura 1):

- 1) definizione del profilo di pericolo
- 2) caratterizzazione territoriale
- 3) prima generazione di studi:

- studi ecologici esplorativi
- studi analitici per la verifica di ipotesi iniziali
- 4) seconda generazione di studi conseguenti anche al procedere della caratterizzazione ambientale e di quella territoriale mirate all'utilizzo ai fini di indagine epidemiologica
 - studi ecologici basati su ipotesi meglio definite
 - studi analitici per la verifica di ipotesi con valutazioni più raffinate e valide di esposizioni ed effetti

Sulla base dei risultati della caratterizzazione epidemiologica, andranno selezionati gli outcome su cui porre maggiore attenzione nella sorveglianza epidemiologica dell'area.



*RA: Rischio Attribuibile

Figura 1. Percorso per la caratterizzazione epidemiologica di un sito inquinato

Valutazione retrospettiva di impatto sanitario: il case-study Civitavecchia

L'area di Civitavecchia, caratterizzata dalla presenza di insediamenti energetici e industriali, è stata oggetto a partire dagli anni '80 di diversi studi epidemiologici condotti sia sui lavoratori

impiegati nei diversi comparti produttivi sia sulla popolazione residente.

Attualmente è in corso d'opera, da parte dell'ENEL, la riconversione da olio combustibile a carbone della centrale termoelettrica Torre Vandolica Nord, sebbene tale progetto riceva una forte opposizione da parte della popolazione residente nel Comune di Civitavecchia e in diversi altri Comuni limitrofi. A tal riguardo è stata recentemente istituita una commissione *ad hoc* da parte del Ministero della Salute, finalizzata, attraverso una valutazione dei dati ambientali ed epidemiologici, alla risoluzione della controversia.

Per quanto riguarda le indagini in ambito occupazionale, è stato evidenziato un aumento della mortalità per tumore del polmone tra il personale in servizio nel porto di Civitavecchia (16); un eccesso non significativo di mortalità per tumori dell'apparato respiratorio è stato inoltre osservato tra i lavoratori addetti alle centrali ENEL di Civitavecchia nel periodo 1968-1986 (17). Un successivo studio di coorte (18) ha evidenziato un incremento significativo del tumore del polmone tra i lavoratori marittimi del porto di Civitavecchia nel periodo 1965-1989; nella stessa coorte è stato inoltre evidenziato un aumento della mortalità per tumore maligno della pleura. Casi di mortalità per quest'ultima neoplasia sono stati registrati tra il personale impiegato in centrali Enel Italiane, compresa quella di Civitavecchia (19).

Per quanto riguarda gli studi epidemiologici condotti sulla popolazione residente nell'area in oggetto, uno studio geografico ha mostrato, a partire dagli anni 1980-84, un incremento significativo, soprattutto tra gli uomini, nella mortalità per tumore polmonare (20). Sulla base dell'osservazione di tale incremento di rischio, è stato successivamente effettuato uno studio caso-controllo che ha evidenziato un incremento significativo della mortalità per tumore polmonare tra i residenti nella zona a sud di Civitavecchia, dopo aver corretto per abitudini al fumo, per numero di professioni a rischio e per livello di istruzione (21). Quest'ultimo risultato potrebbe essere compatibile, secondo gli autori, con i risultati di modelli di dispersione che indicano alti livelli di deposizione di inquinanti in tale area.

Un'incidenza annuale elevata del mesotelioma pleurico, pari a 3,5 casi per 100000 abitanti, è stata evidenziata dal sistema di sorveglianza per questa patologia nel periodo 1997-2000 nella popolazione maschile residente nel comprensorio di Civitavecchia, rispetto ad un tasso regionale di 0,8 casi per 100000 (22).

Per quanto concerne gli studi epidemiologici relativi all'infanzia, uno studio condotto nel 1987 (23) ha evidenziato incrementi significativi nella frequenza di disturbi respiratori tra i bambini di scuola elementare residenti nell'area di Civitavecchia, rispetto a bambini residenti in una zona di controllo della Provincia di Viterbo. In particolare, le analisi corrette per numerosi fattori di confondimento (compreso il fumo passivo) hanno mostrato un aumento significativo nella prevalenza di asma tra i bambini di Civitavecchia (23). Tali risultati sono stati successivamente avvalorati dalle analisi dei dati relativi ai test di iperreattività bronchiale (24).

Un recente studio sulla mortalità (1997-2001) e sull'ospedalizzazione (1997-2000 e 2001-2004) della popolazione residente nel Comune di Civitavecchia (25) ha infine evidenziato eccessi significativi di mortalità e ricoveri per tutti i tumori, e in particolare per il cancro polmonare e per il tumore maligno della pleura, fra gli uomini. Una frequenza aumentata dei ricoveri ospedalieri per asma bronchiale è stata osservata negli adulti e tra i bambini, sia maschi che femmine, nel primo periodo (1997-2000). Un incremento significativo delle malattie renali, rilevata dal registro dialisi della Regione Lazio, è stata infine osservata nel periodo 2001-2004. In considerazione dei cambiamenti ambientali che si prefigurano nella zona e degli eccessi di mortalità e morbosità osservati, gli autori (25) suggeriscono la necessità di un accurato monitoraggio epidemiologico per le patologie ad aumentato rischio nell'area di Civitavecchia (tumori del polmone e della pleura, malattie respiratorie fra i bambini, malattie renali). Nel

contempo, ipotizzano, sulla base dell'insieme delle evidenze disponibili, un ruolo specifico dell'inquinamento ambientale di origine industriale come determinante della frequenza attuale dei tumori polmonari tra la popolazione residente nell'area. Segnalano, infine, che l'eccesso di ricoveri per asma nei bambini, già osservato alla fine degli anni '80, sembra permanere fino al periodo 1997-2000, successivamente al quale la realizzazione di modifiche strutturali degli impianti hanno apportato sensibili riduzioni nelle emissioni di inquinanti atmosferici.

Contributo all'individuazione delle priorità per le bonifiche: il case-study Campania

Le conoscenze fornite dagli studi di epidemiologia ambientale possono dare un contributo all'interno del percorso decisionale riguardo agli interventi da attuare nell'ambito delle bonifiche dei siti inquinati.

Un esempio in tal senso è lo studio sull'impatto sanitario del ciclo dei rifiuti nelle Province di Napoli e Caserta descritto nel presente Rapporto nel capitolo di Minichilli e Mitis, al quale si rimanda per i contenuti e le problematiche dell'indagine.

Lo studio durato tre anni di attività di un gruppo interdisciplinare ha seguito un "framework epidemiologico", utilizzando differenti metodologie di analisi a complessità crescente e con ipotesi *a priori* a forza crescente.

Tale percorso è iniziato con l'analisi a livello comunale di 20 cause tumorali e 13 tipi di malformazioni congenite, con il calcolo dei rapporti standardizzati di mortalità rispetto ai valori regionali (SMR e BMR). In questa prima fase non si avevano forti ipotesi *a priori*; la scelta delle patologie da indagare proveniva dalla letteratura e dall'esigenza di avere un quadro complessivo sullo stato di salute delle popolazioni. Evidenziando i Comuni con un maggior numero di eccessi significativi, è emersa un'area ben delimitata spazialmente, che sembrava coincidere con quella con un maggior numero di siti di smaltimento di rifiuti (26).

Successivamente, per le patologie risultate in eccesso, e per le quali quindi si aveva una più forte ipotesi *a priori*, anche per le indicazioni disponibili in letteratura, si è proceduto all'analisi dei *cluster*, con l'obiettivo di identificare eventuali raggruppamenti di Comuni con eccessi di rischio all'interno dell'area in studio, in "cieco" rispetto alle possibili fonti di esposizioni. Inoltre, si è tenuto conto del livello socio-economico delle popolazioni dei singoli Comuni, inserendo nell'analisi l'Indice di deprivazione. I risultati hanno evidenziato gruppi di Comuni con eccessi significativi maggiormente concentrati in un'area sovrapponibile alla precedente, sia per l'analisi dei dati di mortalità che per la prevalenza alla nascita delle malformazioni congenite (27).

Entrambe le analisi, quindi, hanno evidenziato all'interno dell'intera area in studio una sub-area a cavallo delle due province nella quale lo stato di salute della popolazione risultava maggiormente compromesso. Tale anomalia non sembrava essere legata a fattori socio-economici, dato che l'analisi dei *cluster* ne aveva tenuto conto. L'area individuata dai risultati di entrambe le analisi, per i due gruppi di esiti sanitari (mortalità per tumori e prevalenza di malformazioni congenite), nonché la sua sovrapposizione con un'area caratterizzata da un'elevata presenza di siti di smaltimento, prevalentemente illegali di rifiuti, rafforzava l'ipotesi iniziale di un impatto sanitario dei siti di smaltimento dei rifiuti presenti sul territorio, d'altra parte solo l'analisi di correlazione tra le patologie risultate in eccesso e con una ipotesi *a priori* relativa al possibile ruolo eziologico del ciclo dei rifiuti, e un indicatore comunale di pressione ambientale da presenza di rifiuti, ha posto una relazione tra questi e gli esiti sanitari osservati.

Tale indicatore che rappresenta dunque un *proxy* di esposizione a rifiuti (IR) ha consentito di valutare il rischio sanitario connesso complessivamente a tutti i siti influenti sul medesimo territorio comunale (interni o esterni ad esso), tenendo conto anche della contaminazione combinata dovuta al fatto che spesso più siti interessano la stessa porzione di territorio (28, 29). Lo studio di correlazione è discusso estesamente nel capitolo di Minichilli & Mitis.

Pur con tutti i limiti degli studi di tipo geografico, l'intero percorso epidemiologico seguito ha individuato un'area nella quale la salute delle popolazioni è maggiormente compromessa, e tale compromissione è correlata alla presenza di siti di smaltimento di rifiuti. Si tratta di rischi per patologie ad eziologia multifattoriale, laddove i diversi fattori di rischio agiscono nel processo patogenetico con varie possibili sinergie. In questo quadro, inoltre, l'esposizione a fattori di rischio ambientali può riguardare soggetti maggiormente suscettibili (come nel caso del tumore epatico primitivo e l'esposizione a agenti chimici epato-tossici, in soggetti positivi all'epatite B e C).

L'indagine epidemiologica ha quindi individuato una sub-area di interesse prioritario per le attività di bonifica ambientale, dal punto di vista della tutela della salute delle popolazioni.

Inoltre, le basi di dati costruite *ad hoc* per lo studio, in particolare quelle riguardo la localizzazione dei siti di smaltimento dei rifiuti e le popolazioni residenti in loro prossimità, hanno la potenzialità di individuare anche a livello sub-comunale i siti di maggiore interesse sui quali intervenire nelle attività di bonifica.

Definizione di programmi di sorveglianza epidemiologica: esempio nel caso di inquinamento da sostanze ad azione diossino- simile

Sono definite sostanze ad azione diossino-simile (DLC) un gruppo eterogeneo di composti che includono la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-diossina (TCDD), altre policloro dibenzo-*p*-diossine (PCDD), e alcuni policloro dibenzofurani(PCDF) e policloro difenili (PCB). Queste sostanze sono caratterizzate da una elevata tossicità e da comuni caratteristiche tossicologiche e dalla proprietà, nell'uomo, di permanere nell'organismo per molti anni. Il più studiato di questi composti è la TCDD che è anche quello dotato di maggiore tossicità. La tossicità delle altre sostanze ad azione diossino-simile è misurata in relazione alla TCDD.

Le sostanze ad azione diossino-simile vengono rilasciate nell'ambiente prevalentemente a seguito dei processi di combustione (inceneritori industriali, incenerimento di rifiuti, incendi di foreste, ecc.) e della lavorazione dei metalli. Sono caratterizzate dalla capacità di accumularsi e persistere a lungo nel terreno entrando nella catena alimentare, come discusso estesamente nel capitolo di E. De Felip nel presente Rapporto.

Nell'uomo, a seguito dell'esposizione a sostanze diossino-simile sono stati riscontrati effetti avversi sia di tipo cancerogeno che non cancerogeno (30). Per quanto attiene la cancerogenesi, la TCDD è stata inclusa nel 1997 dalla IARC nel Gruppo 1 – cancerogeno per l'uomo (31). Nelle popolazioni esposte a TCDD sono stati osservati incrementi di diversi tipi di tumori, in particolare sarcomi dei tessuti molli e linfomi non Hodgkin. Lo studio dell'incidenza dei sarcomi dei tessuti molli nei siti inquinati con presenza di diossine è una componente essenziale della sorveglianza epidemiologica in queste aree (32).

Per quanto riguarda gli effetti non cancerogeni, studi epidemiologici indicano che le sostanze ad azione diossino-simile inducono una varietà di risposte biochimiche (quali variazioni degli enzimi epatici e cambiamenti nei livelli ormonali), alcune delle quali anche a dosi estremamente

basse. Nell'uomo l'effetto più osservato per esposizione ad alti livelli di TCDD è la cloracne. Altri effetti sono la iperpigmentazione della pelle e l'irsutismo. La TCDD può causare anche alterazioni del metabolismo del glucosio e alcune evidenze ci sono che ci sia una correlazione tra esposizione occupazionale o incidentale e l'incidenza del diabete. Altri dati suggeriscono inoltre alterazioni delle funzioni tiroidee, del sistema immunitario e una azione tossica sul sistema cardiovascolare. Alcuni studi suggeriscono un'associazione tra esposizioni elevate a sostanze ad azione-diossino-simile e iperlipemia, aumento di attacchi ischemici coronarici, danni alle valvole cardiache e retinopatie. È stato inoltre osservato un cambiamento nella *sex ratio* con un aumento di nascite di neonati di sesso femminile a seguito della esposizione paterna a sostanze ad azione-diossino-simile. È stata segnalata infine un'azione neurotossica suggerita da una riduzione delle funzioni cognitive e disturbi del comportamento nei bambini che erano stati esposti a queste sostanze nella vita fetale e post-natale.

Sulla base di questi elementi l'EPA (33) valuta che le sostanze diossino-simili siano cancerogene e immunotossiche, e raccomanda studi ulteriori sulla riproduzione, gli effetti sullo sviluppo, e gli effetti sugli apparati cardiovascolare e polmonare.

Poiché una delle principali problematiche dell'epidemiologia ambientale nei siti inquinati è lo studio dei possibili effetti sanitari dei processi industriali e di incenerimento dei rifiuti che comportano rilascio di sostanze ad azione diossino-simile, la sorveglianza epidemiologica dei tumori, in particolare i sarcomi dei tessuti molli, e di altre patologie non tumorali, in rapporto alla residenza in prossimità di sorgenti di diossina nel territorio, è da considerarsi prioritaria e può essere progettata in modo appropriato individuando indicatori di salute che misurino l'accadimento delle patologie per le quali le conoscenze *a priori* indichino un ruolo causale certo o probabile della diossina con sufficiente specificità. Tale piano di sorveglianza epidemiologica in aree con inceneritori dovrebbe includere, come proposto da Bianchi (34), oltre alla individuazione dei casi, anche il monitoraggio biologico e ambientale delle sostanze ad azione diossino-simile.

Discussione

Nel valutare l'importanza delle ipotesi *a priori* e delle possibilità di commentarle in relazione ai limiti di contesto, considerata anzitutto la validità e fattibilità (35), va tenuto in conto che i risultati dei singoli studi inevitabilmente andranno considerati come "indizi" difficilmente interpretabili se visti singolarmente, a meno di segnali molto forti e specifici (che corroborano fortemente le ipotesi ovvero le generano). Ciascun "indizio" può prendere maggiore o minore forza in relazione al contesto di caratterizzazione epidemiologica, nel quale andrebbe valutata la loro coerenza d'insieme. Inoltre, nel procedere dalla definizione del profilo di pericolo a quella del profilo di rischio, la progressiva acquisizione di informazioni, non prevedibile in partenza, può consentire di ridurre gli elementi di incertezza e di commentare i risultati ottenuti con accenti meno interlocutori.

Nel percorso di caratterizzazione epidemiologica è auspicabile, come indicato da Terracini nel presente Rapporto, che vengano prodotte stime di rischio attribuibile durante la valutazione di impatto sanitario retrospettiva. Ciò dovrebbe risultare possibile, con incertezza sulle stime progressivamente ridotta, sia al termine della prima generazione di studi, che al termine della caratterizzazione epidemiologica vera e propria. Tali stime d'impatto sarebbero utilizzabili nei vari aspetti di gestione del rischio e di quantificazione del danno.

Nel presente capitolo sono stati proposti alcuni termini, la speranza è che questi, insieme al percorso di caratterizzazione epidemiologica, siano oggetto di discussione affinché si arrivi ad

un glossario standard da altri auspicato (capitolo di B. Terracini nel presente rapporto), e di cui si condivide la necessità per migliorare la comunicazione tra i tecnici e coloro che a vario titolo usufruiscono delle informazioni prodotte.

L'importanza degli studi ecologici nell'ambito della caratterizzazione epidemiologica, è stata sottolineata nel presente contributo in più punti, evidenziandone gli aspetti critici ma allo stesso tempo le potenzialità informative quando inseriti all'interno di un *framework* epidemiologico. La rilevanza di un approccio multilivello e la dignità dei singoli livelli, anche di quello ecologico (di popolazione nel suo insieme), emerge nel panorama internazionale in modo marcato dalla visione di alcuni autori, rispetto alle capacità dell'epidemiologia di identificare e valutare i determinanti di malattia e di salute. In particolare Susser e Pearce (36-38), sostengono che nella fase attuale di sviluppo dell'epidemiologia l'analisi sulle cause delle malattie deve integrare i livelli individuale-biologico e di popolazione, senza far collassare l'uno sull'altro. Nel fare questo, secondo Pearce, l'approccio più idoneo non è quello *bottom-up*, che parte dal livello più basso di aggregazione, quello molecolare. È invece più efficace l'approccio *top-down*, che inizia con l'accertamento dei principali fattori che influenzano lo stato di salute nella popolazione, data la necessità di spostare l'attenzione alle strutture sociali e ai processi maggiormente aggredibili; tale approccio però per essere valido richiede l'uso di metodologie idonee e più avanzate.

Date le conoscenze attuali, è chiaro che va considerata l'interrelazione tra cause e non un'unica causa delle malattie: se si considerano i trial clinici come gold standard degli studi epidemiologici, controllando per ogni possibile altro fattore diverso da quello specifico di interesse, si rischia di eliminare tutte le altre cause e di perdere la multifattorialità del processo causale (38). L'esigenza di una prospettiva multifattoriale della causalità e dell'integrazione dei diversi livelli di aggregazione negli studi è stato posto da Susser, come paradigma della nuova era dell'epidemiologia, quella della "Eco-epidemiologia", e da lui denominato della "scatola cinese". Questa seguirebbe quella dell'epidemiologia delle malattie croniche, che aveva avuto come paradigma la "scatola nera", ovvero un'associazione di un'unica esposizione con una malattia, senza entrare nella comprensione dei meccanismi. Gli epidemiologi dovranno quindi tener sempre presente l'obiettivo di vedere tutti i livelli rilevanti all'insieme: ogni livello deve essere visto come sistema in sé e che interagisce con il livello precedente e quello successivo.

Considerazioni conclusive

Alla luce di quanto esposto, si ritiene che, pur con le limitazioni discusse nei paragrafi precedenti, le indagini epidemiologiche nei siti inquinati possano oggi qualificarsi dal punto di vista della loro persuasività scientifica attraverso tre modalità.

In primo luogo, è necessario un continuo processo di miglioramento della validità dei disegni di studio adottati, come discusso estesamente in diversi capitoli del presente rapporto (in particolare quelli di Pirastu *et al.*, Iavarone, Bianchi e Terracini).

In secondo luogo, i singoli studi svolti in un determinato sito devono essere collocati in un percorso di caratterizzazione epidemiologica, come descritto nel presente capitolo, perché questo percorso può garantire la coerenza di insieme del quadro conoscitivo e la progressiva riduzione dei margini d'incertezza.

Infine, per quanto riguarda il contributo dell'indagine epidemiologica alle valutazioni dei nessi causali, e quindi alle stime dei casi attribuibili, all'individuazione delle priorità per gli interventi di risanamento e, in prospettiva, alla valutazione dell'efficacia delle bonifiche effettuate, occorre fare riferimento in particolare ad alcuni criteri rilevanti nel contesto dei siti

inquinati, quali la riproducibilità dei dati, la coerenza temporale, l'eventuale relazione dose-risposta e la plausibilità biologica, che richiedono, per essere considerati con adeguato rigore, gruppi di lavoro multidisciplinari e interistituzionali.

Lo sviluppo di questo tipo di studi richiede, da parte delle strutture pubbliche coinvolte, condivisione degli obiettivi e capacità di collaborazione impegnando le rispettive competenze e professionalità. In questo scenario, è ragionevole prevedere positive sinergie con le comunità interessate, i loro amministratori e tutti i soggetti a vario titolo interessati a partecipare alla riqualificazione del territorio.

Bibliografia

1. European Environment Agency. *EEA. Progress in management of contaminated sites (CSI 015)*. Anno 2007. disponibile all'indirizzo: http://themes.eea.europa.eu/IMS/ISpecs/ISpecification20041007131746/IAssessment1152619898983/view_content; ultima consultazione 10/10/07.
2. Musmeci L. Criteri per l'individuazione delle aree oggetto di bonifica: siti di interesse nazionale. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'UNIONE Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/1). p. 35-7.
3. Cori L, Tassoni E. Attività di bonifica e Fondi strutturali. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/1). p. 7-34.
4. Bianchi F, Comba P (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19).
5. Bianchi F, Biggeri A, Cadum E, Comba P, Forastiere F, Martuzzi M, Terracini B. Epidemiologia ambientale e aree inquinate in Italia. *Epidemiologia & Prevenzione* 2006;30(3):146-52.
6. Iavarone I. Valutazione dell'esposizione ad inquinanti ambientali. In: Bianchi F, Comba P. (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). p. 18-33.
7. Trinca S. Condivisione dell'informazione geografica come strumento per la gestione e l'analisi di fenomeni ambientali e sanitari. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'UNIONE Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/1). p. 141-7.
8. Trinca S, Altavista P, Binazzi A, Mastrantonio M, Uccelli R, Stampo M, Rocchia N, Cossa L, Vanacore N, Comba P. Polo industriale di Termoli e sito di interesse nazionale per le bonifiche di Guglionesi: risultati preliminari dello studio di mortalità. In: Bianchi F, Comba P. (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). p. 185-95.
9. Martuzzi M, Cocchi M. Valutazione di impatto sanitario: uno strumento di valutazione e di partecipazione. In: Bianchi F, Comba P. (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). p. 71-7.
10. Comba P, Belli S, Pasetto R, Pirastu R. Studi di epidemiologia analitica nei siti di interesse nazionale per le bonifiche. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'UNIONE Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/1). p. 115-22.

11. Pasetto R, Pirastu R. Studio di coorte nel contesto dei siti inquinati. In: Bianchi F, Comba P. (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). p. 34-50.
12. Olsen S.F., Martuzzi M., Elliott P. Cluster analysis and disease mapping – Why, when, and how? A step by step guide. *BMJ* 1999;313:863-6.
13. Elliott P, Wartenberg D. Spatial Epidemiology: current approaches and future challenges. *Environ Health Perspect* 2004;112:998-1006.
14. Martuzzi, M. Mitis F. Metodi e strumenti per studi epidemiologici di mortalità su base geografica in Italia. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.) *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'UNIONE Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/1). p. 68-74.
15. Schwartz BS, Rischitelli G, Hu H. The future of environmental medicine in Environmental Health Perspectives: Where should we be headed? [Editorial]. *Environ Health Perspectives* 2005;113:A574-6.
16. Bonassi S, Ceppi M, Puntoni R *et al.* Mortality studies of dockyard workers (longshorem) in Italy. *Am J Ind Med* 1985;7:219-27.
17. Forastiere F, Pupp N, Magliola E, Valesini S, Tidei F, Perucci CA. Respiratory cancer mortality among workers employed in thermoelectric power plants. *Scand J Work Environ Health* 1989;15:383-6.
18. Rapiti E, Turi E, Forastiere F *et al.* A mortality cohort study of seamen in Italy. *Am J Ind Med* 1992;21:863-72.
19. Crosignani P, Forastiere F, Petrelli G *et al.* Malignant mesothelioma in thermoelectric power plant workers in Italy. *Am J Ind Med* 1995;27:573-6.
20. Tasco C, Altavista P, Forastiere F *et al.* *Mortalità nelle Unità Sanitarie Locali del Lazio, 1980-1984*. Progetto Salute 1992;19:1-98.
21. Fano V, Michelozzi P, Ancona C, Capon A, Forastiere F, Perucci CA. Occupational and environmental exposures and lung cancer in an industrialised area in Italy. *Occup Environ Med* 2004;61:757-63.
22. Palange S, Ascoli V, Carnovale-Scalzo C *et al.* Estimates of pleural mesothelioma incidence in the Lazio region (Italy), 1997-2000. *Med Lav* 2004;95:45-54.
23. Forastiere F, Corbo GM, Michelozzi P *et al.* Effects of environment and passive smoking on the respiratory health of children. *Int J Epidemiol* 1992;21:66-73.
24. Forastiere F, Corbo GM, Pistelli R *et al.* Bronchial responsiveness in children living in areas with different air pollution levels. *Arch Environ Health* 1994;49:111-8.
25. Fano V, Forastiere F, Papini P, Tancioni V, Di Napoli A, Perucci CA. Mortality and hospital admissions in the industrial area of Civitavecchia, 1997-2004. *Epidemiol Prev* 2006;30:221-6.
26. Comba P, Bianchi F, Fazzo L *et al.* Cancer mortality in an area of Campania (Italy) characterized by multiple toxic dumping sites. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1076:449-61.
27. Fazzo L, Belli S, Minichilli F, *et al.* Cluster analysis of mortality and malformations in an area of Campania with multiple toxic waste dumping sites. *Ann Ist Super Sanita* 2007, in stampa.
28. Leonardi M, Madeo L, Martini MG, M. M, Trinca T, Cossa L, Carboni C, Comba P, Musmeci L, Bellino M, Falleni F, Piccardi A, ARPA Campania. *Trattamento dei rifiuti in Campania: Impatto sulla salute umana. Messa a punto di indicatori sintetici di pericolosità e di esposizione a rifiuti*. Roma, 2007, in stampa.
29. Trinca S, Martini G, Cossa L, Falleni F, Matteucci M, Piccardi A, Musmeci L. Indicators of Waste Exposure in an Area of Campania (Southern Italy) Characterized by Numerous Dumping Sites, 21 Conference ENVIROINFO 2007, Warsaw, 12-16 settembre 2007.
30. Schecter A, Birnbaum L, Ryan JJ, Constable JD. Dioxins: an overview. *Environ Res* 2006;10:419-2.
31. International Agency for Research on Cancer. *Polychlorinated dibenzo-para-dioxins and polychlorinated dibenzofurans*. Lyon: IARC; 1997. vol. 69.

32. Benedetti M, Miniero R, Comba P. Proposta di criteri per la sorveglianza dei sarcoma dei tessuti molli in prossimità di siti inquinati da sostanze chimiche ad azione diossino-simile. In Appelgren E, Ruggeri P, Alegiani SS (Ed). *Epidemiologia per la sorveglianza: dal disegno alla comunicazione*. ISTISAN Congressi 06/C2 2006. pag 70.
33. Committee on EPA's exposure and Human Health Reassessment of TCDD and Related Compounds, National Research Council of the National Academies. *Health risks from dioxin and related compounds evaluation of the EPA Reassessment*. National Academies Press 2006.
34. Bianchi F. Biomonitoraggio in epidemiologia ambientale. In: Bianchi F, Comba P. (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). p. 51-67.
35. Comba P, Fazzo L. Disegno dello studio epidemiologico nei siti inquinati: aspetti di validità, fattibilità. In: Bianchi F, Comba P. (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). p. 5-17.
36. Susser M, Susser E. Choosing a future for epidemiology: II. From Clach Box to Chinese Boxes and Eco-epidemiology. *Am J Public Health* 1996;86:674-7.
37. Susser M. Does risk factor epidemiology put epidemiology at risk? Peering into the future. *J Epidemiol Community Health* 1998;52:608-11.
38. Pearce N. Traditional epidemiology, modern epidemiology, and public health. *Am J Public Health* 1996;86:678-83.

Allegato - Scelta dei limiti di confidenza delle stime di rischio in relazione alla consistenza delle ipotesi a priori

Anzitutto va chiarito che l'intervallo di confidenza (IC) di una "stima puntuale di rischio" esprime il livello di incertezza di tale stima, dando un'indicazione sulla sua precisione. Più ampio è l'intervallo, minore è la precisione della stima puntuale osservata.

Il riferimento all'espressione "statisticamente significativo" per distinguere stime di rischio relativo (inteso in termini generici) supportate dall'IC da quelle non supportate dallo IC (¹), non risponde al livello informativo ottenuto tramite la stima puntuale e il suo intervallo di confidenza (1) e tale formula non va utilizzata (2).

Utilizzando gli IC nella verifica di associazioni, per distinguere risultati rilevanti da risultati che non lo sono, secondo una classificazione dicotomica, si può ricadere nell'errore di dare maggiore rilevanza ad un'informazione sulla quale non si hanno elementi, piuttosto che evidenziare l'informazione presente anche se poco consistente. C'è il rischio cioè di indicare come negativi, risultati positivi con incertezza della stima che non possa escludere anche risultati non positivi, e di indicare come positivi o, più di consueto, come non negativi, risultati negativi con incertezza della stima che non possa escludere anche risultati non negativi.

Sulla base del ragionamento sopra esposto, va criticato anche l'utilizzo degli intervalli di confidenza delle stime come condizione per la ricerca di un equilibrio tra la possibilità di evidenziare falsi positivi e quella di far emergere falsi negativi. Secondo tale ragionamento i limiti dell'intervallo di confidenza definirebbero delle linee di demarcazione così che, aumentando il livello di confidenza delle stime, diminuirebbe la probabilità di evidenziare falsi positivi e aumenterebbe quella di far emergere falsi negativi. Il problema dell'incertezza della stima, frutto della casualità campionaria, risulterebbe accentuato negli studi epidemiologici relativi ai siti inquinati per il problema della numerosità delle popolazioni (²) studiate, i cui vincoli sono dati dal contesto più che risultare da una scelta del ricercatore. Inevitabilmente, studi su popolazioni poco numerose, determinano stime poco precise soprattutto per le patologie rare e/o a bassa frazione etiologica rispetto ai rischi in indagine.

La possibilità di interpretare in modo non appropriato gli intervalli di confidenza, cresce con l'incertezza delle ipotesi a priori che si vogliono verificare negli studi analitici, o con l'incertezza delle informazioni sulla base delle quali viene definito il profilo di pericolo, per valutare il profilo di rischio a livello di popolazione, tramite gli studi ecologici.

La consuetudine ha portato a utilizzare con maggiore frequenza il livello del 95%, anche se recentemente tale scelta è stata messa in discussione, proprio in relazione all'utilizzo inappropriato degli IC (2).

La scelta dell'intervallo di confidenza delle stime va considerata nel quadro di una attenta valutazione degli elementi portanti dello studio, anche in previsione dei possibili commenti ai risultati ottenuti.

Nel caso di studi analitici rivolti alla verifica di specifiche ipotesi è preferibile utilizzare gli intervalli di confidenza al 90% quando le conoscenze a priori sul rischio ci indirizzino decisamente in un verso (aumento o diminuzione) e la potenza statistica risulti relativamente bassa. In questo caso l'attenzione è rivolta a priori ad un aumento o diminuzione del rischio e non ad una sua variazione nei due versi. Questa è la situazione presa in esame da Finkelstein (4) con riferimento alla patologia da amianto, e da Darby *et al* (5) e dalla IARC (6) per quanto attiene gli effetti avversi delle radiazioni ionizzanti.

Nel caso di studi descrittivi ecologici con ipotesi forti rispetto al profilo di pericolo, la scelta più appropriata sembrerebbe quella di intervalli di confidenza al 90% per le ragioni appena indicate.

¹ L'Intervallo di Confidenza allo X% (con X variabile da 1 a 100 anche se i livelli scelti di consueto sono 90, 95 e 99%) di una stima puntuale osservata, indica che si è confidenti al livello X% che il parametro della popolazione sia incluso nell'IC (3). La stima osservata si intende supportata dallo IC al livello di confidenza scelto, quando tale intervallo non comprende il valore di riferimento, che nel confronto tra rischi per la verifica di associazioni è uguale ad 1.0, indice di rischio uguale nei gruppi a confronto. La stima osservata non si intende supportata dallo IC, quando tale intervallo comprende il valore di riferimento, nel confronto tra rischi comprende il valore 1.0.

² Il termine *popolazione* non è inteso nell'accezione statistica secondo la quale l'inferenza sulla popolazione è fatta a partire da un campione, indica invece la popolazione direttamente studiata negli studi osservazionali.

Negli studi analitici nel caso di forti ipotesi a priori, di una elevata numerosità della popolazione in studio e della possibilità di controllare in modo accurato le condizioni di validità, all'IC può essere associato un test di ipotesi, indicando il valore della P per esteso, senza definizione di un limite categorico (come ad esempio quello comunemente usato di $P < 0.05$), lasciando alla discussione il commento sulla forza del risultato ottenuto anche in relazione alle varie caratteristiche dello studio (2).

Rispetto a tali valutazioni e in riferimento agli studi nei siti inquinati, più le ipotesi a priori sono forti e consistenti, più si è interessati alla verifica della direzione del rischio piuttosto che alla auspicata precisione della stima. Allo stesso modo negli studi ecologici con più *outcome*, si è più interessati alla coerenza della direzione del profilo di rischio osservato che alla precisione di ogni singola stima di rischio.

Quando le ipotesi a priori relative agli studi analitici e agli studi ecologici sono poco consistenti e, quindi, soprattutto nelle fasi preliminari di osservazione epidemiologica in un sito inquinato, sembra appropriato scegliere intervalli di confidenza al 95% o al 90% (questi ultimi più opportuni nel caso di popolazioni poco numerose), stando sempre attenti ad evitare il loro utilizzo come surrogato di un test di ipotesi e concentrando l'attenzione nel commento ai risultati sulla grandezza della stima osservata e sulla sua incertezza.

I limiti proposti in funzione della consistenza delle ipotesi a priori forniscono un orientamento, il problema sostanziale è quello della comprensione del significato degli IC, delle caratteristiche degli studi proposti (componenti di numerosità della popolazione osservata e validità), della forza delle ipotesi a priori e quindi della lettura adeguata dei risultati ottenuti.

Bibliografia

1. Rothman KJ. *Epidemiology. An introduction*. New York, Oxford University Press, 2002. pag 113-29.
2. Sterne JAC, Davey Smith G. Sifting the evidence what's wrong with significance test? *BMJ* 2001;322:226-31.
3. Woolson RF, Clarke WR. *Statistical methods for the analysis of biomedical data*. New York, Wiley & Sons. Inc., 2002. pag 120.
4. Finkelstein MM. Asbestos-associated cancers in the Ontario refinery and petrochemical sector. *Am J Ind Med* 1996;30:610-5.
5. Darby SC, Kendall GM, Fell TP, Doll R, Goodill AA, Conquest AJ, Jackson DA, Haylock RGE. Further follow-up of mortality and incidence of cancer in men from the United Kingdom who participated in the United Kingdom's atmospheric nuclear weapon tests and experimental programmes. *BMJ* 1993;307:1530-5.
6. International Agency for Research on Cancer Study group on cancer risk among nuclear industry workers. Direct estimates of cancer mortality due to low doses of ionising radiation. *Lancet* 1994;344:1039-43.

MORTALITÀ NEI SITI INQUINATI: UTILIZZO DELLE CAUSE MULTIPLE

Susanna Conti, Stefano Maria D'Ottavi, Giada Minelli
Ufficio di Statistica, Istituto Superiore di Sanità. Roma

Introduzione

La mortalità costituisce il più solido degli indicatori epidemiologici poiché i relativi dati sono disponibili a livello nazionale e internazionale in modo esaustivo e su ampie serie storiche.

Si tratta di dati che i vari Istituti di Statistica raccolgono routinariamente e codificano sulla base di metodologie standardizzate predisposte a livello internazionale, il che consente confronti tra dati omogenei.

Nel nostro Paese, presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) – a cura dell'Ufficio di Statistica – esiste un'apposita base di dati che è costruita a partire dai dati ufficiali di mortalità e di popolazione forniti dall'ISTAT a livello comunale, provinciale, regionale e nazionale, che negli anni sono stati analizzati sia per studi specifici che per analisi sistematiche. La serie storica inizia dal 1969, i dati più recenti rilasciati dall'ISTAT sono relativi al 2002; i dati a livello comunale sono stati resi disponibili dall'ISTAT a partire dalla mortalità del 1982.

Quando si parla senza altre specificazione di “dati di mortalità”, si intendono i dati in cui per ciascun individuo è codificata la cosiddetta “Causa di Morte Iniziale”, che è riportata sulla scheda di morte compilata dal medico necroscopo e che individua “la malattia che, attraverso eventuali complicazioni o stati morbosi intermedi, ha portato al decesso”. La codifica è effettuata dall'ISTAT secondo le *International Classification of Diseases (ICD)* che vengono periodicamente aggiornate a livello internazionale, andandone a costituire le diverse “Revisioni”. Fino alla mortalità del 2002 nel nostro Paese è stata adottata la IX Revisione.

Le cause multiple di morte

Sebbene il concetto di causa iniziale di morte (*underlying*, nella terminologia anglosassone) sia di semplice e immediata comprensione e tale causa sia, come già osservato, una misura di mortalità accettata a livello internazionale, spesso essa non rappresenta completamente la complessità delle condizioni patologiche od eventi che hanno portato al decesso. Poiché molti decessi sono il risultato di più condizioni patologiche, considerare solo la causa iniziale non consente di tenere conto di utili informazioni su condizioni morbose che sopravvivono, contribuiscono ovvero competono con altre, che sono peraltro riportate, in modo sostanzialmente omogeneo, nelle schede di morte dei vari Paesi.

Nella scheda di morte adottata nel nostro Paese, compilata dal medico necroscopo, sono contenute le cosiddette “cause multiple”, ovvero:

- la “causa intermedia o complicazione”, che è l'eventuale complicanza o successione morbosa della malattia indicata come causa iniziale;
- la “causa terminale”, che è la malattia o stato morboso che ha direttamente provocato il decesso;

- gli “altri stati morbosi rilevanti”, che sono le eventuali malattie o gli stati morbosi che hanno contribuito al decesso, senza però rapporto diretto con le altre causa sopra menzionate.

Le potenzialità dell’analisi delle cause multiple di morte sono molteplici e sono state evidenziate in alcuni lavori internazionali (1, 2, 3): è possibile studiare quelle malattie croniche che non spesso compaiono come cause iniziali (quali la Malattia di *Alzheimer*, il diabete, la polmonite); inoltre, esse contribuiscono allo studio della “co-morbidità”, cioè dell’associazione tra condizioni che portano alla morte (per esempio esaminando la frequenza della co-presenza di malattie quali il diabete e le malattie ischemiche del cuore).

Laddove, poi, le cause multiple siano registrate *in extenso*, cioè riproducendo esattamente quanto il medico ha scritto sulla scheda di morte, è possibile svolgere ulteriori analisi relative a quelle cause che non hanno una specifica voce nella codifica ICD: si pensi al mesotelioma della pleura, che rientra nella più generale voce “Tumori Maligni della Pleura”, denotata dal codice 163 della ICD IX.

Come tutte le fonti di dati, anche le cause multiple presentano dei limiti: in primo luogo vi è la questione della qualità dei dati nonché la variabilità nell’interpretare le condizioni mediche da parte dei certificatori (1).

Solo in alcuni Paesi, quali gli Stati Uniti, il Sud Africa e l’Australia, le cause multiple vengono analizzate (1, 2, 3, 4, 5, 6) dopo essere state codificate secondo la ICD.

In Italia fino ad oggi sono stati compiute solo due ricerche che si sono avvalse delle potenzialità per la ricerca epidemiologica dello studio delle cause multiple di morte, entrambe a cura del gruppo di ricerca guidato dall’autrice: una sulle persone sieropositive decedute (7) e uno, che a titolo esemplificativo, riassumiamo nel seguito (8).

Lo studio della mortalità degli anziani a Genova durante l’ondata di calore dell’estate 2003: un esempio di uso epidemiologico delle cause di morte multiple in sanità pubblica

Come tutti ricordiamo, l’estate del 2003 è stata caratterizzata in tutta Europa e anche nel nostro Paese da un’eccezionale ondata di calore, assolutamente inconsueta per durata e intensità. Dopo lo studio compiuto dall’Ufficio di Statistica dell’ISS su quanto accaduto nelle città capoluogo di Regione/Provincia Autonoma, (9) che possiamo riassumere in un aumento della mortalità osservato nelle aree urbane tra le persone ultra-settantatrenni, è stato effettuato uno studio speciale su Genova, una delle città in cui si è registrato il più grande eccesso di mortalità.

Per studiare in modo approfondito le cause specifiche di morte, sono stati analizzati, seguendo le regole relative al trattamento dei dati sensibili stabilite dalle norme a tutela della privacy vigenti in Italia, tutte le schede di morte, fornite dalle autorità di Sanità Pubblica, delle persone ultra-settantatrenni, residenti a Genova e ivi decedute nel periodo 16 luglio-31 agosto degli anni 2003 e 2002. Le cause di morte sono state appositamente codificate dagli autori dello studio secondo la IX Rev. ICD.

I certificati di morte analizzati nello studio sono stati 588 per il 2002 e 962 per il 2003.

Sono state prese in esame e codificate tutte le cause di morte riportate sui certificati: la causa iniziale, quella intermedia, quella finale e le altre condizioni morbose rilevanti; per studiare in modo approfondito le patologie che hanno contribuito alla mortalità delle persone in esame, sono state analizzate in particolare la causa iniziale, cioè quella che ha avviato il concatenamento degli eventi morbosi che ha condotto alla morte e tutte le cause intermedie o complicazioni, insieme agli altri stati morbosi rilevanti.

Sono state selezionate le condizioni patologiche che emergono o si aggravano nelle persone anziane, con l'esposizione alle ondate di calore, ovvero che richiedono l'uso di farmaci che interferiscono con l'omeostasi.

Sono state poste a confronto le frequenze relative delle singole patologie nel periodo esaminato del 2002 e del 2003.

Ai fini di questa esposizione, enucleiamo dallo studio l'analisi di tutte le condizioni morbose che hanno contribuito al decesso, escludendo la causa iniziale e quella finale, di solito attribuita ad una condizione del tutto generica e aspecifica.

Questo tipo di analisi ha consentito di evidenziare malattie o condizioni patologiche che per la loro natura non compaiono affatto o compaiono raramente come cause iniziali di morte, ma che nelle condizioni ambientali particolari create da una forte e persistente ondata di calore hanno contribuito al decesso degli anziani e che in letteratura internazionale sono denominate *heat-aggravated illnesses*, quali: l'ipovolemia, l'insufficienza renale, la gangrena diabetica, vari disturbi cerebrali, la Malattia di Alzheimer, l'insufficienza cardiaca e altre forme di ischemia cardiaca cronica, la BPCO, le polmoniti e bronchiti croniche, l'epilessia, la setticemia, le diatesi emorragiche, il marasma senile; si è anche osservato un eccesso di sintomi e segni morbosi quali i decubiti e le piaghe, le sindromi da "allettamento", la dispnea, la febbre elevata di origine sconosciuta; si è osservata solo nel 2003 tra le cause che hanno contribuito al decesso la polmonite *ab ingestis*. Riprendiamo dal lavoro citato un elenco delle patologie che sono emerse tra le cause di morte in eccesso tra gli anziani di Genova (Tabella 1) (8).

Tabella 1. Selezionate condizioni patologiche, che hanno contribuito alla morte (*), nelle persone ultrasettantaquattrenni, residenti e decedute a Genova dal 16 luglio al 31 agosto del 2002 e nello stesso periodo del 2003 (8)

| Causa | Codice ICD IX Rev. |
|--|--------------------|
| Ipovolemia | 276.5 |
| Insufficienza Renale non specificata | 586 |
| Piressia di origine sconosciuta | 780.6 |
| Gangrena diabetica qualsiasi sede | 250.6 |
| Altri disturbi circolatori encefalo | 437.0-437.9 |
| Infarto Acuto del Miocardio | 410 |
| Insufficienza cardiaca (inclusa Asma cardiaca) | 428.0-428.9 |
| Occlusione arterie cerebrali | 434.0-434.9 |
| Altre forme di ischemia cardiaca cronica | 414.0-414.9 |
| Malattia di <i>Alzheimer</i> | 331.0 |
| Setticemia | 38.9 |
| Epilessia | 345.0-345.9 |
| Decadimento muscolare, atrofia da inattività, "sindrome da allettamento" | 728.2 |
| Decubiti e piaghe | 707.0-707.9 |
| Deterioramento fisico, senilità, marasma senile | 797 |
| Polmonite <i>ab ingestis</i> | 507 |
| Cachessia (non neoplastica) | 799.3, 799.4 |
| Altre diatesi emorragiche | 287.0-287.9 |
| Disturbi cerebrali acuti mal definiti | 436 |
| Arteriosclerosi | 440.0-440.9 |
| Ipotensione | 458.0-458.9 |
| BPCO | 491.2 |
| Dispnea | 786.0 |
| Ischemia Cerebrale Transitoria (TIA) | 435 |
| Polmoniti, Bronchiti croniche | 480-487; 490-491 |

(*) Sono state analizzate la "causa intermedia o complicazione" e gli "altri stati morbosi rilevanti", riportati nelle schede di morte.

Queste analisi hanno costituito non solo un risultato scientifico originale, ma anche uno spunto per indicazioni e azioni di Sanità Pubblica da intraprendere.

In primo luogo va rivolta particolare attenzione alla gestione delle patologie delle persone anziane in cui coesistono più malattie che subiscono, in condizioni climatiche svantaggiose quali l'esposizione a calore e umidità elevati, un aggravamento, ad iniziare dalle patologie croniche debilitanti quali quelle cardiache, cerebrovascolari, respiratorie, renali, i difetti della coagulazione, le alterazioni dell'equilibrio elettrolitico, che possono precipitare da patologie sino a vere e proprie cause di morte e meritano particolare attenzione.

Per tali patologie, come per quelle neurologiche, la gestione terapeutica deve essere adeguata (per indicazione e posologia) alla particolare farmacocinetica dell'anziano, ancor più critica in condizioni di caldo e umidità elevati, per evitare che si comprometta definitivamente un già precario equilibrio.

Le persone con gravi deficit cognitivi (demenze di varia origine, anche come esiti di ictus o in *Alzheimer*) risentono inoltre della difficoltà di percezione delle circostanze ambientali e della soglia di malessere e di attivazione dei meccanismi fisiologici di difesa: ad esempio, alla scarsa sensazione di sete tipica degli anziani si aggiunge la non consapevolezza di andare incontro alla disidratazione e l'impossibilità di comunicare il disagio al *care giver* (supponendo che l'anziano ne abbia uno).

Sono aggravate dalle ondate di calore anche condizioni patologiche e sintomi di per sé non letali, quali la dispnea e la febbre elevata di varia origine e natura.

Una particolare attenzione va inoltre riservata alle persone anziane che non si muovono dal loro letto e deperiscono perché affette da varie forme di grave deterioramento psico-fisico, inclusa la cosiddetta "sindrome da allettamento" e la cachessia senile, particolarmente gravi in condizioni non solo di malattia ma anche di disagio socio assistenziale: decubiti e piaghe possono degenerare in vere e proprie setticemie;

Va posta inoltre molta cura nella delicata gestione dei disturbi dell'alimentazione (solida e liquida) per evitare sia deperimenti che polmoniti *ab ingestis*.

Conclusioni

Come è stato osservato in *review* dedicate all'argomento, nonostante alcune limitazioni, i dati sulle cause multiple di morte consentono a chi si occupa di ricerca epidemiologica di utilizzare al massimo le informazioni diagnostiche presenti sulla scheda di morte (1).

Nell'ambito dello studio sulle caratteristiche di salute delle persone che vivono nei siti inquinati, si sperimenterà un'analisi delle cause multiple di morte, per evidenziare patologie e quadri patologici che possano essere associati alle fonti di inquinamento.

Bibliografia

1. Israel RA, Rosenberg HM, Curtin LR. Analytical potential for multiple-cause-of-death data (Reviews and Commentary). *Am J of Epidem* 1986;124(2):161-79.
2. Wall MM, Huang J, Oswald J, Mc Cullen D. Factors associated with reporting multiple causes of death. *BMC Medical Research Methodology* 2005;5:4. Disponibile all'indirizzo: <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/5/4>; ultima consultazione 24/10/2007.
3. Redelings MD, Wise M, Sorvillo F. Using multiple causes-of-death to investigate associations and causality between conditions listed on the death certificate. *Am J of Epidem* 2007;166(1):104-8.

4. Bah S. *Multiple cause-of-death statistics in South Africa: Their utility and changing profile over the period 1997 to 2001. Discussion paper no. 03.02.* London (CANADA): Population studies centre, University of Western Ontario; 2003. Disponibile all'indirizzo: <http://www.ssc.uwo.ca/sociology/popstudies/dp/dp03-02.pdf>; ultima consultazione 24/10/2007.
5. Gordon C. *Multiple cause of death analysis, 1997-2001.* Publication 3319.0.55.001. Canberra (Australia): Australian Bureau of Statistics; 2003. Disponibile all'indirizzo: <http://www.abs.gov.au/Ausstats/abs@.nsf/Lookup/FDB92CC903BC3DC8CA256D6B0005A769>; ultima consultazione 24/10/2007.
6. Lenfant C, Friedman L, Thom T. Fifty years of death certificates: The Framingham Heart Study. *Ann Intern Med* 1998;129(12):1066-7. Disponibile all'indirizzo: <http://www.annals.org/cgi/content/full/129/12/1066#FN>; ultima consultazione 24/10/2007.
7. Conti S, Masocco M, Pezzotti P, Toccaceli V, Vichi M, Crialesi R, Frova L, Rezza G. Excess Mortality From Liver Disease and other Non-AIDS-Related Diseases Among HIV-Infected Individuals in Italy. *JAIDS* 2002;29(1):105-7.
8. Conti S, Masocco M, Meli P, Minelli G, Palummeri E, Solimini R, Toccaceli V, Vichi M. General and specific mortality among the elderly during the 2003 heat wave in Genoa (Italy). *Environ Res* 2007;103(2):267-74.
9. Conti S, Meli P, Minelli G, Solimini R, Toccaceli V, Vichi M, Beltrano C, Perini L. Epidemiologic study of mortality during the Summer 2003 heat wave in Italy. *Environ Res* 2005;98(3):390-9.

RISARCIMENTO DEL DANNO AMBIENTALE: ASPETTI MEDICO LEGALI

Carlo Bracci (a), Gabriele Norcia (b)

(a) Patronato ACLI nazionale

(b) Patronato INCA CGIL Nazionale

Introduzione

Il risarcimento del danno ambientale è regolato dal DL.vo n. 152 del 3 aprile 2006, artt. 311-316, che sostituiscono l'art. 18 della Legge 349/1986, interamente abrogato, salvo il comma 5. Va rilevato, tuttavia, che l'art. 18 della Legge 349/1986 resta in vigore come norma transitoria per i fatti avvenuti prima dell'entrata in vigore del DL.vo 152/2006.

Nel presente contributo ci proponiamo di esporre alcuni problemi che si presentano quando ci si proponga di ottenere il risarcimento del danno ambientale alla salute umana, con particolare riguardo alle competenze scientifiche che sono necessarie per affrontare i vari momenti.

La legislazione sul risarcimento del danno ambientale è recente e innovativa quindi le nostre osservazioni si devono intendere come indicazioni, da verificare nel confronto con i diversi specialisti e quando ci sarà occasione di affrontare in giudizio casi concreti. Tali osservazioni si basano sull'esperienza maturata in giudizio quali consulenti della magistratura, sia penale sia civile, in casi di patologie da lavoro, che presentano analogie, ma non completa coincidenza con il tema in esame; si tiene conto anche delle regole generali che regolano il processo civile in materia di risarcimento del danno.

La definizione giuridica del danno ambientale è prevista dall'art. 300, comma 1 del DL.vo n. 152/2006: *“È danno ambientale qualsiasi deterioramento significativo e misurabile, diretto o indiretto, di una risorsa naturale o dell'utilità assicurata da quest'ultima”*.

Peraltro, già la Sentenza n. 641/1987 della Corte Costituzionale, affermava: *“...la protezione della salubrità dell'ambiente non persegue astratte finalità naturalistiche, ma esprime l'esigenza di un habitat naturale nel quale l'essere umano vive e agisce e che è necessario alla collettività e, per essa, ai cittadini, secondo valori largamente sentiti; è imposta anzitutto da precetti costituzionali (artt. 9 e 32 della Costituzione), per cui esso assurge a valore primario e assoluto”*.

Risarcimento del danno ambientale: percorso e competenze tecniche

Nella trattazione che segue sarà esposto schematicamente il percorso che rende possibile il risarcimento del danno, sottolineando quali competenze tecniche siano necessarie per affrontare i diversi problemi, limitatamente a quelli che incidono sulla salute umana.

Il compimento di un percorso di tutela risarcitoria del danno ambientale implica che siano affrontati e risolti tre nodi critici: a) l'accertamento di un rapporto di causalità tra il deterioramento dell'ambiente e l'espressione di un danno alla salute umana; b) la definizione di

profili di colpa nelle condotte dell'inquinatore; c) la valutazione medico-legale del danno alla salute.

Vale la pena inoltre di sottolineare che in tale ambito esistono altri aspetti di sicuro interesse giuridico e medico-legale. In primo luogo, la valenza del danno ambientale come *danno evento* prima che come *danno conseguenza*.

Il *danno evento* è quello che si manifesta in caso di concreta situazione di rischio per la salute umana, indipendentemente dal realizzarsi di conseguenze dannose sulla salute umana (danno conseguenza), così come si desume dalla definizione di danno ambientale nell'art. 300 del DL.vo 152/2006, sopra citato.

Inoltre la già citata sentenza n. 641 del 1987 della Corte Costituzionale, ha chiarito che il danno ingiusto da risarcire si pone in modo indifferente rispetto alla produzione di danni-conseguenze, essendo sufficiente per la sua configurazione la lesione in sé di quell'interesse ampio e diffuso alla salvaguardia ambientale, secondo contenuti e dimensioni fissati da norme e provvedimenti del Tribunale. È poi esplicitamente data la priorità alle misure di risanamento ambientale, procedendosi al risarcimento del danno solo quando il risanamento non sia possibile.

In sintesi il danno ambientale colpisce un bene comune, tutelato costituzionalmente (l'ambiente naturale), e può implicare dei riflessi negativi su un altro bene che ha dimensione pubblica e privata, anch'esso tutelato costituzionalmente (la salute). Possono esistere cioè, anche conseguenze individuali e collettive, con possibile valore patrimoniale.

Con un linguaggio giuridico si afferma che il danno ambientale è *danno evento*, contrapposto al *danno conseguenza*, che può, ma non necessariamente deve affiancarsi al primo.

Perché si verifichi il *danno evento* è necessario che l'inquinamento sia tale da determinare un concreto rischio per la salute umana. A questo proposito potrà essere chiesto all'esperto se i dati rilevati costituiscano un reale e concreto rischio per la salute umana.

Ad esempio, in caso di esposizione a campi magnetici abbiamo a 50 Hz (1) abbiamo limiti diversificati: a) il limite d'esposizione, ai fini della tutela della salute da effetti acuti è definito come valore di immissione che non deve essere superato in alcuna condizione di esposizione; b) il valore di attenzione, valore di immissione che non deve essere superato negli ambienti abitativi, scolastici e nei luoghi adibiti a permanenze prolungate: costituisce misura di cautela ai fini della protezione da possibili effetti a lungo termine; c) gli obiettivi di qualità cioè i criteri localizzativi, standard urbanistici, prescrizioni e incentivazioni per l'utilizzo delle migliori tecnologie disponibili, indicati da leggi regionali o nazionali ai fini della progressiva minimizzazione dell'esposizione ai campi medesimi.

Mentre il limite di esposizione protegge da effetti avversi accertati, valore di attenzione e obiettivo di qualità sono stati introdotti in base al principio di precauzione per tenere conto di possibili effetti avversi a lungo termine.

In altri casi il valore limite possono essere stabiliti in base alla capacità dei metodi analitici, essendo inutile stabilire valori non rilevabili con le strumentazioni in uso; nel caso di cancerogeni il superamento del limite può essere indicativo di un rischio concreto.

Le competenze per rispondere a questi problemi sono molteplici; un ruolo importante è sicuramente quello dei tossicologi e degli epidemiologi.

Se il danno ambientale provoca un pregiudizio economico il risarcimento segue le regole generali della responsabilità civile e in questo caso il danno ambientale si configura come *danno conseguenza*.

Il rapporto di causalità

Il giudizio sul rapporto di causalità tra danno ambientale e conseguenze sulla salute umana si basa sui seguenti criteri di validità generale e abitualmente adottati in medicina legale:

1. Qualitativo
2. Quantitativo
3. Modale
4. Temporale
5. Di esclusione di altre cause capaci da sole di determinare l'evento.

La valutazione del rapporto di causalità si basa su un'analisi critica della letteratura scientifica e dei giudizi espressi dalle Agenzie Internazionali e Nazionali, secondo un criterio di elevata probabilità; le competenze dell'epidemiologo appaiono centrali.

1. Criterio qualitativo

La capacità lesiva dell'inquinante identificato deve essere tale da determinare gli effetti dannosi sulla salute umana identificati nella popolazione studiata. Naturalmente, perché sia rispettato il criterio qualitativo deve esserci coerenza tra sostanza tossica, effetto dannoso e organo o tessuto bersaglio. Ad esempio: cromo esavalente e tumore del polmone; amianto e mesotelioma e tumore del polmone.

2. Criterio quantitativo

È valutata la capacità lesiva delle concentrazioni di inquinanti rilevate sulla base delle conoscenze scientifiche (dati sperimentali ed epidemiologici). Importante valutare il significato dei valori limite degli inquinanti in gioco. Può essere utile un riferimento ad alcune norme o direttive di carattere nazionale e internazionale (ad esempio Normativa sullo smaltimento dei rifiuti contenuta nel DPR 915 del 10 settembre 1982; indicazioni contenute nella direttiva CEE 67/548 sulla classificazione delle sostanze pericolose, vedi DM Ministero della Sanità 17 dicembre 1977).

3. Criterio modale

Deve esserci congruità delle vie di assorbimento rispetto alle patologie rilevate.

4. Criterio cronologico

Va verificata l'adeguatezza della durata dell'esposizione e del periodo di latenza.

5. Criterio di esclusione di altre cause capaci da sole di determinare l'evento.

Va tenuto conto delle possibili interazioni tra i diversi fattori di rischio, ad esempio consumo di alcol, epatite virale B e C ed esposizione a epatotossici, i cosiddetti *fattori di confondimento* degli epidemiologi.

È inoltre opportuno inserire un sesto criterio per definire il "criterio epidemiologico, o di attendibilità scientifica, che deve tener conto della difficoltà di trasferire sul piano del ragionamento giuridico principi e schemi propri del ragionamento scientifico, che ha altre finalità. Il significato e il valore della prova sono diversi nei due ambiti; nel diritto italiano si tiene conto del criterio di alta probabilità, senza che sia espressamente definito quando un livello di probabilità sia da considerarsi elevato o alto.

È lecito, cioè, porsi una domanda: nel caso che l'indagine epidemiologica evidenzi un eccesso di patologie nella popolazione esposta, che queste patologie siano attribuibili all'esposizione in rapporto alle conoscenze scientifiche consolidate, è raggiunta la prova del rapporto tra inquinamento e danno alla salute? O è necessaria l'analisi dei singoli casi?

La risposta dipende dalle caratteristiche della situazione in esame. In alcune circostanze può essere opportuna, se non indispensabile, l'analisi dei singoli casi. Ad esempio: a) quando è necessaria la precisazione diagnostica (*best evidence*) b) quando i numeri sono piccoli e non c'è

certezza che i fattori di confondimento siano ugualmente presenti nei casi e nei controlli c) quando i casi possono essere stati esposti allo stesso rischio in esame, ma in situazioni differenti da quella in esame.

In queste situazioni il dato epidemiologico deve essere affiancato da quello clinico, desunto dalla documentazione sanitaria e dall'eventuale visita clinica dei diversi soggetti.

Dalla letteratura scientifica prendiamo tre esempi, tra i meno complessi, per provare a delineare un percorso:

- *L'asma da dispersione di farina di soia nel Porto di Barcellona (2, 3).*
L'identificazione di *cluster* spazio-temporali di asma da farina di soia che hanno richiesto la ospedalizzazione, in concomitanza di operazioni di carico e scarico dai silos del porto e la cessazione degli episodi dopo l'applicazione di filtri permettono di affermare con certezza il rapporto di causalità. È da notare che la diagnosi ospedaliera dei singoli casi, basata sul quadro clinico e sulle prove immunologiche, è di certezza
- *I mesoteliomi da amianto nella popolazione generale a Casale Monferrato (4)*
L'epidemia si origina dalla dispersione di fibre di amianto provenienti da uno stabilimento Eternit. La diagnosi è confermata dall'esame istologico secondo i criteri accettati internazionalmente; per i singoli casi sono state esaminate le possibili esposizioni lavorative e quelle domestiche (in particolare da lavaggio degli abiti da lavoro di un dipendente Eternit)
- *Le malattie respiratorie nei bambini di Civitavecchia (5, 6)*
Lo studio mette a confronto i disturbi respiratori rilevati in bambini abitanti a Civitavecchia (esposti a inquinamento urbano e industriale proveniente da una centrale termoelettrica), nel centro di Roma (esposti a inquinamento urbano) e a Tarquinia (città agricola, senza particolari esposizioni ad agenti inquinanti). Per ogni bambino sono stati indagati eventuali fattori di confondimento e in particolare la esposizione a fumo passivo in casa, la positività alle prove allergiche. È stato così possibile attribuire un peso ai diversi tipi di inquinamento.

Un esame dei tre esempi sopra esposti dimostra come lo studio epidemiologico sia basato sull'esame dei singoli casi.

Nel caso di studi che non siano condotti con tali modalità, ad esempio ipotizzando che i fattori di confondimento (come il consumo di sigarette o quello di alcolici) siano ugualmente presenti nei casi e nei controlli, o nel caso di studi descrittivi, la mancata analisi dei singoli casi può essere di ostacolo al riconoscimento in giudizio del diritto al risarcimento, o almeno dell'entità dello stesso.

Valga per tutti un esempio tratto da un'esperienza giudiziaria.

In un petrolchimico sono stati accertati quattro decessi per mesotelioma pleurico; uno dei soggetti aveva lavorato per i primi venti anni in un cantiere navale, uno aveva lavorato per quindici anni in un altro petrolchimico; gli altri due avevano lavorato solo nel petrolchimico oggetto dell'indagine. È evidente che la richiesta del risarcimento del danno da parte dei superstiti o delle spese sanitarie sostenute dalla Regione poteva essere sostenuta solo per gli ultimi due casi (7).

La colpa

L'art. 311 DL.vo. n. 152/2006 comma 2, stabilisce che “*Chiunque, realizzando un fatto illecito, o omettendo attività o comportamenti doverosi, con violazione di legge, di regolamento, o di provvedimento amministrativo, con negligenza, imperizia, imprudenza o violazione di*

norme tecniche, arrechi danno all'ambiente, alterandolo, deteriorandolo o distruggendolo in tutto o in parte, è obbligato al ripristino della precedente situazione e, in mancanza, al risarcimento per equivalente patrimoniale nei confronti dello Stato”.

La competenza necessaria per stabilire la colpa è di volta in volta quella dell'impiantista, del chimico industriale, dell'igienista ambientale. Allo studioso del versante sanitario, e in particolare all'epidemiologo, potrà essere richiesto, ad esempio, di esaminare e commentare: a) l'evoluzione nel tempo delle conoscenze scientifiche, con particolare riferimento al tempo in cui si è verificato l'inquinamento b) il significato dei valori limite.

La valutazione del danno

L'art 18 della Legge n. 349 del 1986 (abrogato e in vigore come norma transitoria) prevedeva espressamente il ricorso a una forma di risarcimento punitivo:

“...il giudice, ove non sia possibile una precisa quantificazione del danno, ne determina l'ammontare in via equitativa, tenendo comunque conto della gravità della colpa individuale, del costo necessario per il ripristino, e del profitto conseguito dal trasgressore in conseguenza del suo comportamento lesivo dei beni ambientali...”.

Il giudizio su questi elementi appare di competenza anche in questo caso di diverse professionalità: quella dell'impiantista, del chimico industriale, dell'igienista ambientale.

Alla luce del sopra citato art. 311 DL.vo n. 152/2006 comma 2, la legge prevede quindi che debba avere priorità il ripristino della situazione precedente l'inquinamento e che si proceda al risarcimento solo quando tale ripristino non sia possibile. Il giudizio su tale impossibilità è molto importante perché determina l'iter procedurale, ad esempio l'ordinanza, che può essere impugnata al TAR o la costituzione di parte civile in un giudizio penale o la richiesta di risarcimento in sede civile per i quali la competenza è il Tribunale.

Considerazioni conclusive

In sintesi, il danno ambientale come *danno evento* ad un bene immateriale è valutato in misura equitativa qualora non sia possibile il ripristino dei luoghi, il *danno conseguenza* può essere invece di due tipi: un danno alla salute (del singolo e della collettività) e un danno patrimoniale, valutato con i criteri della responsabilità civile (danno emergente e lucro cessante).

Anche per la valutazione del danno sostenuto dall'SSN per patologie da inquinamento ambientale si pone il problema del peso dei dati epidemiologici.

Riteniamo che gli studi analitici condotti tenendo conto dei fattori di confondimento, e quindi basati sull'esame dei singoli soggetti, costituiscano una base importante perché una richiesta di risarcimento del danno ambientale possa essere sostenuta in giudizio. Comunque l'entità del risarcimento può richiedere l'analisi dei singoli casi.

In conclusione, il problema del risarcimento del danno ambientale alla salute umana richiede l'apporto di molteplici competenze professionali capaci di individuare e quantificare i rischi, di evidenziare un eccesso di patologie, di verificare i fattori di confondimento presenti nei singoli casi, di valutare l'osservanza delle norme o l'adozione di buone tecniche. Dovrà essere ovviamente assicurato uno stretto collegamento tra chi ha competenze giuridiche e chi ha competenze tecniche.

Quanto da noi esposto nel presente capitolo costituisce una proposta che non abbiamo finora applicato in situazioni reali, le sole che potranno evidenziarne limiti e potenzialità.

Bibliografia

1. Grandolfo M, Seniori Costantini A. Gli aspetti normativi. In: *Campi elettrici e magnetici statici e a frequenze estremamente basse (ELF) - Rischio Cancerogeno*. Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori. Commissione "Cancerogenesi ambientale". 2004. P. 101-117.
2. Soriano JB, Antò JM, Plasencia A. Repeaters count: a sentinel method for asthma outbreaks. Barcelona Soybean-Asthma Group. *Thorax* 1995;50(10):1101-3.
3. Antò JM, Sunyer J. A point-source asthma outbreak. *Lancet* 1986;1(8486):900-3.
4. Ferrante D, Bertolotti M, Todesco A, Mirabelli D, Terracini B, Magnani C. Cancer mortality and incidence of mesothelioma in a cohort of wives of asbestos workers in Casale Monferrato, Italy. *Environ Health Perspect* 2007;115(10):1401-5.
5. Forastiere F, Corbo GM, Michelozzi P, Pistelli R, Agabiti N, Brancato G, Ciappi G, Perucci CA. Effects of environment and passive smoking on the respiratory health of children. *Int J Epidemiol* 1992;21(1):66-73.
6. Forastiere F, Corbo GM, Pistelli R, Michelozzi P, Agabiti N, Brancato G, Ciappi G, Perucci CA. Bronchial responsiveness in children living in areas with different air pollution levels. *Arch Environ Health* 1994;49:111-8.
7. Pasetto R, Biggeri A, Comba P, Pirastu R: Mortality in the cohort of workers of the petrochemical plant in Gela (Sicily) 1960-2002. *Epidemiol Prev* 2007;31(1):39-45.

SEZIONE 2

**Indicatori di esposizione, suscettibilità e danno precoce
nei siti inquinati: elementi metodologici e applicativi**

RISCHIO SANITARIO E AMBIENTALE ASSOCIATO AI SITI INQUINATI

Loredana Musmeci, Mirella Bellino, Eleonora Beccaloni, Fabrizio Falleni, Maria Rita Cicero,
Federica Scaini
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Premessa

Definire quando un “sito” debba essere considerato inquinamento non è facile e soprattutto i criteri utilizzati possono essere differenti da paese a paese.

In Italia fino agli anni '90 si è sempre parlato di singoli comparti ambientali inquinati, aria, acque sotterranee e superficiali, sedimenti, suolo, ma il concetto di sito inquinato, cioè porzione di territorio in cui più di una matrice ambientale risulta contaminata e le cause di contaminazione sono interconnesse, viene introdotto forse per la prima volta con la definizione delle “aree ad elevato rischio di crisi ambientale” dichiarate tali in base alla Legge 08/07/1986 n. 349 e successive modifiche e integrazioni.

Tali aree vengono ben definite e delimitate geograficamente e si comincia a valutare il potenziale rischio sanitario e ambientale posto dal complesso fenomeno di contaminazione ambientale connesso alle attività che si svolgono su detti siti. Per lo più tali siti sono aree industriali in attività con lavorazioni ad alta pericolosità e ad alta potenzialità di contaminazione di tutte le matrici ambientali interessate. Su tali aree sono stati condotti anche alcuni studi epidemiologici per valutare lo stato di salute delle popolazioni residenti intorno a detti siti.

Con l’emanazione del DL.vo 22/1997, che riguarda la gestione dei rifiuti, ma che contiene anche uno specifico articolo (art. 17) che riguarda la bonifica dei siti inquinati nelle loro matrici ambientali suolo e acque sotterranee e superficiali, il concetto di sito inquinato si allarga ricomprendendo non più solo vaste aree industriali in attività, bensì anche aree industriali dismesse o da dismettere e aree di smaltimento rifiuti. Con il DM 471/1999 relativo alle bonifiche dei siti inquinati (1), si ha la prima definizione di sito inquinato, e precisamente: “*Sito che presenta livelli di contaminazione o alterazioni chimiche, fisiche o biologiche del suolo o del sottosuolo o delle acque superficiali o delle acque sotterranee tali da determinare un pericolo per la salute pubblica o per l’ambiente naturale o costruito.*

È inquinato il sito nel quale anche uno solo dei valori di concentrazione delle sostanze inquinanti nel suolo o nel sottosuolo o nelle acque sotterranee o nelle acque superficiali risulta superiore ai valori di concentrazione limite accettabili stabiliti dal presente regolamento”.

Quindi un sito viene considerato inquinato quando in una delle matrici considerate viene superata la concentrazione limite individuata nella normativa. Tale concentrazione limite è stata definita attraverso una procedura di analisi di rischio sanitaria sito generica, al fine di ottemperare al principio di non “determinare un pericolo per la salute pubblica o per l’ambiente”, riportato nella definizione di sito inquinato sopraindicata.

Successivamente nel 2006 è stato promulgato il DL.vo 152/2006 (2), che ha sostituito con la Parte IV – Titolo V il DM 471 del 1999. Tale DL.vo 152/2006 riporta una nuova definizione di sito inquinato, e precisamente: “*Un sito nel quale i valori delle concentrazioni soglia di rischio (CSR) determinati con l’applicazione della procedura di analisi di rischio di cui all’allegato I*

alla parte quarta del presente decreto sulla base dei risultati del piano di caratterizzazione, risultano superati”

La nuova definizione di sito inquinato si differenzia profondamente dalla precedente, in quanto non prevede il confronto con una concentrazione limite predeterminata in base ad una analisi di rischio sito generica (Analisi di rischio di livello 1 secondo la procedura dell' *American Society for Testing and Materials* (ASTM), statunitense (2)), bensì prevede il confronto con una concentrazione individuata attraverso l'applicazione di una procedura di analisi di rischio sito specifica (Analisi di rischio di livello 2 secondo la procedura dell'ASTM). Pertanto per ogni sito potenzialmente inquinato in funzione delle sue specificità (tipo e estensione della contaminazione, tipo di terreno, profondità e conducibilità idraulica dell'acquifero, ecc.) verranno individuate le concentrazioni soglia di rischio, superate le quali il sito sarà considerato inquinato.

Tuttavia in entrambe le definizioni di sito inquinato, l'analisi di rischio sanitario gioca un ruolo prioritario.

Di seguito si riportano alcuni concetti chiave che costituiscono la base della procedura di analisi di rischio igienico-sanitaria.

Criteria per l'applicazione dell'analisi assoluta di rischio igienico-sanitaria

I primi tentativi di standardizzazione delle metodologie di analisi di rischio assoluta risalgono a circa dieci anni fa quando negli U.S.A. sono state emanati i primi programmi per fronteggiare il problema del rilascio di prodotti petroliferi dai serbatoi interrati (*Underground Storage Tank programs*, (UST) e dei siti contaminati di grandi dimensioni (*Superfund program*).

La procedura ASTM E-1739 del 1995 applica l'approccio RBCA (*Risk-Based Corrective Action*) ai siti interessati dal rilascio di prodotti petroliferi. Il suo successivo sviluppo (4), estende l'applicabilità della metodologia RBCA a tutti i siti interessati da rilasci di sostanze chimiche. I documenti *Risk Assessment Guidance for Superfund* (5, 6) e *Soil Screening Guidance: User's Guide* (7) prodotti dall'U.S.EPA, costituiscono il punto di partenza di gran parte delle guide tecniche sviluppate dai singoli stati americani. Nell'ambito dei tentativi di standardizzazione delle procedure di analisi di rischio è opportuno segnalare anche i documenti elaborati da numerosi organismi nazionali e internazionali (8, 9).

Attualmente in Italia sono utilizzati sia modelli che seguono piuttosto fedelmente la procedura RBCA (RBCA Toolkit e RISC 4.0), sia modelli che mutuano le equazioni di calcolo da altre procedure.

La metodologia RBCA

La metodologia RBCA prevede lo sviluppo di tutti o parte dei seguenti livelli di analisi (10, 11):

- **Livello 1**

utilizzato per effettuare un primo screening del sito in esame. La connotazione tipicamente preliminare di questo livello di indagine implica l'adozione di parametri (geometria della contaminazione, tempo e durata dell'esposizione, ecc.) estremamente

conservativi e, in generale, non specifici del sito. In questa fase le informazioni sul sito a disposizione sono estremamente limitate: l'uso del territorio ipotizzato è quello più sensibile (residenziale). Nell'analisi di livello 1 i punti di esposizione sono ipotizzati coincidenti con le sorgenti di contaminazione, non si tiene quindi conto di fenomeni di attenuazione dovuti alla diffusione dei contaminanti nello spazio e nel tempo. Nel livello 1 della procedura RBCA vengono calcolati i valori RBSL (*Risk Based Screening Levels*) ovvero i criteri di qualità delle matrici ambientali che non utilizzano parametri sito specifici. Il Livello 1 prevede quindi il confronto delle concentrazioni misurate sul sito con i RBSL calcolati: qualora si evidenzino dei superamenti dei criteri di qualità si può procedere con la bonifica, previa valutazione del rapporto costi/benefici, oppure procedere ad un Livello 2 di analisi, dopo un approfondimento delle indagini.

- **Livello 2**

rappresenta una valutazione sito-specifica. I parametri e i punti di esposizione considerati sono noti sulla base delle indagini condotte sul sito in esame e conducono quindi alla definizione di concentrazioni ammissibili di contaminanti più realistiche, definite SSTL (*Site Specific Target Levels*). In questa fase vengono utilizzati dati sito-specifici (contenuto di carbonio organico, permeabilità, porosità, geometria della sorgente, ecc.) e vengono considerati i relativi scenari di migrazione della contaminazione dalla sorgente (12). Le equazioni utilizzate, di tipo analitico, sono, generalmente, le stesse del Livello 1. Il Livello 2 prevede il confronto delle concentrazioni misurate in sito con gli SSTLs calcolati: in caso di superamento di tali valori si può decidere di procedere alla bonifica, dopo avere valutato attentamente i rapporti costi/benefici o di procedere ad un livello 3 di analisi, dopo un approfondimento delle indagini.

- **Livello 3**

prevede l'utilizzo di modelli di calcolo più complessi introducendo valutazioni di tipo probabilistico e impiegando sofisticati modelli matematici previsionali delle modalità di trasporto dei contaminanti nelle varie matrici ambientali interessate. L'applicazione di tali modelli richiede un maggiore investimento di risorse nelle attività di caratterizzazione allo scopo di aumentare il numero, il dettaglio e l'accuratezza dei dati. L'applicazione del Livello 3 di analisi di rischio consente il calcolo di nuovi SSTLs basati su una conoscenza dettagliata e approfondita di tutte le caratteristiche del sito, tuttavia il dettaglio di caratterizzazione richiesto per l'applicazione di un livello 3 di analisi ha dei costi molto elevati che possono risultare poco sostenibili. Pertanto, nella maggior parte dei casi ci si limita a condurre analisi di Livello 2.

La metodologia RBCA si basa quindi su diversi livelli di approfondimento che devono tenere conto anche di valutazioni di tipo economico (costi-benefici). Gli elementi fondamentali che caratterizzano la procedura RBCA possono essere così sintetizzati:

- livello di protezione dell'uomo e dell'ambiente: deve essere mantenuto costante in tutti i livelli di approfondimento dell'analisi di rischio;
- fattori di sicurezza utilizzati nel calcolo del rischio: tendono a diminuire all'aumentare del livello di applicazione di applicazione dell'analisi di rischio, in funzione della maggiore disponibilità di dati sito-specifici attendibili;
- attendibilità e numero delle informazioni disponibili: devono aumentare con il livello di approfondimento dell'analisi di rischio in funzione della maggiore richiesta di dati sito-specifici e della complessità dei modelli di calcolo applicati;
- costi dell'investigazione: tendono ad aumentare con il livello di approfondimento dell'analisi di rischio in funzione della maggiore richiesta di dati sito-specifici in termini di numero e attendibilità (es. uso di attrezzature di campionamento tecnologicamente più

- avanzati che implicano l'impiego di personale specializzato, impiego di strumentazione ad elevata sensibilità per le determinazioni analitiche, ecc.);
- rapporto costi/benefici della bonifica: in linea generale, all'aumentare del grado di conoscenza del sito i costi complessivi della bonifica dovrebbero ridursi in ragione di una migliore definizione dei percorsi di esposizione, dei volumi complessivi da trattare, delle caratteristiche delle matrici contaminate.

I software applicativi

Dalla procedura RBCA sono derivati alcuni software applicativi a carattere commerciale (13).

A titolo esemplificativo di seguito viene descritto quello statunitense denominato *RBCA Tool Kit* vers. 1.3, che ha costituito la base anche per molti altri software applicativi messi a punto anche in Italia.

Il *RBCA Tool Kit* è stato sviluppato espressamente per le valutazioni di *livello 1* e di *livello 2* così come delineate negli standard ASTM citati nel precedente capitolo. Sulla base di dati sito-specifici forniti dall'utente, il *Tool Kit* combina modelli di destino e trasporto dei contaminanti con le funzioni di stima del rischio per valutare: le concentrazioni al punto di esposizione, la dose media giornaliera, il rischio associato alla presenza dei contaminanti (*forward & baseline calculation*).

Attraverso molteplici modelli analitici collegati alle librerie interne dei fattori di esposizione standard e al database tossicologico e fisico/chimico per oltre 90 sostanze, il *Tool Kit* può pertanto calcolare sia il livello di rischio in modo diretto che i valori di screening e gli obiettivi di bonifica, per ogni percorso di esposizione completo identificato dall'utente. Sulla base delle concentrazioni rappresentative dei contaminanti indice presenti nella matrice contaminata intesa come nel mezzo sorgente, e sulla base del modello concettuale predisposto dall'utente, vengono calcolate le concentrazioni massime attese in condizioni stazionarie al punto di esposizione. Ciò viene fatto attraverso i modelli analitici di destino e trasporto che sono quelli descritti nello standard ASTM. Per effettuare il calcolo, il sistema valuta la ripartizione tra i diversi comparti ambientali e il trasporto laterale della sorgente al punto di esposizione. Le varie matrici contaminate e i diversi percorsi di migrazione e vie di esposizione contemplati dal software sono elencati in Tabella 1.

Tabella 1. Percorsi di migrazione e vie di esposizione simulati dal software RBCA Tool Kit

| Percorso | Vie di esposizione |
|--------------------|---|
| Suolo superficiale | Inalazione di vapori e particolato Contatto dermico con il suolo Ingestione di suolo e polvere Lisciviazione verso le acque sotterranee |
| Suolo profondo | Inalazione di vapori Lisciviazione verso le acque sotterranee |
| Acque sotterranee | Ingestione di acqua potabile Inalazione di vapori Alimentazione di acque superficiali Ingestione/Contatto diretto per balneazione Consumo di pesci Protezione degli ecosistemi acquatici |

Si può notare che oltre alle vie di esposizione umana è compreso anche un criterio ecologico per la protezione degli ecosistemi acquatici.

In seguito alla selezione dei parametri di esposizione, viene calcolata la dose giornaliera che ogni ricettore assume attraverso ciascun percorso selezionato. Tali valori di esposizione sono utilizzati nel calcolo del rischio, per ogni percorso attivo. Il software calcola poi i rischi sanitari associati all'esposizione ai contaminanti sulla base delle dosi giornaliere e dei corrispondenti parametri tossicologici per gli effetti cancerogeni e non. Per ogni percorso completo, il sistema fornisce nell'output il risultato sia per ciascuna sostanza individuale che per la somma delle sostanze (rischio cumulativo), separando quelle cancerogene da quelle tossiche non cancerogene.

Il *Tool Kit RBCA* ha la capacità di: confrontare la contaminazione del sito con valori di screening *RBSL* di *livello 1 (Tier 1)*, calcolati usando parametri generici di *default*, oppure calcolare valori sito specifici *SSTL* di *livello 2 (Tier 2)* basati su informazioni specifiche del sito fornite dall'utente. Per ogni matrice ambientale contaminata (es. suolo e acqua sotterranea contaminata), il software riporta concentrazioni obiettivo di bonifica per tutti i percorsi attivi e identifica il valore applicabile (es. il valore minimo) per la bonifica della matrice ambientale contaminata stessa.

Conclusioni

Il ricorso per la gestione dei siti da bonificare all'analisi di rischio può essere un vantaggio (maggiore flessibilità) ma anche uno svantaggio (non uniformità di giudizio), in considerazione soprattutto del fatto che in Italia esperienza specifica su tale tema è molto recente.

A tal fine si è costituito presso l'APAT un Gruppo di Lavoro che vede la partecipazione di tutte le ARPA regionali, dell'ISS, dell'ISPESL e dell'ICRAM finalizzato alla messa a punto di una univoca metodologia per l'applicazione di detta analisi di rischio sanitaria tramite l'utilizzo di software commerciali. Tale Gruppo di Lavoro ha già elaborato una prima stesura dei "Criteri metodologici per l'applicazione dell'analisi assoluta di rischio ai siti contaminati" che nella sua versione Rev. 1 luglio 2006 è disponibile online sul sito web dell'APAT (14-16).

Il lavoro di tale Gruppo di Lavoro va considerato *in progress*, in quanto viene continuamente aggiornato e revisionato in funzione delle esperienze internazionali e nazionali acquisite.

Bibliografia

1. Italia. Decreto Ministeriale 25 ottobre 1999, n. 471. Regolamento recante criteri, procedure e modalità per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati, ai sensi dell'articolo 17 del decreto legislativo 5 febbraio 1997, n. 22, e successive modificazioni e integrazioni. *Gazzetta ufficiale - Supplemento ordinario - Serie Generale* n. 293, 15 dicembre 1999.
2. Italia. Decreto legislativo 11 maggio 1999, n. 152. Disposizioni sulla tutela delle acque dall'inquinamento e recepimento della direttiva 91/271/CEE concernente il trattamento delle acque reflue urbane e della direttiva 91/676/CEE relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole, a seguito delle disposizioni correttive ed integrative di cui al decreto legislativo 18 agosto 2000, n. 258. *Gazzetta ufficiale - Serie Generale* n. 246, 20 ottobre 2000.
3. American Society for Testing and Materials. *Standard provisional guide for risk based corrective action, PS 104*. Usa: ASTM; 1998.

4. American Society for Testing and Materials. *Standard Guide for Risk-Based Corrective Action, E 2081-00*. Usa: ASTM; 2000.
5. Environmental Protection Agency. *Risk Assessment Guidance for Superfund – Volume 1 – Human Health Evaluation Manual, Part A, Interim Final, EPA/540/1-89/002*. Usa: EPA; 1989.
6. Environmental Protection Agency. *Risk Assessment Guidance for Superfund – Volume 1 – Human Health Evaluation Manual, Part B, development of Risk-Based Preliminary Remediation Goals, Publication 9285.7-01B*. Usa: EPA; 1991.
7. Environmental Protection Agency. *Soil Screening Guidance: User's Guide – Second Edition, EPA/540/R-96/018*. Usa: EPA; 1996.
8. UNICHIM. *Suoli e Falde contaminati: Analisi del Rischio Sito-Specifica – Criteri e Parametri, Manuale 196/1*. Milano; 2002.
9. Conservation of Clean Air and Water in Europe. Appendices to Concawe report n. 2/97 – *European Oil Industry Guideline for Risk-Based Assessment of Contaminated Sites*, ref. 1597R – D1/Rev10/31109-003-411/MQ/PI. Bruxelles: CONCAWE; 1997.
10. D'Aprile L, Calace N. Methodological Approach for the Evaluation of Human-Health Risk at Contaminated Sites. Proceedings of the "Fourth International Conference on Remediation of Contaminated Sediments". Savannah (Georgia), January 22-25, 2007.
11. D'Aprile L, Tatàno F, Musmeci L. Development of quality objectives for contaminated sites: state of the art and new perspectives. *International Journal of Environment and Health* 2007;1(1):120-41.
12. Pieroni M., Mariotti C. Modello Concettuale del Sito (MCS) e parametri caratteristici per l'analisi di rischio sito-specifica di un sito inquinato: specificità e riduzione delle incertezze dei dati di input. *Atti del Convegno sull'analisi di rischio di siti contaminati: il punto a tre anni di applicazione del DM 471/99*. Roma, 25-26 giugno 2003.
13. Quercia F. *L'Analisi di Rischio assoluta*. In: Mariotti C., Merlo C. *Manuale sul disinquinamento - La Gestione dei siti inquinati dalle indagini alla bonifica*. Bologna: Pitagora Editrice; 2003.
14. Beccaloni E., D'Aprile L., Musmeci L. Criteri per l'applicazione dell'analisi di rischio assoluta ai siti contaminati: prime valutazioni del gruppo di lavoro APAT, ARPA, ISS, ISPESL, ICRAM. *Atti dei Seminari Ecomondo*. Rimini, 3-6 novembre 2004.
15. D'Aprile L, Berardi S, Musmeci L. La collaborazione tra APAT, ARPA, ISS ed ISPESL per le attività inerenti l'applicazione dell'analisi di rischio sanitario-ambientale ai siti contaminati. *Giornata di studio sugli aspetti tecnici e procedurali per le bonifiche dei siti inquinati*. San Giovanni Valdarno, 30 marzo 2007.
16. D'Aprile L, Berardi S, Baciocchi R. Le novità introdotte dal DL.vo 152/06 in materia di bonifica di siti contaminati: Assetto normativo e criteri tecnici per l'applicazione. *Giornata di studio sulla bonifica di siti contaminati*. Milano, 26 febbraio 2007.

CONTAMINAZIONE AMBIENTALE DA METALLI E COMPOSTI ORGANOALOGENATI: IL BIOMONITORAGGIO IN INDAGINI DI RICERCA E DI SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA

Ivano Iavarone

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Il tema *ambiente e salute*, è stato identificato dal Consiglio Europeo come una questione centrale per i Governi nell'ambito del Sesto Programma Quadro; la Direzione Generale della Ricerca ha costituito un gruppo di esperti per il supporto delle attività di monitoraggio biologico (1), attivando un progetto pilota per mettere a punto strumenti appropriati per il trasferimento dei risultati del biomonitoraggio in strategie di intervento. La tematica *ambiente e salute* conserva una posizione di rilievo anche nell'ultima programmazione Comunitaria (2), dove specifico risalto viene attribuito agli effetti ambientali sulla salute, compresa l'identificazione delle fonti di esposizione e il biomonitoraggio umano. In particolare, le finalità di quest'ultima attività (3, 4) concernono l'armonizzazione dei protocolli sulla raccolta dei dati e sulle metodologie analitiche in vista di un'integrazione dei dati del biomonitoraggio umano con i dati di monitoraggio di tipo sanitario, in accordo con gli obiettivi del piano di azione sul monitoraggio biologico previsto dall'Unione Europea per il periodo 2004-2010 (5). La tematica *ambiente e salute* rappresenta inoltre uno degli obiettivi del Piano Sanitario Nazionale 2006-2008 (6); tale tema viene affrontato in linea con gli obiettivi dell'OMS e dello sviluppo sostenibile per favorire la comprensione delle relazioni tra le fonti di inquinamento e gli effetti sulla salute, come ad esempio lo sviluppo di indicatori e il monitoraggio integrato dell'ambiente.

In Italia sono state attualmente identificate circa 50 aree di interesse nazionale sottoposte al vincolo di bonifica e ripristino ambientale. La maggior parte di queste aree presenta fenomeni di contaminazione ambientale associati ad attività industriali (69%) e di smaltimento incontrollato di rifiuti (29%), sviluppatasi in stretta concomitanza con insediamenti urbani ad elevata densità abitativa e/o con zone ad elevato interesse socio-culturale e ambientale (7).

Valutare se, e in che grado, il danno ambientale nei siti inquinati si traduce in esposizioni rilevanti per la salute umana e che valore annettere al termine "esposizioni rilevanti" rappresentano due degli aspetti chiave ai quali occorre fare riferimento per identificare le priorità di intervento che abbiano delle ricadute in termini di riduzione dell'impatto sanitario delle contaminazioni ambientali. D'altra parte nel rispondere a questi quesiti occorre premettere che non è possibile stabilire a priori una metodologia generale di approccio analitico nella valutazione dell'esposizione. La strategia da adottare dipende infatti dalle caratteristiche specifiche dei siti e degli inquinanti in essi identificati. Da un punto di vista meramente schematico gli scenari di esposizione che si presentano nelle diverse aree sono riconducibili sostanzialmente a due tipologie. La prima è rappresentata da uno scenario relativamente *semplice*, tipico dei siti inquinati da singoli agenti di cui è accertata la presenza ambientale e la specificità degli effetti sulla salute (es. amianto - mesotelioma pleurico). La stima del rischio

consente in questi casi di implementare direttamente interventi di bonifica ambientale, mentre la sorveglianza epidemiologica e sanitaria permette di quantificare l'efficacia della bonifica e di individuare i casi di interesse a fini di giustizia e di indennizzo (8).

La seconda tipologia è caratterizzata invece da *scenari complessi*, tipicamente riscontrabili nella maggior parte delle aree di interesse nazionale per le opere di bonifica ambientale. Questi siti sono infatti caratterizzati dalla presenza di attività produttive complesse, da elevata eterogeneità di inquinanti e da un potenziale interessamento di diverse matrici ambientali, compresa la catena alimentare.

Per quanto concerne il tipo di agenti inquinanti, l'elaborazione delle informazioni riportate nel Programma Nazionale di bonifica e ripristino ambientale del 2001 (9) effettuata dall'APAT (7) evidenzia che i metalli pesanti e gli inquinanti organici persistenti (*Persistent Organic Pollutants-POP*) rappresentano due delle classi maggiormente rappresentate nelle aree individuate. Per quanto riguarda i diversi tipi di POP, una rappresentazione approssimativa in termini percentuali mostra che nei siti di interesse nazionale sono presenti solventi organici (8%), fertilizzanti e pesticidi (8%), PCB (4%) e diossine (1%) (PCDD/PCDF e PCB *dioxin-like*).

Le problematiche e le priorità nella ricerca relative ai rischi associati alla contaminazione chimica dei suoli sono state riassunte in un documento dell'U.S. EPA (10). In questo ambito i POP rappresentano una complessa categoria di composti chimici che possono permanere inalterati nell'ambiente per lunghi periodi e la cui tossicità è associata al fatto che, attraverso la catena alimentare, si accumulano nel tessuto adiposo degli organismi viventi (11). Simili caratteristiche sono in generale condivise dai metalli pesanti e dai composti metallici, per i quali l'agenzia di protezione ambientale statunitense ha recentemente pubblicato un volume relativo alle problematiche del *risk assessment* (12).

Le problematiche connesse al monitoraggio biologico dei composti organoalogenati persistenti e dei metalli pesanti vengono riassunte in due specifici contributi di questo stesso rapporto (Violante, De Felip), ai quali si rimanda per i relativi approfondimenti. Un altro contributo (Aquilina) fornisce alcuni esempi di come la valutazione dei meccanismi biochimici di azione di specifici metalli pesanti e composti organoalogenati, e le possibili interazioni tra questi meccanismi, sia un elemento chiave nella valutazione della relazione tra contaminazione ambientale ed effetti cancerogeni. Un ulteriore documento concerne infine l'identificazione e il possibile impiego sul campo di indicatori di suscettibilità genetica e di effetto precoce per il rischio cancerogeno in relazione alla contaminazione ambientale (Zijno).

In questa relazione si intende invece concentrare l'attenzione su due aspetti prettamente epidemiologici relativi allo studio delle popolazioni residenti nei siti inquinati: i) l'integrazione del biomonitoraggio dei contaminanti persistenti nelle indagini di ricerca e ii) la possibilità di introdurre il biomonitoraggio di questi inquinanti nella sorveglianza epidemiologica.

Tipologia dell'esposizione a POP e a metalli nei siti inquinati

La complessità della valutazione dell'esposizione umana a metalli e/o a POP viene rappresentata nella Figura 1, ove è riportato un esempio di modello generalizzato per i siti con contaminazione dei sedimenti che esemplifica il diagramma di flusso dalle sorgenti di rilascio degli inquinanti, ai comparti ambientali interessati, fino alle modalità in cui si concretizza l'esposizione umana (10). Quest'ultima, sebbene possa aver luogo anche attraverso inalazione e contatto dermico, avviene prevalentemente attraverso ingestione, e l'esposizione alimentare

continuativa e un'alta persistenza nei tessuti biologici sono responsabili della presenza pressoché ubiquitaria di tali agenti nella popolazione generale.

Occorre in questa sede sottolineare che la semplice misura ambientale dei diversi inquinanti rappresenta soltanto un indicatore approssimativo della reale esposizione umana. Il monitoraggio ambientale di un inquinante dipende infatti da quante e quali delle diverse fasi/matrici sono interessate dalle misurazioni. Ad esempio, un contributo di questo stesso rapporto (Petruzzelli) evidenzia che il monitoraggio ambientale dei sedimenti potrebbe fornire una misura distorta dell'esposizione se non si tiene conto adeguatamente dei meccanismi di biodisponibilità nel suolo a cui sono sottoposte le sostanze di interesse. Anche le determinazioni analitiche degli inquinanti nella catena alimentare e nel cibo non è sufficiente di per sé ad effettuare stime corrette dell'esposizione umana, soprattutto se non si tiene conto delle abitudini alimentari e dello stile di vita dei soggetti residenti nei siti inquinati. Un altro elemento da considerare è che anche i soggetti che sperimentano livelli simili di esposizione possono presentare variazioni nel carico corporeo di inquinanti. Alla base di questo fenomeno potrebbero giocare un ruolo importante le differenze interindividuali nella velocità di assorbimento, nel tasso di accumulo nei tessuti, o nella capacità di metabolizzare le sostanze di interesse. Il valore aggiunto di strategie basate sul biomonitoraggio umano è dunque la possibilità di definire la reale dose degli inquinanti nell'organismo, come risultante dei processi metabolici e di bioaccumulo, che può essere notevolmente differente da quella stimata a partire da misure nelle matrici ambientali e alimentari.

Un corretto utilizzo del monitoraggio biologico dell'esposizione e del carico corporeo dei contaminanti ambientali rappresenta dunque lo strumento più appropriato per integrare le diverse sorgenti di contaminazione e le varie modalità attraverso le quali si realizza l'esposizione umana (inalazione, ingestione e assorbimento cutaneo). D'altra parte la selezione e l'impiego sul campo di indicatori biologici di esposizione o di dose interna a metalli pesanti e a composti organoalogenati presenta alcune problematiche legate alla sensibilità, specificità e riproducibilità dei metodi impiegati che vengono discusse in due dei contributi di questo stesso rapporto precedentemente citati (Violante, De Felip).

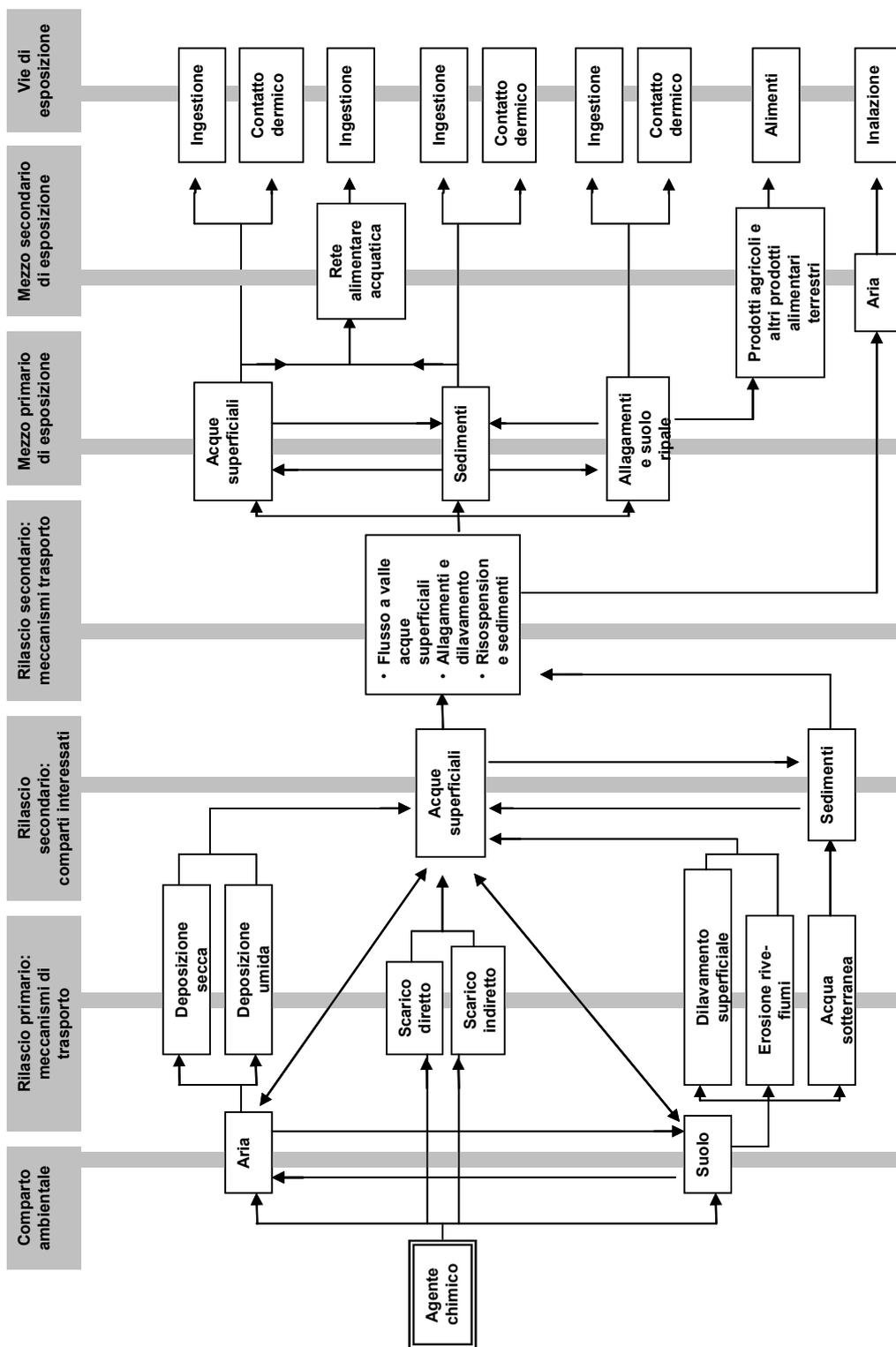


Figura 1. Modello generalizzato per siti con contaminazione dei sedimenti: diagramma di flusso dalle sorgenti di rilascio, ai comparti ambientali, all'esposizione umana (modificata da 10)

Introduzione del biomonitoraggio nella ricerca epidemiologica nei siti inquinati

Nell'ambito del Programma Strategico Ambiente e Salute afferente alla Ricerca Finalizzata 2006, recentemente approvato, il progetto *“Il rischio per la salute nei siti inquinati: stima dell'esposizione, biomonitoraggio e caratterizzazione epidemiologica”* prevede uno studio epidemiologico esplorativo sull'impiego di indicatori biologici per valutare l'impatto della contaminazione ambientale in gruppi di popolazione residenti nei siti inquinati. Il contributo innovativo di questo studio consiste in un approccio di tipo multifasico/multidisciplinare (13) basato sull'interazione di epidemiologi, medici, chimici, biologi cellulari e molecolari. Nell'ambito dello studio è prevista, ad esempio, l'interazione di cinque diversi reparti del Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria dell'ISS.

Particolare attenzione verrà rivolta al disegno dello studio (messa a punto degli strumenti di rilevazione e protocollo operativo) per la conduzione dell'indagine sul campo e alle procedure analitiche e di elaborazione dei dati di monitoraggio biologico. L'attività di ricerca avrà come primo obiettivo l'individuazione di aree contaminate nelle quali risiedano gruppi di popolazione potenzialmente esposti a metalli pesanti e/o a composti organoalogenati. Preliminarmente all'avvio dello studio occorrerà dunque effettuare l'identificazione e la caratterizzazione delle sorgenti di emissione, la valutazione tossicologica degli inquinanti di potenziale interesse sanitario, l'analisi dei dati disponibili sulla contaminazione delle matrici ambientali e l'identificazione delle aree e dei gruppi di popolazione coinvolti. Un approccio integrato e multi-disciplinare di questo tipo consentirà di orientare la scelta degli indicatori da impiegare e l'adozione di strategie di monitoraggio biologico adatte al quadro ambientale configuratosi. Specifica attenzione sarà rivolta alla selezione e all'analisi della letteratura epidemiologica concernente l'impiego del biomonitoraggio umano in popolazioni residenti in siti contaminati. Alcuni degli studi e delle rassegne disponibili sul biomonitoraggio, con particolare riferimento ai metalli pesanti e di composti organoalogenati, evidenziano diverse problematiche che dovranno essere affrontate riguardo le fasi di disegno e conduzione dell'indagine e di interpretazione dei risultati (14-35).

La selezione delle aree di interesse si baserà in particolare sulla disponibilità di indicatori di pressione ambientale e/o sanitaria desumibili da studi specifici e da banche dati fornite da strutture dell'SSN e dell'ARPA/APAT operanti sul territorio. La raccolta di informazioni per la caratterizzazione dei siti rispetto agli inquinanti di interesse potrà consentire di verificare l'appropriatezza della scelta a priori delle aree/popolazioni da includere nello studio.

L'elaborazione di un comune disegno dello studio per il biomonitoraggio dei diversi inquinanti consentirà di ottimizzare le risorse disponibili in relazione a due principali aspetti: pianificazione delle procedure di selezione e di arruolamento dei soggetti e la stesura del protocollo operativo per le fasi di raccolta e di trattamento differenziale dei campioni biologici (in particolare ematici). Sui campioni raccolti verranno compiute le determinazioni analitiche degli indicatori biologici di esposizione e accumulo e gli studi sullo sviluppo e la potenziale applicazione sul campo di marcatori di danno precoce e di suscettibilità genetica. L'elaborazione di un questionario da sottoporre ai soggetti potenzialmente eligibili sulla base della sola residenza nelle aree di interesse, avrà l'obiettivo di selezionare individui con caratteristiche compatibili con la necessità di tenere adeguatamente conto di altre potenziali sorgenti di esposizione diverse da quelle oggetto dello studio e dei potenziali fattori di confondimento.

Il questionario rileverà infatti informazioni inerenti lo stile di vita (in particolare abitudini alimentari), la storia residenziale, la mobilità, la storia lavorativa (negli adulti) e altri fattori che

possano influenzare l'esposizione agli inquinanti di interesse. In considerazione dell'entità delle risorse disponibili, il controllo per potenziali fattori di confondimento verrà effettuato per lo più nella fase di disegno dello studio, apportando gli opportuni criteri di selezione. Si prenderà in considerazione la possibilità di includere nello studio gruppi di soggetti risiedenti in aree non direttamente interessate dai fenomeni di contaminazione, caratterizzati quindi da livelli *background* di esposizione agli inquinanti di interesse. La dimensione campionaria sarà definita al termine della prima fase del progetto, sulla base della qualità delle informazioni che consentiranno di scegliere le aree e le popolazioni in studio. In particolare, il numero di soggetti da arruolare dipenderà anche dalla capacità di massimizzare il contrasto tra gruppi per la componente dell'esposizione di interesse associata alle sorgenti di contaminazione selezionate, e di minimizzare le differenze interindividuali nella componente di esposizione associata ad altre potenziali sorgenti di rilascio/emissione diverse da quelle oggetto dell'indagine.

Lo studio prevede la realizzazione di un unico database implementato con le informazioni relative alle sorgenti di contaminazione, con i dati raccolti dal questionario e con i risultati ottenuti dalle singole indagini di monitoraggio biologico.

La valutazione dei risultati conseguiti e loro interpretazione potranno contribuire a produrre specifiche indicazioni di ricerca nel campo della salute pubblica grazie ad un innovativo approccio integrato. La valutazione del carico corporeo di metalli pesanti e di POP e lo sviluppo e il potenziale utilizzo sul campo di marcatori di danno precoce e di suscettibilità genetica potrà inoltre fornire utili indicazioni per la realizzazione di studi analitici di epidemiologia molecolare e per implementare progetti di sorveglianza epidemiologica nelle aree di interesse.

Introduzione del biomonitoraggio nella sorveglianza epidemiologica di popolazioni residenti in siti inquinati

L'opportunità di promuovere l'attività di monitoraggio biologico nell'ambito della sorveglianza epidemiologica della popolazione in relazione all'esposizione ad inquinanti ambientali è stata sottolineata sia a livello internazionale (5, 36-39), sia in Italia (40-42). Tra le esperienze attualmente in corso che utilizzano il monitoraggio biologico come strumento di sorveglianza in relazione all'esposizione ad inquinanti ambientali vanno in modo particolare segnalate quelle condotte in Germania (43), negli Stati Uniti (37) e dall'OMS (39). Nell'indagine trasversale tedesca, attivata nel 1985 su base nazionale, il biomonitoraggio è realizzato periodicamente in *survey* condotte su alcune migliaia di soggetti. In concomitanza al monitoraggio biologico vengono effettuate rilevazioni ambientali al fine di analizzare le diverse sorgenti di esposizione come predittori delle misure di carico corporeo di inquinanti ambientali. L'indagine trasversale Americana condotta dal CDC, che rappresenta ad oggi il più vasto studio di sorveglianza di popolazione, si basa su un'indagine campionaria nazionale (44) e prevede, ogni due anni, la raccolta di migliaia di campioni biologici e la determinazione analitica di circa 150 sostanze chimiche di interesse tossicologico. L'indagine di biomonitoraggio sul latte umano dell'OMS ha lo scopo di studiare la variabilità geografica e temporale di inquinanti persistenti e di identificare gruppi di popolazione a maggiore esposizione. Diverse caratteristiche accomunano queste indagini: i) la strategia di monitoraggio, basata su *survey* periodiche nella popolazione generale con la raccolta di campioni biologici e di informazioni sui possibili determinanti delle esposizioni di interesse (alimentazione, abitudini al fumo, professione, ecc.); ii) l'obiettivo di individuare valori di background del carico corporeo di inquinanti e di segnalare gruppi di popolazione che per caratteristiche specifiche (genere, età, ecc.) si

discostano dai valori di fondo; iii) fornire elementi conoscitivi per i processi decisionali sulle priorità delle azioni di risanamento ambientale e di prevenzione.

Particolare interesse desta oggi il problema della sorveglianza epidemiologica delle popolazioni residenti in aree con forti contaminazioni ambientali, sia a livello europeo (45) che italiano (40-42). L'identificazione e l'impiego di indicatori biologici capaci di integrare le possibili sorgenti di emissione e modalità di esposizione è considerato l'elemento fondamentale che giustifica l'uso del monitoraggio biologico come strumento da introdurre nei programmi di sorveglianza della popolazione (37).

La ratifica della Convenzione di Stoccolma da parte della Comunità europea sulle sostanze organiche persistenti, impone ai governi l'obbligo di predisporre dei piani di attuazione nazionali che includano disposizioni specifiche in materia di monitoraggio di questi inquinanti e della riduzione del rischio a essi associato (46). In questa direzione si orienta anche il Piano Sanitario Nazionale (6) che, al fine di proteggere la salute umana, in particolare quella dei bambini, e l'ambiente, definisce necessario disciplinare l'uso di pesticidi, delle sostanze chimiche industriali e dei metalli pesanti. In tal senso il PSN sottolinea la necessità di identificare prontamente ed eliminare o ridurre (anche in via precauzionale), l'esposizione ai fattori di rischio per i quali è dimostrato e/o si può ragionevolmente supporre l'effetto di alterazioni dell'organismo umano, specialmente se in fase di sviluppo. A tal riguardo la scelta degli inquinanti su cui orientare l'attività di sorveglianza attraverso monitoraggio biologico dovrebbe essere orientata verso sostanze per le quali siano disponibili valori di riferimento rispetto a specifici effetti sanitari. Ad esempio, il terzo rapporto del CDC (37) ha evidenziato, sebbene in riduzione ai periodi precedenti, che nel 1999-2002 circa l'1,6% dei bambini tra 1 e 5 anni presenta una concentrazione ematica di piombo uguale o superiore al livello di attenzione di 10 µg/L, livello che può danneggiare la capacità di apprendimento e che può determinare effetti cognitivi e neurocomportamentali (37, 47). I programmi di sorveglianza dovrebbero quindi prevedere una componente prettamente sanitaria a tutela dei soggetti inclusi nelle rilevazioni che abbiano livelli corporei degli agenti monitorati per i quali è verosimile presupporre la possibilità di effetti sanitari.

Per quanto riguarda l'Italia le informazioni sui livelli biologici dei contaminanti ambientali nella popolazione sono scarse e disomogenee, particolarmente per i composti organici persistenti (48). Occorre dunque innanzitutto sviluppare un sistema di biomonitoraggio che consenta di stimare dei valori di riferimento per la popolazione generale. A tal riguardo, le indagini di sorveglianza attualmente in corso in altri paesi, che prevedono la valutazione del carico corporeo di composti organoalogenati e di metalli, offrono degli importanti riferimenti riguardo il disegno, la stesura di questionari *ad hoc*, la strategia di monitoraggio biologico e le metodologie di prelievo, conservazione, trattamento e analisi dei campioni, da adottare per gli inquinanti di interesse.

Considerazioni conclusive

La complessità dello studio della relazione tra rischi sanitari e inquinamento ambientale impone la necessità di approcci di ricerca di tipo multidisciplinare e multifasico, nonché di politiche integrate e intersettoriali che prevedano la condivisione di informazioni tra l'area sanitaria e quella ambientale. L'obiettivo prioritario dovrebbe essere la promozione di attività sinergiche e il superamento dell'attuale frammentazione degli interventi di ricerca e di prevenzione. La definizione operativa di adeguati meccanismi di coordinamento tra i diversi soggetti istituzionali che operano sul territorio (ARPA e Dipartimenti di prevenzione del

servizio sanitario, istituti di ricerca, ecc.) rappresenta dunque l'elemento innovativo nella direzione di ottimizzare i processi decisionali sulle priorità delle azioni di intervento. L'introduzione e l'attivazione di programmi di biomonitoraggio relativi all'esposizione ad inquinanti ad elevata persistenza ambientale, che tendono a bioaccumularsi e che siano rilevanti sul piano tossicologico, è legata alla possibilità di fornire elementi conoscitivi per i processi decisionali sulle priorità delle azioni di risanamento ambientale.

In particolare, i siti inquinati e le popolazioni ivi residenti dovrebbero essere selezionati come oggetto di programmi di sorveglianza dopo aver superato un'istruttoria che prevede: i) il processo di caratterizzazione ambientale, effettuato dalle strutture tecniche operanti sul territorio; ii) l'utilizzo dei risultati di indagini di ricerca sull'impiego del biomonitoraggio umano nel contesto ambientale, e iii) la disponibilità di registri di patologia (ad esempio, registri tumori e malformazioni congenite). L'analisi integrata dei flussi informativi provenienti dalla sorveglianza epidemiologica e dalle indagini di monitoraggio biologico e ambientale, da effettuare su base periodica, rappresenta uno strumento rilevante attraverso cui implementare adeguate politiche di protezione e prevenzione (49).

Bibliografia

1. ES BIO. *Expert team to support biomonitoring in Europe*. 2006. Disponibile all'indirizzo: <http://www.eu-humanbiomonitoring.org/sub/esbio.htm>; ultima consultazione 17/09/2007.
2. Comunità Europea. FP7 2007a. *Decision no 1982/2006/EC of the European parliament and of the Council of 18 December 2006, concerning the Seventh Framework Programme of the European Community for research, technological development and demonstration activities (2007-2013)*. Disponibile all'indirizzo: http://cordis.europa.eu/fp7/find-doc_en.html e http://cordis.europa.eu/fp7/faq_en.html; ultima consultazione 17/09/2007.
3. Comunità Europea. FP7 2007b. Theme 6 Environment (Including Climate Change) - ENV.2007.1.2.2.1. *European network on human biomonitoring*. Disponibile all'indirizzo: <http://www.eu-humanbiomonitoring.org/sub/eunet.htm>; ultima consultazione 17/09/2007.
4. Reis MF, Tedim J, Aguiar P, Miguel JP, Casteleyn L, Joas R, Van Tongelen B. Online integrated solution to collect data, generate information and manage events in the human biomonitoring field. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210(3-4):403-6.
5. Comunità Europea. *Environment and Health Action Plan on human biomonitoring 2004-2010*. Disponibile all'indirizzo: http://ec.europa.eu/environment/health/action_plan.htm; ultima consultazione 17/09/2007. Vedi anche: Commission of the European Communities Brussels, 9.6.2004 -COM(2004) 416 final - Volume II, Technical Annexes to the Communication of the Commission on the European Environment and Health Action Plan 2004-2010.
6. Ministero della salute. *Piano Sanitario Nazionale 2006-2008*. Disponibile all'indirizzo: http://www.ministerosalute.it/resources/static/primopiano/316/PSN_2006_08_28_marzo.pdf; ultima consultazione 17/09/2007.
7. APAT. *Le attività di bonifica dei siti contaminati in Italia a cura di: Dipartimento per le Emergenze Ambientali. Ideambiente* 2007;4(34). Disponibile all'indirizzo: http://www.apat.gov.it/site/it-IT/IdeAmbiente/Sezioni/Articoli/Documenti/07_2005_art_09.html?PageID=6167; ultima consultazione 17/09/2007.
8. Terracini B. Aree oggetto di bonifica: Inquadramento teorico e metodologico. In: Cori L, Cocchi M, Comba P. (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 2005/1). p. 53-67.

9. Italia. Decreto Ministeriale 18 settembre 2001, n. 468. Regolamento recante: "Programma nazionale di bonifica e ripristino ambientale". *Gazzetta Ufficiale - Supplemento Ordinario* n. 13, 16 gennaio 2002.
10. US Environmental Protection Agency (US EPA). *Contaminated sediments science priorities*. Science Policy Council. Washington, DC 20460 December 2004. Disponibile all'indirizzo: <http://www.epa.gov/osa/spc/pdfs/cssp-final.pdf>; ultima consultazione 17/09/2007.
11. US Environmental Protection Agency (US. EPA). *Persistent Organic Pollutants: a global issue, a global response*. Office of International Affairs (2610R) EPA160-F-02-001. April 2002. Disponibile all'indirizzo: <http://www.epa.gov/international/toxics/pop.pdf>; ultima consultazione 17/09/2007.
12. US Environmental Protection Agency (US. EPA). *Framework for Metals Risk Assessment*. EPA 120/R-07/001 March, 2007. Office of the Science Advisor Risk Assessment Forum. Washington, DC 20460. Disponibile all'indirizzo: <http://www.epa.gov/osa/metalsframework/pdfs/metals-risk-assessment-final.pdf>; ultima consultazione 17/09/2007.
13. Iavarone I. La valutazione dell'esposizione ad inquinanti ambientali. In: Bianchi F, Comba P. (Ed.). *Le indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 2006/19). p 18-33.
14. Reis MF, Sampaio C, Brantes A, Aniceto P, Melim M, Cardoso L, Gabriel C, Simao F, Miguel JP. Human exposure to heavy metals in the vicinity of Portuguese solid waste incinerators--Part 1: biomonitoring of Pb, Cd and Hg in blood of the general population. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210(3-4):439-46.
15. Reis MF, Sampaio C, Brantes A, Aniceto P, Melim M, Cardoso L, Gabriel C, Simao F, Segurado S, Miguel JP. Human exposure to heavy metals in the vicinity of Portuguese solid waste incinerators--Part 2: biomonitoring of lead in maternal and umbilical cord blood. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210(3-4):447-54.
16. Reis MF, Sampaio C, Brantes A, Aniceto P, Melim M, Cardoso L, Gabriel C, Simao F, Miguel JP. Human exposure to heavy metals in the vicinity of Portuguese solid waste incinerators-Part 3: Biomonitoring of Pb in blood of children under the age of 6 years. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210(3-4):455-9.
17. Wilhelm M, Ewers U, Schulz C. Revised and new reference values for some persistent organic pollutants (POPs) in blood for human biomonitoring in environmental medicine. *Int J Hyg Environ Health* 2003;206(3):223-9.
18. Wilhelm M, Ewers U, Wittsiepe J, Fürst P, Hölzer J, Eberwein G, Angerer J, Marczyński B, Ranft U. Human biomonitoring studies in North Rhine-Westphalia, Germany. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210(3-4):307-18.
19. Wilhelm M, Eberwein G, Hölzer J, Glatke D, Angerer J, Marczyński B, Behrendt H, Ring J, Sugiri D, Ranft U. Influence of industrial sources on children's health - Hot spot studies in North Rhine Westphalia, Germany. *J Hyg Environ Health* 2007;21(5):591-9.
20. Wilhelm M, Eberwein G, Hölzer J, Begerow J, Sugiri D, Glatke D, Ranft U. Human biomonitoring of cadmium and lead exposure of child-mother pairs from Germany living in the vicinity of industrial sources (hot spot study NRW). *J Trace Elem Med Biol* 2005;19(1):83-90.
21. Alonso E, Cambra K, Martinez T. Lead and cadmium exposure from contaminated soil among residents of a farm area near an industrial site. *Arch Environ Health* 2001;56(3):278-82.
22. Yapici G, Can G, Kiziler AR, Aydemir B, Timur IH, Kaypmaz A. Lead and cadmium exposure in children living around a coal-mining area in Yatağan, Turkey. *Toxicol Ind Health* 2006;22(8):357-62.
23. Ahamed M, Verma S, Kumar A, Siddiqui MK. Environmental exposure to lead and its correlation with biochemical indices in children. *Sci Total Environ* 2005;346(1-3):48-55.

24. Barbosa F Jr, Tanus-Santos JE, Gerlach RF, Parsons PJ. A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: advantages, limitations, and future needs. *Environ Health Perspec*. 2005;113(12):1669-74.
25. Meccalf SW, Orloff KG. Biomarkers of exposure in community settings. *J Toxicol Environ Health A* 2004;67(8-10):715-26.
26. Calafat AM, Ye X, Silva MJ, Kuklenyik Z, Needham LL. Human exposure assessment to environmental chemicals using biomonitoring. *Int J Androl* 2006;29(1):166-71; discussion 181-5.
27. Paustenbach D, Galbraith D. Biomonitoring: is body burden relevant to public health? *Regul Toxicol Pharmacol* 2006;44(3):249-61.
28. Paustenbach D, Galbraith D. Biomonitoring and biomarkers: exposure assessment will never be the same. *Environ Health Perspect* 2006;114(8):1143-9.
29. LaKind JS, Brent RL, Dourson ML, Kacew S, Koren G, Sonawane B, Tarzian AJ, Uhl K. Human milk biomonitoring data: interpretation and risk assessment issues. *J Toxicol Environ Health A* 2005;68(20):1713-69.
30. Fenton SE, Condon M, Ettinger AS, LaKind JS, Mason A, McDiarmid M, Qian Z, Selevan SG. Collection and use of exposure data from human milk biomonitoring in the United States. *J Toxicol Environ Health A* 2005;68(20):1691-712.
31. Angerer J, Bird MG, Burke TA, Doerrner NG, Needham L, Robison SH, Sheldon L, Zenick H. Strategic biomonitoring initiatives: moving the science forward. *Toxicol Sci* 2006;93(1):3-10.
32. Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: state of the art. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210(3-4):201-28.
33. Nieuwenhuijsen M, Paustenbach D, Duarte-Davidson R. New developments in exposure assessment: the impact on the practice of health risk assessment and epidemiological studies. *Environ Int* 2006;32(8):996-1009.
34. Albertini R, Bird M, Doerrner N, Needham L, Robison S, Sheldon L, Zenick H. The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessments. *Environ Health Perspect* 2006;114(11):1755-62.
35. Hays SM, Becker RA, Leung HW, Aylward LL, Pyatt DW. Biomonitoring equivalents: a screening approach for interpreting biomonitoring results from a public health risk perspective. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007;47(1):96-109.
36. Centers for Disease Control and Prevention. *Screening young children for lead poisoning: guidance for State and Local Public Health Officials*. Atlanta: CDC; 1997. Disponibile all'indirizzo: <http://www.cdc.gov/nceh/lead/guide/guide97.htm>; ultima consultazione 17/09/2007, e *CDC's Childhood Lead Poisoning Prevention Program*. Disponibile all'indirizzo: www.cdc.gov/nceh/lead/lead.htm; ultima consultazione 17/09/2007.
37. Centers for Disease Control and Prevention. *Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals*. Atlanta (GA), 2005. Disponibile all'indirizzo: <http://www.cdc.gov/exposurereport/report.htm>; ultima consultazione 17/09/2007.
38. US EPA, National Center for Environmental Research. *Draft Report on the Environment: Human Health: Measuring Exposure to Environmental Pollution 2003*. Disponibile all'indirizzo: <http://www.epa.gov/indicators/roe/html/roePDF.htm>; ultima consultazione 17/09/2007.
39. WHO. *Biomonitoring of human milk for Persistent Organic Pollutants (POPs)*. 2007. Disponibile all'indirizzo: <http://www.who.int/foodsafety/chem/pops/en/>; ultima consultazione 17/09/2007.
40. Cori L, Cocchi M, Comba P. (Ed). *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/1).

41. Bianchi F, Comba P. (Ed). Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19).
42. Bianchi F, Biggeri A, Cadum E, Comba P, Forastiere F, Martuzzi M, Terracini B. Environmental epidemiology and polluted areas in Italy. *Epidemiol Prev* 2006;30(3):146-52.
43. Schulz C, Conrad A, Becker K, Kolossa-Gehring M, Seiwert M, Seifert B. Twenty years of the German Environmental Survey (GerES): Human biomonitoring - Temporal and spatial (West Germany/East Germany) differences in population exposure. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210(3-4):271-97.
44. CDC, National Center for Health Statistics. National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). 2007. Disponibile all'indirizzo: <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm>; ultima consultazione 17/09/2007.
45. Cori L, Tassoni E. Attività di bonifica e Fondi strutturali. In: Cori L, Cocchi M, Comba P. (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 2005/1); 2005. p. 7-34.
46. *Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants*. Geneva, Switzerland: 2002. Disponibile all'indirizzo: <http://www.pops.int>; ultima consultazione 17/09/2007.
47. ATSDR, 2005. *Toxguide for lead*. Disponibile all'indirizzo: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-13.pdf>; ultima consultazione 17/09/2007. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Disponibile all'indirizzo: www.atsdr.cdc.gov; ultima consultazione 17/09/2007.
48. De Felip E, Ingelido AM. Levels of persistent toxic substances in the general population in Italy. *Ann Ist Super Sanità* 2004;40(4):411-5.
49. Kyle AD, Balmes JR, Buffler PA, Lee PR. Integrating Research, Surveillance, and Practice in Environmental Public Health Tracking. *Environ Health Perspec* 2006;114(7):980-4.

MECCANISMI DI BIODISPONIBILITÀ NEL SUOLO DI CONTAMINANTI AMBIENTALI PERSISTENTI

Gianniantonio Petruzzelli, Francesca Pedron
Istituto per lo Studio degli Ecosistemi CNR, Pisa

Suolo e salute

Il suolo è un sistema trifasico molto complesso caratterizzato da una rilevante quantità di processi e reazioni (distribuzione tra le fasi adsorbimento desorbimento, degradazione ecc), che gli conferiscono un'elevata variabilità spaziale e temporale. Le tre fasi del suolo: solida, liquida e gassosa, sono accompagnate da una quarta importantissima fase, la fase vivente; infatti in un grammo di suolo sono contenuti mediamente 10 bilioni di organismi che influenzano in modo determinante molti dei processi che vi avvengono. Questo complesso sistema è la fonte primaria degli elementi e delle sostanze che l'uomo assorbe attraverso la dieta. Infatti oltre il 98% degli alimenti è prodotto sul terreno: le piante assorbono le sostanze dal suolo e le trasferiscono nella catena alimentare. Gli elementi assorbiti dalle piante vengono ingeriti direttamente nel caso di consumo di vegetali, o indirettamente attraverso la carne, il latte ecc.

La salute dell'uomo è in larga parte determinata dalla qualità della nutrizione e quindi dall'assorbimento di sostanze ed elementi minerali, macro e micronutrienti la cui fonte primaria è il suolo.

La qualità del suolo riveste dunque un'importanza fondamentale per la salute umana e sembra piuttosto sorprendente che, nell'ambito della scienza del suolo, esistano pochi studi su questo argomento (1, 2). Pur nella evidente difficoltà di raccogliere competenze multidisciplinari diverse, che spesso parlano linguaggi differenti, appare ormai indilazionabile un approfondimento della relazione suolo – salute in special modo in una società, come quella odierna, caratterizzata da profondi squilibri, nella quale esistono, ad esempio, aree industrializzate soggette a fenomeni di inquinamento derivante da eccessi di metalli, e aree nelle quali la carenza degli stessi elementi nel suolo provoca danni irreversibili alla salute (3). La comprensione dei meccanismi che legano qualità del suolo e salute, passa attraverso l'identificazione dei processi di biodisponibilità che regolano il trasferimento delle sostanze dal suolo all'uomo attraverso la catena alimentare e altri percorsi di esposizione.

Meccanismi di biodisponibilità nel suolo

Nel suolo, la biodisponibilità è la risultante di una serie di complessi processi di trasferimento di massa e di assorbimento che sono determinati dalle proprietà delle sostanze, dalle caratteristiche del suolo e dalla biologia degli organismi interessati. Per rendere conto di questa complessità è più corretto parlare di processi di biodisponibilità, intendendo con questo termine un insieme di interazioni, caratterizzato da differenti aspetti e diverse fasi temporali, che determinano l'esposizione di un organismo ad una sostanza chimica presente nel suolo (Figura 1) (4).

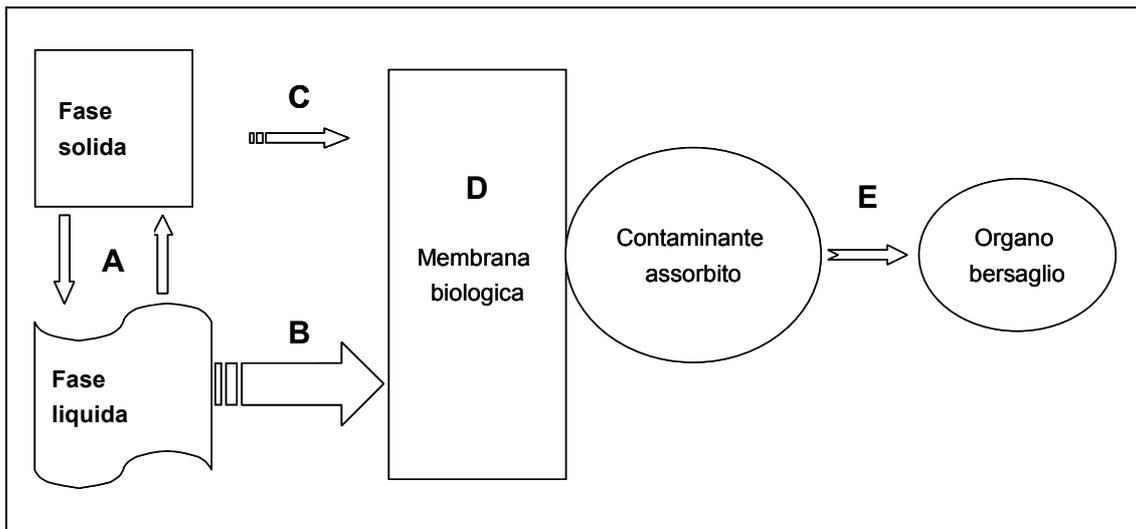


Figura 1. Processi di biodisponibilità e vari step A, B, C, D, E che li caratterizzano (modificata da: National Research Council, 2003)

Il primo di questi processi (*Step A*) è il passaggio di un elemento dalla fase solida nella quale è sostanzialmente non disponibile per alcun processo ambientale, alla fase liquida, nella quale risulta invece potenzialmente disponibile per la maggior parte degli organismi che vivono nel terreno o sul terreno. Al momento in cui un contaminante raggiunge il suolo, il legame con la fase solida può avvenire mediante processi di adsorbimento sia sulla matrice minerale (argille, ossidi, idrossidi) che su quella organica (sostanze umiche), oppure a seconda del contaminante, ad esempio un metallo, per formazione di precipitati in base a specifiche condizioni chimiche. Si vengono così a formare dei legami di varia natura e forza tra i contaminanti e le superfici del suolo.

Il rilascio di un contaminante dalle superfici del terreno nella fase liquida avviene in risposta a variazioni dell'ambiente chimico nella soluzione del terreno. Una volta rilasciato nella fase liquida, un contaminante può muoversi liberamente verso un organismo vivente in seguito a processi di trasporto (diffusione, dispersione, ecc.), che lo portano in contatto con la membrana di un organismo (*Step B*). Gli stessi meccanismi di trasporto possono, talora, veicolare anche le sostanze che sono legate alle particelle solide di dimensioni molto piccole di natura colloidale (*Step C*). Durante la fase di trasporto i contaminanti possono essere soggetti ad ulteriori reazioni (ossidazione, idrolisi, fotolisi, degradazione, ecc.) che possono modificarne sia la tossicità che la biodisponibilità.

Dopo che un contaminante dall'ambiente esterno entra in un sistema vivente (*Step D*) l'influenza del suolo sui processi di biodisponibilità continua ad essere importante solo nel caso di ingestione diretta di terreno. I processi di biodisponibilità dipenderanno, da questo momento in poi, in maniera predominante dalle caratteristiche specifiche dell'organismo che regoleranno anche l'ultima parte del processo all'interno dell'organismo stesso (*Step E*).

In generale la dimensione e la natura degli effetti di un contaminante saranno determinati oltre che dalla concentrazione anche dalla forma chimica; infatti, se la concentrazione di un contaminante che raggiunge l'organo bersaglio è molto bassa, ovvero la forma chimica è tale da non interagire con un organismo, non si osserva alcun effetto negativo. Al contrario se un

composto è presente in elevata concentrazione in forma biodisponibile, si possono verificare effetti letali anche in tempi molto brevi. Tra le due situazioni estreme, si collocano gli effetti, non letali, ma sempre negativi, determinati dalla frazione biodisponibile quali ad esempio una ridotta attività metabolica o riproduttiva, accompagnati da una crescente sensibilità agli stress chimici o fisici.

I contaminanti che vengono bioaccumulati nelle piante o negli animali divengono disponibili per gli organismi superiori che si nutrono di questi. In dipendenza dal grado di bioaccumulo in ciascun organismo, i ricettori finali possono essere esposti a concentrazioni più elevate rispetto a quelle che si trovano nei suoli da cui il contaminante proviene (biomagnificazione).

Se la pianta è l'anello fondamentale del passaggio di un contaminante dal suolo all'uomo, si deve rimarcare come qualunque sostanza, per essere assorbita dall'apparato radicale deve essere disciolta nella fase liquida. Nei processi di biodisponibilità questo fondamentale passaggio, dalla fase solida alla soluzione del terreno è governato dalle caratteristiche specifiche del suolo.

Per comprendere come le caratteristiche specifiche di ogni suolo influenzino i meccanismi di biodisponibilità e il potenziale trasferimento nella catena alimentare dei contaminanti, si può considerare l'esempio emblematico dei metalli pesanti che sono gli elementi più persistenti nel suolo, esaminando i parametri che ne determinano il rilascio dalla fase solida e il chimismo nella soluzione del terreno.

Caratteristiche del suolo che influenzano la biodisponibilità

pH

Il pH, che è una misura dell'acidità di un terreno, dipende dalla natura del substrato mineralogico da cui si è originato il suolo, ed è il parametro più importante che governa la concentrazione degli elementi inorganici nella soluzione del terreno, regolando i fenomeni di precipitazione e solubilizzazione. La solubilità della maggior parte dei metalli tende a diminuire all'aumentare del pH. In condizioni alcaline i processi di precipitazione riducono la quantità della maggior parte degli ioni metallici in soluzione, mentre il fenomeno opposto si verifica in ambiente acido. Fanno eccezione alcuni importanti elementi dotati di pericolosità ambientale, quali l'arsenico e il cromo, che si comportano in modo inverso agli altri metalli. Il pH regola anche i processi di adsorbimento specifico e di complessazione. L'adsorbimento dei metalli è spesso proporzionale al pH a causa della competizione degli ioni H⁺ per gli stessi siti di adsorbimento sulle superfici del terreno (5). Anche l'idrolisi dei metalli a pH più elevato favorisce il trattenimento di questi nella fase solida del terreno sotto forma di idrosso-complessi riducendo al di sopra di un certo valore, caratteristico per ciascun metallo la concentrazione di questi elementi in soluzione diminuendone di fatto la biodisponibilità, o meglio la bioaccessibilità intendendosi con questo termine la quota rilasciata dalla fase solida e potenzialmente disponibile per i processi biologici.

Argille

Le argille, costituenti primari del suolo, trattengono i metalli mediante reazioni di adsorbimento specifico e di scambio ionico attraverso un meccanismo di interazione con gli ioni ossidrilici ai quali si legano successivamente i metalli ovvero per la formazione di legami

direttamente con i metalli e spiazzamento di un protone. Tra i vari tipi di argille esistono notevoli differenze nelle capacità adsorbenti; ad esempio la caolinite ha una capacità di trattenimento molto superiore a quella della montmorillonite dovuta al numero molto più elevato di siti debolmente acidi sugli spigoli. I processi di adsorbimento e ritenzione sono ancora più elevati nelle argille espandibili nelle quali l'adsorbimento avviene negli spazi interstrati. L'importanza della tessitura del terreno sulla distribuzione dei contaminanti tra le fasi ha delle implicazioni dirette sulla biodisponibilità, che è sempre più elevata in terreni di natura sabbiosa rispetto a quelli argillosi, risultando in quest'ultimi la quota bioaccessibile assai più ridotta per i fenomeni di adsorbimento.

Sostanza organica

La sostanza organica nel terreno è il materiale che deriva dalla decomposizione di residui vegetali e animali strutturato in forme chimiche complesse; il contenuto nel suolo è quasi sempre piuttosto ridotto, inferiore a quello delle argille, tuttavia l'importanza di questa componente per la biodisponibilità è molto elevata, per la tendenza che le sostanze umiche hanno a formare complessi con i metalli e a fungere da superfici adsorbenti per i composti organici. Per altro gli effetti sulla bioaccessibilità sono variabili perché i complessi che si formano possono essere sia solubili che insolubili; in particolare i complessi che si formano con le sostanze di più basso peso molecolare (acidi fulvici) sono solubili e tendono ad aumentare il contenuto di metalli nella soluzione del terreno. Al contrario gli acidi umici di più elevato peso molecolare formano complessi molto stabili con i metalli sottraendoli a tutti i processi ambientali e riducendone la biodisponibilità in relazione alla forza dei legami che si formano nelle reazioni di complessazione. I gruppi funzionali fenolici carbossilici e amminici sono essenziali nel trattenimento dei metalli da parte delle sostanze umiche e l'aumento di questi gruppi funzionali durante il processo di umificazione aumenta la stabilità dei complessi nel tempo riducendo la biodisponibilità dei metalli.

Capacità di scambio

Questa grandezza, che esprime la densità di carica sulle superfici dei colloidi del suolo, è determinata dalla sostanza organica e dalla quantità e dal tipo di argille, ad esempio la montmorillonite ha una carica netta superiore a quella della caolinite e conseguentemente una maggior capacità di scambio. Le cariche negative sulle superfici della fase solida del suolo possono essere permanenti o dipendere dal pH e per mantenere l'elettroneutralità sono bilanciate da una uguale quantità di ioni alcalini con carica positiva nella soluzione del terreno, che si legano alle superfici mediante deboli legami elettrostatici. Sono proprio questi cationi che possono venire facilmente sostituiti dai metalli che risultano così trattenuti dalle fasi solide e resi meno biodisponibili.

Potenziale redox

Nel terreno avvengono molte reazioni di ossidoriduzione che sono controllate dalla attività degli elettroni liberi in soluzione espressa come potenziale redox (Eh) che può essere considerato una misura della densità elettronica nel terreno. Elevati livelli di Eh sono caratteristici di terreni asciutti e ben aerati, mentre i suoli sommersi o particolarmente ricchi di sostanza organica tendono ad avere bassi valori di Eh. Quest'ultima condizione promuove la

solubilizzazione, e una conseguente maggiore biodisponibilità dei metalli, in seguito al rilascio di questi ioni dalle superfici degli idrossidi di ferro e manganese, questo effetto può essere tuttavia contro bilanciato dalla formazione di solfuri e solfiti metallici che è caratteristica nei terreni in condizioni anaerobiche.

Altri fattori

Gli ossidi di ferro e manganese trattengono i metalli sia per reazioni di precipitazione che di adsorbimento specifico, riducendone la quantità in soluzione e di conseguenza la biodisponibilità. Un aumento della forza ionica nella soluzione del terreno tende a ridurre l'adsorbimento dei metalli da parte delle superfici a causa della maggiore competizione degli ioni alcalini (6). Un simile risultato si verifica anche nel caso di presenza di più metalli contemporaneamente che competono per gli stessi siti di adsorbimento. La temperatura del suolo influenza i processi di decomposizione della sostanza organica e quindi può modificare la stabilità dei complessi con i metalli e la loro solubilità. La biomassa microbica può favorire la precipitazione dei metalli come solfuri e ridurre il contenuto nella soluzione del terreno anche offrendo nuove superfici per processi di adsorbimento, mentre gli apparati radicali possono aumentare la solubilità per il rilascio di sostanze complessanti (essudati radicali) o di protoni che aumentano l'acidità nella zona della rizosfera.

Fattore tempo

Un importante aspetto che governa le interazioni tra la fase solida del suolo e i contaminanti è il fattore tempo; con la permanenza nel suolo un contaminante è soggetto a delle trasformazioni che lo portano ad essere maggiormente trattenuto dalla fase solida e a divenire meno disponibile per i processi ambientali. Questo aspetto è particolarmente importante per i composti organici, la cui biodisponibilità è governata dalle caratteristiche del terreno sinteticamente descritte in precedenza, e anche da alcuni processi, quali quelli di volatilizzazione e biodegradazione, che riducono, nel tempo, la loro presenza nel suolo. La scomparsa di un contaminante organico dal suolo è descrivibile mediante un processo a due fasi, di cui la prima è breve e molto veloce seguita da una seconda fase di lungo periodo e molto più lenta. L'importanza relativa di queste due fasi dipende dalle caratteristiche chimiche di ogni composto, in particolare dalla volatilità e dalla idrofobicità, essendo in generale i composti idrofobi molto più persistenti nel suolo.

Nelle fasi di permanenza nel terreno a causa dei processi di invecchiamento nel tempo si ha una riduzione della biodisponibilità dei composti organici con la formazione di residui stabili, non biodisponibili. Il processo di *ageing* è stato oggetto di molti studi alla fine degli anni '90 (7-13) e si è riscontrato che è notevolmente influenzato dal contenuto e dalla natura delle sostanze umiche, dalla concentrazione iniziale dei composti, dalla biomassa microbica e anche da alcune proprietà fisiche del suolo, in particolare dal sistema dei pori, sia come forma che come dimensioni. Infatti, i composti organici possono essere soggetti oltre che a fenomeni di adsorbimento irreversibile, anche a processi di intrappolamento fisico all'interno dei micropori del suolo.

Nel suolo esistono migliaia di composti organici naturali sintetizzati da piante animali e microrganismi, e questi composti vengono continuamente distrutti dai processi di biodegradazione, di conseguenza in una scala temporale abbastanza ampia, la concentrazione nel terreno di questi composti organici naturali si mantiene sostanzialmente costante, mentre

composti organici naturali persistenti, come le sostanze umiche, svolgono un'efficace azione di assorbenti, nei confronti dei contaminanti riducendone la biodisponibilità, senza manifestare alcuna azione tossica. Al contrario le sostanze chimiche di origine antropica, per quanto soggette agli stessi processi di biodegradazione di quelle naturali, presentano delle strutture molecolari spesso notevolmente diverse, che possono non essere suscettibili all'attacco enzimatico, in assenza del quale i microrganismi non sono in grado di aggredire queste molecole che quindi tenderanno a persistere per lunghi periodi nel suolo, e a seconda della tossicità intrinseca (ad esempio PCB) e del livello di biodisponibilità potranno dar luogo a rilevanti pericoli di carattere ambientale e sanitario.

La biodisponibilità dei composti organici nel suolo, stante le notevoli differenze delle caratteristiche chimiche dei diversi composti, è difficilmente generalizzabile, tuttavia, restando nel segmento ambientale suolo-pianta e considerando, come esempio, un'importante classe di contaminanti organici, quella degli idrocarburi policiclici aromatici, si possono individuare alcuni aspetti generali che possono essere estesi anche ad altre classi di composti organici:

- L'assorbimento mediante l'apparato radicale e la distribuzione all'interno della pianta sono molto ridotti a causa della bassa solubilità in acqua e dei processi di adsorbimento delle sostanze idrofobiche da parte della materia organica del suolo.
- L'assorbimento da parte delle radici è possibile per gli idrocarburi con tre o quattro anelli, ma è da escludersi per strutture molecolari più complesse.
- L'assorbimento degli idrocarburi spesso si riscontra sulla superficie delle radici senza che avvenga un trasferimento all'interno della pianta, mentre la via principale di assunzione di questi composti è la deposizione atmosferica, il che rende difficile la valutazione della quantità assorbita dal terreno.

La misura della biodisponibilità

Il concetto di biodisponibilità è utilizzato da molto tempo nella scienza del suolo, ad esempio per definire la quantità di un elemento (N, P, K, ecc.) che è disponibile per la nutrizione vegetale e rappresenta spesso la base per decidere la quantità di fertilizzante da impiegare in un certo tipo di terreno per una determinata coltura.

Questo approccio non è immediatamente trasferibile in ambito ambientale dove è necessario conoscere i meccanismi di inquinamento per definire sia i rischi che ne derivano sia le possibili misure per eliminarlo. La biodisponibilità deve essere valutata non esclusivamente per le piante, ma anche per gli altri esseri viventi presenti nel suolo, pur restando il segmento ambientale suolo-pianta quello di maggiore importanza per la salute dell'uomo. Pur essendo riconosciuto dalla comunità scientifica che la biodisponibilità è la chiave di volta per comprendere i pericoli derivanti dall'inquinamento, una delle principali difficoltà nell'applicazione pratica del concetto di biodisponibilità in campo ambientale, deriva dalla mancanza di un consenso univoco su quali metodologie impiegare per la sua misura. Per anni la chimica del suolo ha esplorato diverse strategie di valutazione della frazione biodisponibile di una sostanza o di un elemento, spesso alla ricerca di un estraente chimico valido per tutte le sostanze. Oggi questa strategia mostra notevoli limiti e appare concettualmente superata poiché la biodisponibilità è determinata da una serie articolata di differenti processi, che coinvolgono la chimica, la biologia e l'ecotossicologia.

Una possibile alternativa per superare questo ostacolo, è quella di applicare un insieme di test per valutare la biodisponibilità invece di cercarne uno universale che valga in ogni condizione.

In definitiva l'unica via diretta di misurare la biodisponibilità di un certo contaminante per un certo organismo sarebbe l'impiego di quest'ultimo stesso. Il numero degli organismi nell'ecosistema è naturalmente troppo elevato per potere operare rigorosamente secondo questa strategia, ed è necessario ricorrere a delle approssimazioni in laboratorio con degli "organismi test" che forniranno, mediante prove di carattere biologico, delle indicazioni sulla biodisponibilità.

Se d'altra parte il fattore limitante nell'assorbimento dal terreno di un certo composto da parte di un organismo, deriva da una serie di processi chimici che avvengono nel suolo, indicazioni sulla biodisponibilità possono derivare anche da un test chimico che individui la natura dei legami con cui una certa sostanza è trattenuta dalle superfici del terreno.

Impiegando una duplice via di misura (14) le informazioni sulla biodisponibilità per un certo organismo deriveranno da prove di laboratorio nelle quali la biodisponibilità è determinata sia per via biologica che per via chimica. Il test chimico e quello biologico da soli non definiscono la biodisponibilità, ma entrambi forniscono delle informazioni sulla biodisponibilità.

Se consideriamo ad esempio un metallo pesante nel segmento ambientale "suolo contaminato-vegetale" i processi che determinano la biodisponibilità sono: il rilascio dalla fase solida nella fase liquida del terreno, e l'assorbimento dell'elemento in forme solubili da parte dell'apparato radicale dei vegetali.

Dal punto di vista chimico si può quindi determinare la quantità presente nella soluzione del terreno e/o quella più facilmente rilasciabile dalla fase solida. A questo scopo si possono impiegare o il prelievo diretto della soluzione del terreno o l'impiego di estraenti blandi (acqua o soluzioni di sali alcalini).

Il test biologico può essere condotto mediante prove di crescita di specie vegetali sul terreno contaminato, e rappresenta un passaggio molto interessante nella determinazione della biodisponibilità dal momento che consente di prendere in esame direttamente anche quei fenomeni di trattenimento dei metalli, da parte del terreno, legati ai processi di *ageing* che tendono a ridurre la biodisponibilità. Al termine della crescita l'analisi del contenuto di metalli nei vegetali fornirà, in aggiunta al test chimico, un'ulteriore indicazione sulla quantità biodisponibile.

La combinazione dell'approccio biologico e chimico fornisce una serie di contributi riguardo ai processi di biodisponibilità nel suolo, la cui valutazione può essere basata su criteri *weight of evidence* attribuendo ad ogni test un peso in relazione al contributo fornito.

Gli aspetti che maggiormente qualificano i diversi test sono:

- la rilevanza dal punto di vista della chimica del suolo;
- la rilevanza dal punto di vista del ricettore finale;
- la rilevanza rispetto al percorso in esame.

All'impiego combinato di più metodi chimici, biologici, tossicologici, deve essere associata un'approfondita conoscenza delle caratteristiche specifiche del suolo in esame che consenta con una notevole precisione di individuare i processi più importanti a cui sono soggetti i contaminanti.

Conclusioni

La crescita industriale è stata accompagnata da un aumento incontrollabile dei rifiuti che in molti casi hanno trovato la loro collocazione finale nel suolo. All'interfaccia tra i cicli naturali della biosfera e i processi alterativi caratteristici delle attività antropiche, il suolo svolge un ruolo di elevata funzionalità in tutti gli equilibri ambientali, perché, non solo è la destinazione

finale di molte sostanze contaminanti, ma interagisce con queste con un'elevata capacità depurante mitigandone la tossicità mediante processi di ritenzione e degradazione, fungendo da protezione nei confronti degli altri ecosistemi.

Questa capacità depurativa, tuttavia, non è illimitata e una volta superata gli inquinanti possono entrare nei cicli ambientali, compresi quelli nutrizionali dell'uomo, attraverso svariati meccanismi che rendono estremamente difficile ogni tentativo di controllo. Il suolo può allora, essere una riserva labile di sostanze chimiche che possono influenzare notevolmente la salute umana, e se alcuni effetti diretti sono stati evidenziati nel caso di aree fortemente contaminate, non si possono trascurare i pericoli derivanti da altre situazioni che pur se di minore impatto immediato, possono perdurare per lunghi periodi di tempo.

Lo studio dei processi di biodisponibilità consente di raggiungere una valutazione realistica dei pericoli derivanti dalla presenza di sostanze contaminanti nel suolo. Questo è particolarmente importante nell'ambito della problematica dei siti contaminati dove la comunità scientifica è impegnata per far sì che la biodisponibilità sia maggiormente esplicitata nelle procedure di valutazione del rischio, con lo scopo di affrontare le operazioni di bonifica su basi scientificamente più solide.

Bibliografia

1. Abrahams PW. Soils: their implications to human health. *Sci Tot Environm* 2001;291:1-32.
2. Oliver MA. Soil and human health: a review. *European J Soil Sci* 1997;48:573-92.
3. Deckers J, Steinnes E. State of the art on soil related geo-medical issues in the world. *Adv Agron* 2004; 94:2-29.
4. National Research Council. *Bioavailability of contaminants in soils and sediments*. Washington (DC): The National Academic Press; 2003.
5. Petruzzelli G. Soil sorption of heavy metals. In: *Ecological issues and environmental impact assessment*. Houston: Gulf Publishing Company; 1997. p. 145-74.
6. Petruzzelli G, Pezzarossa B. Ionic strength influence on heavy metal sorption processes by soil. *J Phys IV* 2003;107:1061-4.
7. Hatzinger PB, Alexander M. Biodegradation of organic compounds sequestered in organic solids or in nanopores within silica particles. *Environ Toxicol Chem* 1997;16:2215-20.
8. Kelsey JW, Alexander M. Declining bioavailability and inappropriate estimation of risk of persistent compounds. *Environ Toxicol Chem* 1997;16:582-5.
9. Mader BT, Uwe-Goss K, Eisenreich SJ. Sorption of non-ionic, hydrophobic organic chemicals to mineral surfaces. *Environ Sci Tech* 1997;31:1079-86.
10. White JC, Kelsey JW, Hatzinger PB, Alexander M. Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soils. *Environ Toxicol Chem* 1997;16:2040-5.
11. Chung N, Alexander M. Differences in sequestration and bioavailability of organic compounds aged in dissimilar soils. *Environ Sci Tech* 1998;32:855-60.
12. Piatt JJ, Brusseau ML. Rate limiting sorption of hydrophobic organic compounds by soils with well characterised organic matter. *Environ Sci Tech* 1998;32:1604-8.
13. Nam K, Alexander M. Role of nanoporosity and hydro-phobicity in sequestration and bioavailability: test with model soils. *Environ Sci Tech* 1998;32:71-4.
14. Harmsen JW, Rulkens W, Eijssackers H. Bioavailability: concept for understanding or tool to predicting. *Land Cont & Recl* 2005;13:161-71.

CONTAMINANTI AMBIENTALI E CANCEROGENESI: ESEMPI DI MECCANISMI D'AZIONE

Gabriele Aquilina

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

L'esposizione umana ambientale a cancerogeni chimici è caratterizzata da un elevato livello di complessità. La popolazione residente in un'area contaminata è frequentemente esposta ad un'ampia varietà di agenti contaminanti, i cui effetti biologici possono risultare sinergici. Inoltre, ogni contaminante può dare luogo ad interazioni complesse con la materia vivente e in diversi casi il potenziale cancerogeno di una sostanza può derivare dalla sinergia di più effetti biologici piuttosto che da un singolo meccanismo. Una corretta caratterizzazione del rischio associato con una contaminazione ambientale complessa richiede pertanto lo studio dei meccanismi molecolari di azione di ciascun contaminante e l'identificazione delle possibili interazioni tra i diversi effetti biologici.

In questo contributo verranno presi in esame metalli dotati di proprietà cancerogene, l'arsenico e alcuni organoclorurati di rilevanza ambientale; di queste sostanze verranno sinteticamente delineate le principali interazioni con la materia vivente e i meccanismi di cancerogenesi noti.

Metalli pesanti e arsenico

L'associazione tra esposizione ambientale e/o occupazionale e aumentata incidenza di cancro è nota e ampiamente documentata per diversi metalli. In particolare, cromo (Cr), cadmio (Cd) e nichel (Ni), sono considerati dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) cancerogeni umani di classe 1, sulla base della sufficiente evidenza di effetti cancerogeni sull'uomo. Piombo (Pb) e mercurio (Hg), frequentemente associati a contaminazione ambientale, sono invece classificati come possibili cancerogeni (classe 2B) solo in alcune forme chimiche. A questi si aggiunge l'arsenico, cancerogeno di classe I, la cui definizione corretta è semimetallo, ma che viene frequentemente trattato in tossicologia insieme ai contaminati metallici, a causa di analogie nei meccanismi di interazione con il materiale biologico.

Questi composti sono in grado di interagire con differenti stadi del processo di cancerogenesi: producendo direttamente o indirettamente danni al DNA; riducendo l'efficienza dei sistemi difensivi della cellula (riparazione, detossificazione *scavenging*); interagendo con le vie di trasduzione del segnale che regolano la proliferazione cellulare, e così agendo come promotori tumorali; in alcuni casi anche modulando i processi di adesione cellulare, con conseguenze sulla capacità di produrre metastasi.

I metalli citati e l'arsenico, anche se dotati di caratteristiche chimico-fisiche diverse, sono accomunati dalla capacità di generare specie reattive dell'ossigeno (ROS), attraverso vari processi biochimici, che saranno descritti nei paragrafi successivi.

I ROS producono un'ampia varietà di effetti biologici, correlati oltre che all'insorgenza di cancro, anche alla senescenza e a diverse malattie degenerative; di questi effetti, il più rilevante per la cancerogenesi è l'induzione di lesioni ossidative sul DNA. Alcune basi ossidate, come la 8-oxo-guanina, la 2-oxo-adenina e il glicole di timina (Figura 1 A), sono direttamente mutagene a causa di alterate capacità di codificazione (Figura 1 B); le oxo-purine possono andare incontro a processi degradativi, con formazione di lesioni che bloccano la replicazione, come le formamidopirimidine (Figura 1 C); siti abasici possono avere origine dalla degradazione di basi ossidate o da loro intermedi riparativi. Inoltre, i ROS possono reagire con deossiribosio provocando la rottura dello scheletro ribosio-fosfato del DNA con conseguente formazione di aberrazioni cromosomiche.

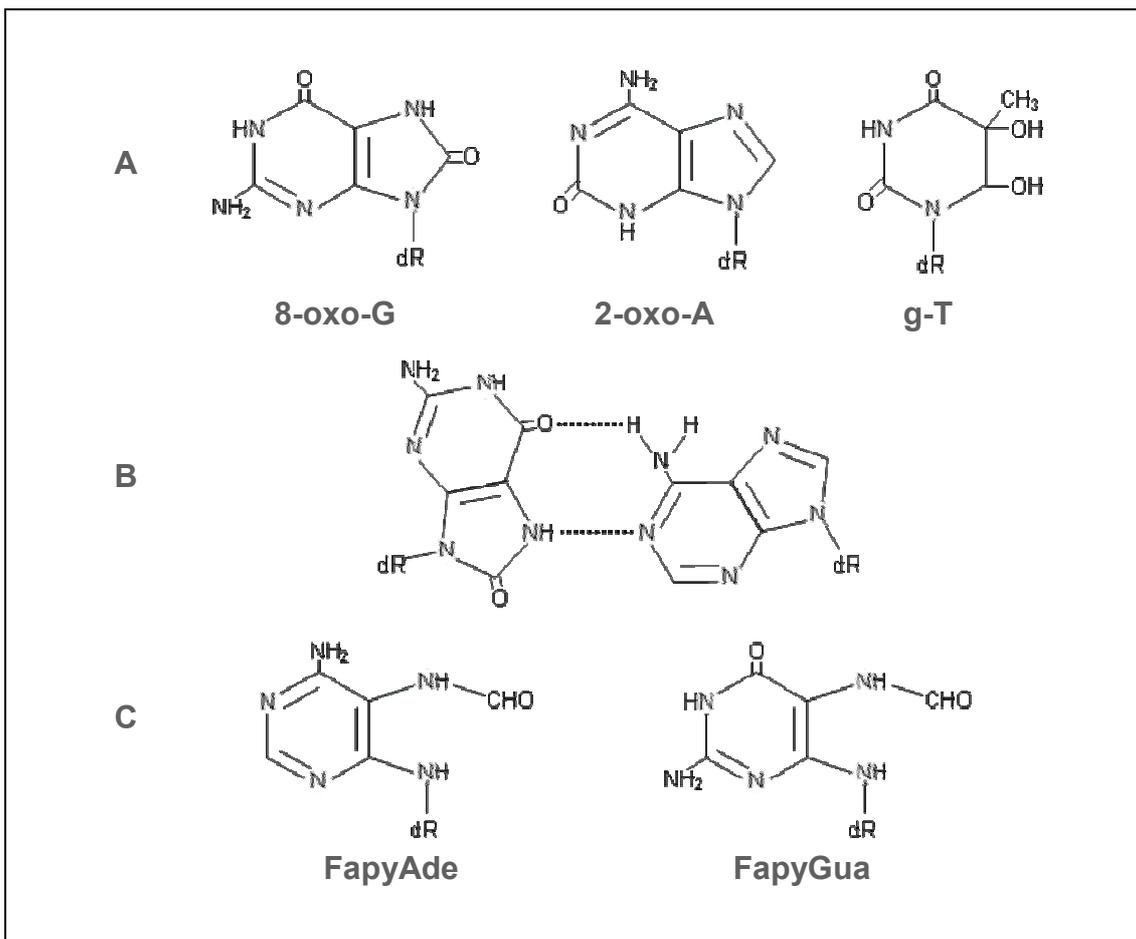


Figura 1. A: alcune basi ossidate: 8-oxo-G = 8-oxo-guanina; 2-oxo-A = 2-oxo-adenina; g-T = glicole di timina. **B:** l'appaiamento errato tra 8-oxo-guanina e adenina, esempio di alterata capacità di codificazione dovuta ad ossidazione. **C:** formamidopirimidine derivate dalla degradazione di forme ossidate dell'adenina (FapyAde) e della guanina (FapyGua). dR = deossiribosio

Nei paragrafi successivi verranno presi in esame singolarmente i diversi elementi e ne verranno descritti i principali meccanismi tossicologici rilevanti per la cancerogenesi.

Cromo

Il cromo esavalente è classificato dalla IARC come cancerogeno umano essenzialmente per la dimostrata associazione tra l'esposizione inalatoria a Cr VI contenuto in forma insolubile nel particolato aereo e il cancro del polmone. Nella sua forma trivalente, il cromo è un normale costituente dell'organismo, dove svolge un importante ruolo fisiologico nella via di segnalazione dell'insulina. Si trova in natura in diversi stati di ossidazione: III IV V VI; l'ingresso nella cellula del Cr III è finemente regolato a livelli estremamente bassi da canali di trasporto specifici. Il cromo esavalente può invece accumularsi nella cellula a livelli superiori a quelli extracellulari, perché utilizza in modo non fisiologico i canali anionici fosfato/solfato. Una volta entrato nella cellula, il cromo esavalente è rapidamente ridotto a trivalente, in un processo multifasico in cui si producono anche Cr V e Cr IV; queste specie, e in particolare Cr IV, sono efficienti catalizzatori delle reazioni di Fenton e Haber-Weiss (Figura 2), e possono pertanto produrre ROS intracellulari.

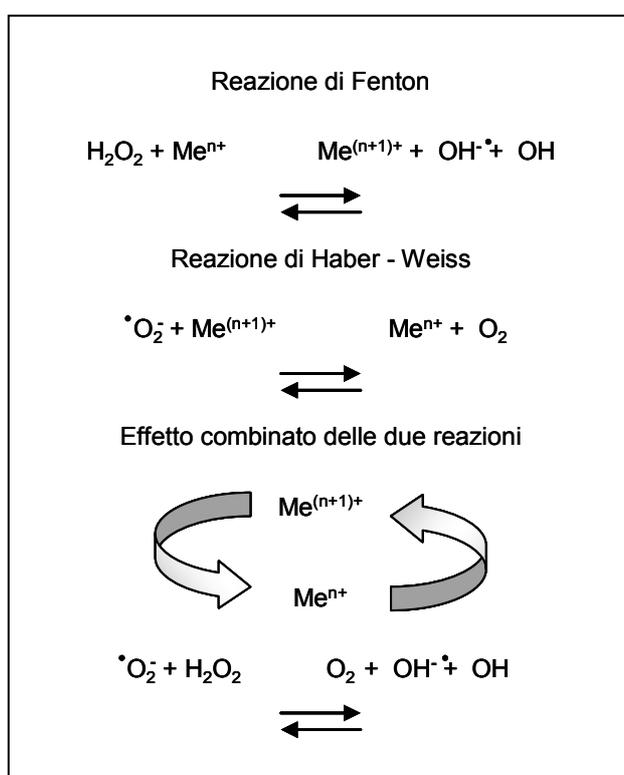


Figura 2. Meccanismo di formazione dei ROS in seguito a catalisi da parte di ioni metallici. Me^{n+} / $\text{Me}^{(n+1)+}$: ione metallico in due diversi stati di ossidazione

Il cromo trivalente può invece danneggiare direttamente il DNA formando addotti, il più frequente dei quali è un complesso ternario che coinvolge una proteina (su un residuo cisteinico o istidinico) e il gruppo fosforico del DNA (Figura 3A) (1). Quando il complesso ternario coinvolge un promotore genico e il complesso istone deacetilasi/DNA metiltrasferasi (HDAC1/DNMT1) ad esso associato, può avere anche effetti sulla regolazione genica. In particolare è stato osservato che con questo meccanismo il cromo può inibire la cascata di eventi

scatenati dall'attivazione del recettore AhR (vedi sotto) da parte del Benzo(a)pirene, tra cui l'induzione degli enzimi delle fasi I e II del processo di detossificazione; il risultato finale di questa inibizione può essere una aumentata formazione di addotti da Benzo(a)pirene (2).

Oltre a questi complessi ternari, è stato proposto che il cromo trivalente possa formare anche legami crociati intramolecolari tra la guanina e il gruppo fosforico (Figura 3 B e C). Gli addotti del cromo sono presumibilmente riparati dalla cellula mediante il *nucleotide excision repair* (NER), infatti cellule umane difettive in proteine del NER (come XPA, XPC e XPF) accumulano addotti sul DNA e risultano ipersensibili agli effetti citotossici e mutageni del cromo (3).

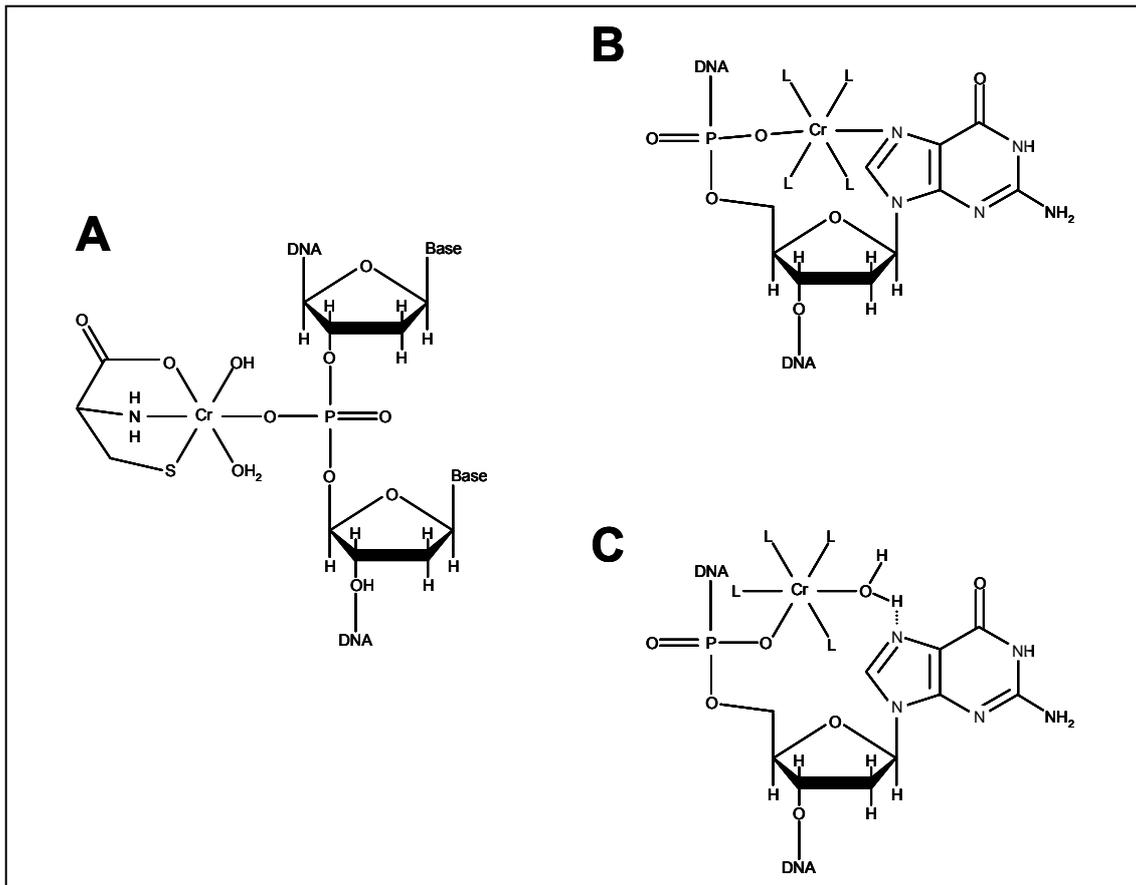


Figura 3. Strutture proposte degli addotti formati sul DNA dal cromo trivalente. A: legame crociato DNA-proteina formato tra il gruppo fosforico ed un residuo di cisteina; legame crociato intramolecolare tra il gruppo fosforico e la guanina, mediante coordinazione diretta (B) o mediante legame idrogeno (C) con l'atomo di azoto numero 7 della base. L: ligando (ascorbato, cisteina, glutatione o istidina) (modificato da 1)

L'esposizione a cromo esavalente è associata anche a diminuita espressione della glicosilasi hOGG1, responsabile della riparazione della lesione ossidativa 8-oxo-guanina (4).

Mentre l'associazione tra l'esposizione inalatoria a Cr VI e il cancro del polmone è chiaramente dimostrata, il possibile effetto cancerogeno del Cr VI assunto per ingestione con l'acqua potabile non è sostenuto da evidenze epidemiologiche ed è quindi ancora oggetto di

discussione. Un recente rapporto del *National Toxicology Program* statunitense (5) ha dimostrato che in roditori l'esposizione a cromo esavalente somministrato per via orale con l'acqua da bere provoca un'esposizione sistemica e può avere effetti cancerogeni. Il cromo VI ingerito è in massima parte ridotto a cromo III e scarsamente assorbito, pertanto si ritiene che il rischio cancerogeno associato con il cromo assunto per ingestione, se non può essere escluso in linea teorica, sia in generale meno rilevante di quello associato all'esposizione inalatoria.

Cadmio

Il cadmio si presenta solo in uno stato di ossidazione, Cd II, pertanto non è in grado di produrre direttamente ROS; ciononostante, la sua presenza produce stress ossidativo attraverso diversi meccanismi indiretti. È stato osservato il rilascio di ferro da membrane biologiche in seguito a trattamento con cadmio (6). Inoltre il Cd può anche causare deplezione di antiossidanti cellulari, come il glutatione (GSH) e la superossido dismutasi (SOD), probabilmente per interazione diretta; in particolare, il cadmio può sostituire il manganese, necessario all'attività catalitica della SOD, e così inattivarla (7).

Formazione di addotti è stata descritta in DNA plasmidico in vitro (8), ma la rilevanza del fenomeno nella cancerogenesi da cadmio è ignota.

Particolare importanza ha l'interazione del cadmio con diversi sistemi di riparazione del DNA; l'inibizione del "*Mismatch repair*" (MMR) è stata osservata in lievito e in estratti di cellule umane HeLa dopo trattamento con concentrazioni di rilevanza ambientale di CdCl₂ (9). È stato dimostrato che questa inibizione è causata dalla riduzione dell'attività ATPasica del complesso MSH2-MSH6, associata anche alla diminuzione del legame con l'ATP e con il DNA (10). Il meccanismo molecolare di questa inibizione resta da chiarire; è stato proposto che il cadmio possa legarsi a residui di istidina essenziali per l'attività ATPasica delle proteine MSH2 e MSH6.

Diversi metalli possono produrre alterazioni delle proteine interferendo con la formazione dello *zinc finger* (Figura 4). Tra questi il cadmio, che si adatta bene al sito proteico che lega l'atomo di zinco, sostituendo quest'ultimo e provocando distorsione della struttura (11). Presumibilmente con questo meccanismo il cadmio riduce la capacità della proteina XPA del NER di riconoscere lesioni indotte da UV; infatti uno *zinc finger* è essenziale per la funzionalità di XPA, e il trattamento con zinco causa la parziale attenuazione del fenomeno (12). L'interferenza con lo *zinc finger* di p53 può avere conseguenze analoghe ad una mutazione inattivante della proteina (13). È stata descritta anche interazione con proteine del *base excision repair* (BER), sistema coinvolto nella riparazione di lesioni ossidative e piccoli addotti; in particolare risulta inibita l'attività della Ogg1 murina, responsabile della riparazione della 8-oxo-guanina (14); la AP endonucleasi 1 viene anche inibita dal cadmio, ma a solo dosi molto elevate e ampiamente citotossiche (15). Il cadmio sembra anche interferire direttamente con la proteina MGMT, responsabile della riparazione diretta della O6-metilguanina, probabilmente tramite l'interazione diretta con il residuo accettore di cisteina (16).

Un ulteriore meccanismo attraverso cui diversi metalli, tra cui cadmio, mercurio e nichel, possono causare instabilità genetica è la stimolazione della mobilità di retrotrasposoni L1. Il meccanismo molecolare del fenomeno è ancora allo studio; poiché zinco e magnesio competono con la stimolazione da cadmio, si ipotizza una interazione con proteine che mediano la trasposizione, forse proteine della riparazione del DNA (17). I trasposoni L1 (LINE-1) sono lunghi elementi ripetitivi interspersi nel genoma umano, di cui rappresentano il 17%, che hanno la capacità di duplicarsi e trasporarsi, e in questo modo possono alterare la struttura e l'espressione genica traslocando tratti di DNA, e anche esoni o promotori.

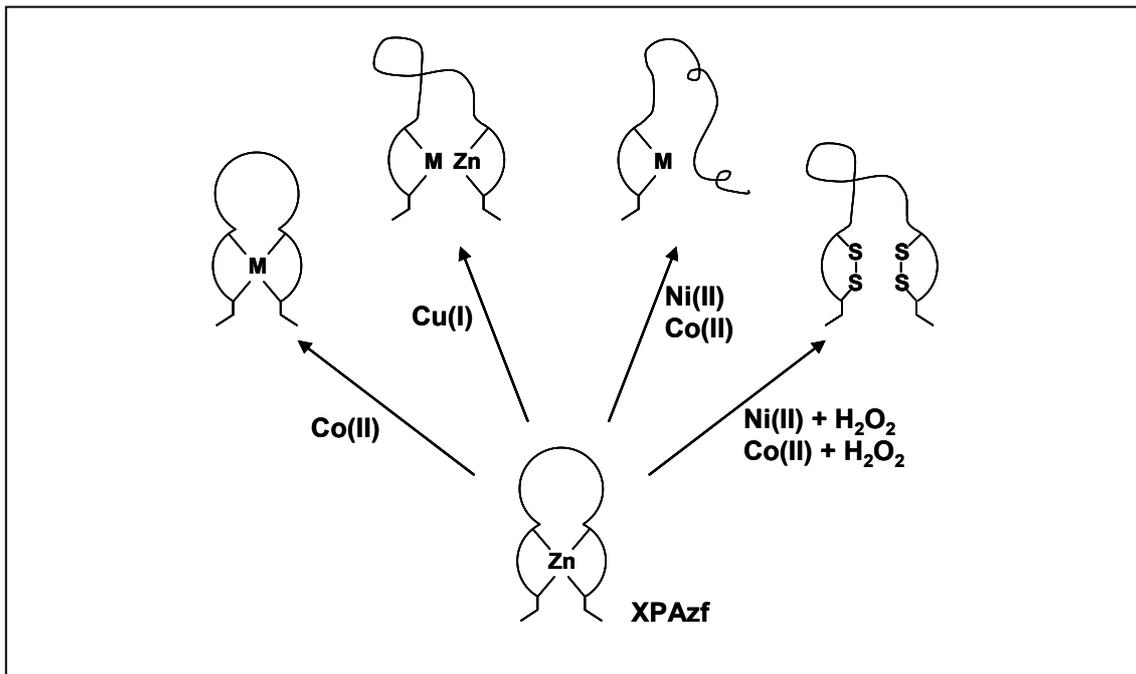


Figura 4. Interazioni di ioni metallici con lo zinc finger della proteina XPA, sulla base dei risultati sperimentali, modificato da (18)

Oltre ad avere effetti genotossici, il cadmio può interferire con le fasi tardive della progressione tumorale, interagendo con le E-Cadherine. Queste proteine sono rilevanti per lo sviluppo del tumore ad almeno due livelli: 1) mediano l'adesione cellulare, per cui la loro perdita può promuovere la metastatizzazione; 2) modulano la proliferazione cellulare attraverso le vie di trasduzione del segnale (tramite le β -Catenine). Probabilmente questa interazione è mediata dalla competizione del cadmio per il calcio richiesto dalle Cadherine, infatti l'effetto è diminuito in presenza di calcio (11).

Nichel

Il nichel si trova in natura in diversi stati di ossidazione: I II III IV; la forma bivalente è quella più comune nei sistemi biologici. Il Ni (II) / (III) può catalizzare la formazione di ROS attraverso la reazione di Fenton / Haber-Weiss (Figura 2).

Il metallo in forma insolubile viene inalato nel particolato sotto forma di composti (solfuri), trattenuto dal muco, fagocitato dai macrofagi e dalle cellule dell'epitelio polmonare, e infine rilasciato come Ni (II) biologicamente attivo. La cancerogenesi da nichel sembra limitata al polmone.

Il nichel interferisce con la riparazione del DNA: riduce la capacità di XPA di riconoscere lesioni indotte da UV, presumibilmente alterando lo *zinc finger* della proteina (infatti il processo è reversibile per trattamento con zinco) (19). A questo fenomeno è presumibilmente associata l'inibizione della riparazione di addotti da Benzo(a)Pirene osservata in cellule umane (20).

Diverse evidenze suggeriscono che il nichel possa interferire con i pattern di metilazione dei promotori e in questo modo interferire con la regolazione genica (11). Per spiegare questo

fenomeno, Costa *et al.* hanno proposto che il nichel potrebbe sostituire il magnesio (mediatore fisiologico della condensazione della cromatina) e portare ad ipercondensazione; la cromatina condensata sarebbe successivamente metilata, e questo stabilizzerebbe il silenziamento genico (21); un simile meccanismo sarebbe alla base anche della sottoregolazione della proteina riparativa MGMT.

Come il mercurio e il cadmio, il nichel può stimolare la mobilità dei retrotrasposoni L1 (22).

Piombo

Piombo metallico e composti inorganici sono classificati dalla IARC come possibili cancerogeni per l'uomo (classe 2B), sulla base di evidenza di cancerogenesi sufficiente su animali ma inadeguata sull'uomo; i composti organici del piombo sono invece considerati dall'agenzia non classificabili come cancerogeni (classe 3).

L'esposizione umana è essenzialmente associata ad usi industriali (fonderie, fabbriche di ceramica, batterie, pigmenti); l'esposizione ambientale, da cibo o contatto con tinture, è meno rilevante.

L'assunzione del piombo avviene per lo più per via inalatoria (anche cutanea per il piombo organico). Dopo l'assorbimento il piombo entra nel circolo sanguigno e si deposita nei tessuti molli (cervello, fegato, rene, midollo osseo) e nelle ossa. L'escrezione è prevalentemente renale, con emivita di circa 30 giorni, ma fino al 94% del carico corporeo si trova nel tessuto osseo, dove l'emivita può arrivare a decenni.

Il piombo può produrre danno ossidativo attraverso almeno due distinti meccanismi: la deplezione di antiossidanti cellulari, come il glutatione; l'inibizione della δ -aminolevulinico deidrasi, enzima della via biosintetica dell'eme, con conseguente aumento dell'acido δ -aminolevulinico libero (precursore dell'eme), che può generare direttamente radicali liberi (23).

Inoltre il piombo può sostituire lo zinco negli *zinc finger* e interferire con la funzione di diverse proteine, tra cui regolatori trascrizionali. È stata dimostrata l'interferenza con gli *zinc finger* delle protamine, con potenziali conseguenze sulla protezione del DNA spermico (24).

Solo *in vitro* e a concentrazioni molto elevate è stata anche descritta la formazione di legami crociati con DNA e proteine (25) e l'alterazione della conformazione del DNA conseguente a legame con i gruppi fosforici; non è quindi chiaro se il fenomeno abbia rilevanza tossicologica.

In cellule V79 di Hamster cinese è stato osservato aumento di mutagenesi indotta da UV e dall'agente metilante metil nitro nistrosoguanidina, il che fa supporre che il piombo possa interferire con diversi sistemi di riparazione del DNA (26).

Mercurio

Il mercurio è classificato dalla IARC come possibile cancerogeno solo nella forma di metilmercurio (classe 2B), sulla base di sufficiente evidenza di cancerogenicità negli animali, ma evidenza inadeguata nell'uomo. Il mercurio metallico e i suoi composti inorganici sono invece considerati non classificabili come cancerogeni (classe 3).

L'esposizione umana è prevalentemente industriale (produzione di batterie, o di strumenti a mercurio, come termometri e manometri); l'esposizione ambientale, meno rilevante dal punto di vista quantitativo, è in particolare associata all'alimentazione con organismi acquatici o all'uso di amalgami dentistici.

Il mercurio si trova in natura in tre diversi stati di ossidazione: elementare (Hg^0); mercurioso (Hg^+); mercurico (Hg^{2+}). La forma volatile è prevalentemente inorganica. Hg^0 può rimanere

stabile in forma volatile per tempi lunghi prima di essere ossidato Hg^{2+} e depositato. In condizioni di anossia, che possono verificarsi nei sedimenti di laghi o corsi d'acqua e nei fondali marini, l'azione di batteri solforiduttori può portare alla metilazione del mercurio inorganico a metilmercurio, che essendo liposolubile, è più biodisponibile e tende ad accumularsi negli organismi viventi.

Fino al 70-80% del mercurio metallico gassoso inalato viene assorbito dall'organismo, mentre quello assunto per ingestione viene assorbito meno del 10%. Il mercurio assorbito può raggiungere il cervello, inoltre passa la barriera placentare ed è escreto nel latte materno. Nell'organismo è ossidato a Hg^{2+} , che lega i gruppi sulfidrilici e si accumula nel rene, in forma sia organica che inorganica. Può essere monitorato in sangue plasma e urine. La nefrotossicità del mercurio è probabilmente associata alla capacità del metallo di legare i gruppi tiolici di NF- κ B, inibendo questa proteina e provocando ipersensibilità agli stimoli apoptotici, come il lipopolisaccaride della membrana batterica (LPS) e il "tumor necrosis factor α " (TNF- α) (27).

Il mercurio probabilmente induce ROS indirettamente, attraverso interazioni con proteine, mentre non è documentata l'interazione diretta con il DNA. Diversi effetti biologici del mercurio, come la produzione di ROS e l'induzione di apoptosi e necrosi, sembrano essere mediati dalla mobilitazione del calcio intracellulare; infatti sono attenuati da competitori del calcio, oltre che da antiossidanti. La liberazione del calcio produce ROS e attivazione di MAP-chinasi; il mercurio diminuisce il potenziale di membrana dei mitocondri (28).

Il mercurio potrebbe anche produrre radicali liberi con un meccanismo mediato dal glutatione; infatti GSH funziona da *scavenger* dei radicali liberi quando viene ossidato con una reazione a 2 elettroni, mentre l'ossidazione ad un elettrone produce un radicale GS^{\cdot} che può a sua volta produrre danno ossidativo (29). Analogamente a quanto osservato con il cadmio, è stata descritta l'inattivazione reversibile di p53, dovuta ad interazione di Hg con lo *zinc finger* (13). Come il nichel e il cadmio, può stimolare la mobilità dei retrotrasposoni L1 (22).

Arsenico

L'ingestione di arsenico con l'acqua potabile è associata con aumentato rischio di tumore in diversi organi: vescica urinaria, polmone, fegato e rene. Pur non essendo capace di generare ROS per catalisi diretta, come i metalli di transizione, si ritiene che il potenziale cancerogeno dell'arsenico sia essenzialmente associato all'induzione di stress ossidativo.

L'arsenico si trova in due stati di ossidazione: arsenato (V) e arsenito (III). La forma III risulta molto più attiva biologicamente, ed è probabile che l'arsenato debba essere convertito ad arsenito per esercitare effetto tossico. L'arsenito non risulta mutageno in sistemi batterici, ma in cellule di mammifero, dove il co-trattamento con antiossidanti ne riduce sensibilmente l'attività mutagenica (30). In diversi tipi cellulari gli effetti biologici sono attenuati da inibitori della ossido nitrico sintasi (NOS), il che suggerisce che anche i perossinitriti possano avere un ruolo nel danno ossidativo indotto da arsenico (31). Anche il danno alle membrane mitocondriali, con conseguente rilascio di ione superossido, contribuisce alla tossicità dell'arsenico; infatti la deprivazione dei mitocondri riduce lo stress ossidativo indotto da arsenico (31).

Il metabolismo dell'As inorganico avviene principalmente nel fegato attraverso diversi passaggi di metilazione e ossidazione (Figura 5), il cui prodotto finale è il dimetilarsenato, composto relativamente poco tossico; in questo processo, essenzialmente detossificante, si producono però come intermedi anche i mono e dimetilarseniti che sono responsabili di diversi effetti biologici; tra questi, la dimetilarsina, $(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$, indicata in Figura 5 come diMet-As(III), che può produrre direttamente radicale superossido reagendo con l'ossigeno molecolare.

L'arsenico è in grado di produrre danno ossidativo anche attraverso interazioni complesse con molecole proteiche; ad esempio può sovraregolare l'eme-ossigenasi epatica e renale e portare a rilascio dall'eme di ferro libero, che a sua volta può generare radicali liberi attraverso la reazione di Fenton / Haber-Weiss (32). In diversi tipi cellulari, è stato osservato che l'arsenico può indurre l'enzima NADPH-ossidasi, che catalizza la conversione di ossigeno molecolare O₂ in superossido (33).

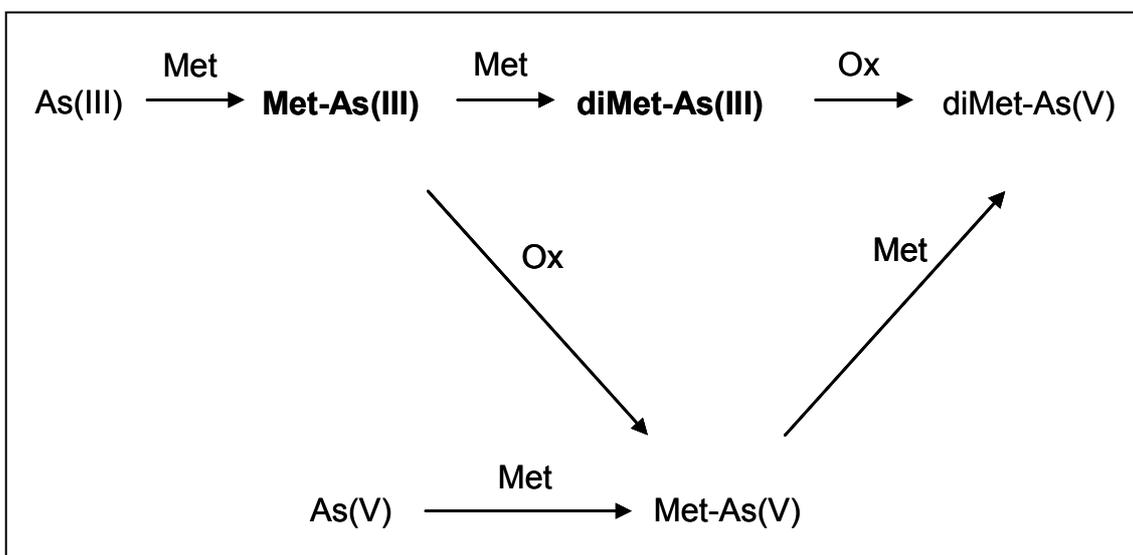


Figura 5. Schema sintetico del metabolismo epatico dell'arsenico. Met: metilazione; Ox: ossidazione. I metaboliti di maggiore rilevanza biologica sono indicati in grassetto

L'arsenico interagisce con diversi sistemi di riparazione del DNA. È in grado di inibire l'attività di alcune proteine del BER come la AP-endonucleasi, la DNA polimerasi β e le ligasi I e III; poiché non interagisce direttamente con le ligasi, presumibilmente le sottoregola modulando fattori di trascrizione o influenzando la trasduzione del segnale (34). L'arsenico interagisce con proteine dotate di *zinc finger* provocando il rilascio dell'atomo di zinco e la distruzione della struttura; questo fenomeno è stato dimostrato a carico della proteina XPA del NER(18) ed è associato ad una ridotta riparazione degli addotti da Benzo(a)Pirene in cellule polmonari umane (35). È stata anche descritta la sottoregolazione di altre proteine del NER, sia globale che associata alla trascrizione, come ERCC1, XPF e XPB (36). Il NER esercita un ruolo cruciale nella riparazione dei danni indotti da raggi ultravioletti, pertanto l'interferenza con questo sistema riparativo spiega la ridotta capacità di riparazione del danno indotto da UV in cellule in coltura trattate con As, e potrebbe contribuire all'aumentata frequenza di tumori cutanei osservata nella popolazione esposta.

L'arsenico provoca inibizione dell'attività di MGMT forse mediata dall'alterazione del pattern di metilazione del promotore genico; tale meccanismo è plausibile, considerando che il metabolismo epatico dell'arsenico comporta la metilazione dell'As inorganico ad opera di metiltrasferasi dipendenti da S-adenosilmetionina (SAM), lo stesso coenzima che funge da donatore di gruppi metilici anche per le metiltrasferasi responsabili della metilazione regolatoria del promotore (11).

Organoalogenati

Diversi composti organoalogenati sono oggi ampiamente diffusi nell'ambiente, come prodotti dell'attività industriale o derivati dell'incenerimento dei rifiuti. Si tratta di sostanze frequentemente dotate di proprietà tossiche e di elevata persistenza nell'ambiente e negli organismi viventi. In questa sede verranno descritte le proprietà tossicologiche di diossine, policlorobifenili e policlorodibenzofurani, con particolare riferimento ai presunti meccanismi di cancerogenesi.

TCDD

Il composto comunemente definito come diossina (2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-*p*-diossina o TCDD) è il congenere maggiormente studiato delle policloro-dibenzo-*para*-diossine (PCDD, Figura 6) una classe di idrocarburi aromatici alogenati, accomunati da simili effetti tossici e probabilmente dallo stesso meccanismo di azione, anche se dotati di diversi livelli di tossicità.

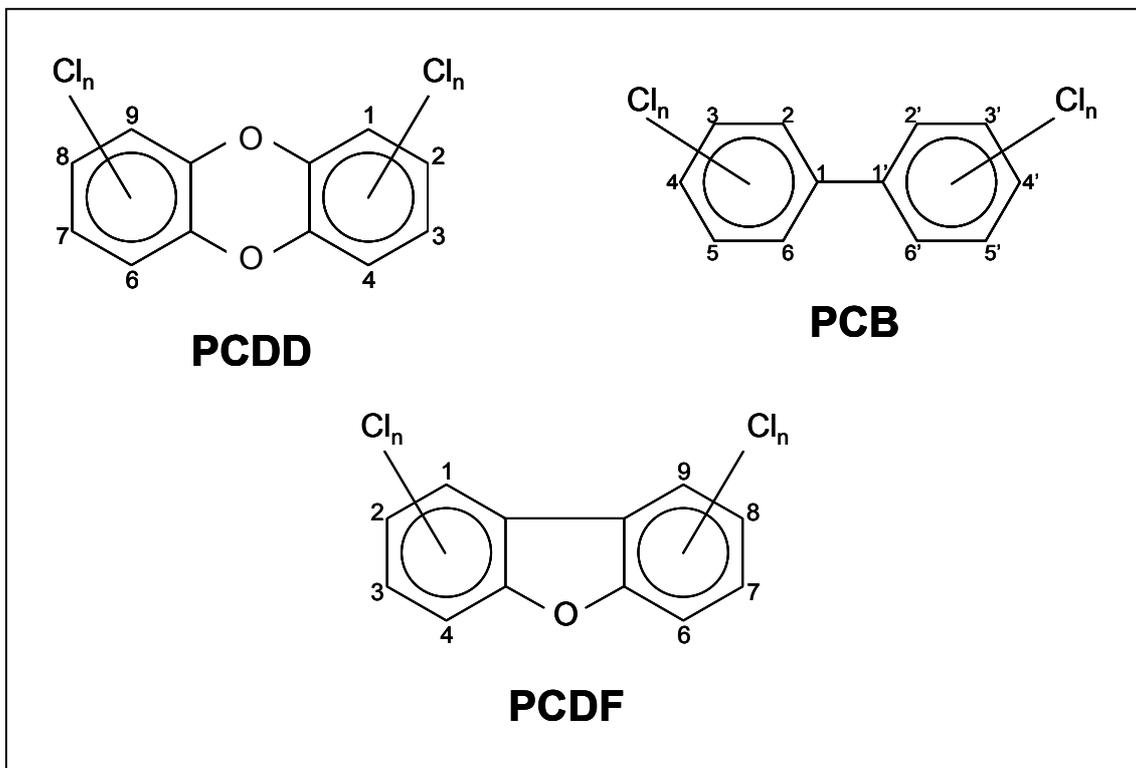


Figura 6. Formule di struttura di PCDD, PCB e PCDF con numerazione degli atomi di carbonio

Il TCDD è un cancerogeno di classe 1 secondo la IARC, sulla base di sufficiente evidenza di cancerogenesi negli animali e limitata evidenza nell'uomo. Si ritiene che le proprietà tossiche della diossina siano essenzialmente dovute all'interazione con il recettore AhR. Questo recettore è presente nel citoplasma delle cellule eucariotiche; in seguito all'attivazione da parte del ligando, AhR si distacca dal complesso proteico a cui è legato nel citoplasma, lega la proteina

Arnt (AhR *nuclear translocator*), e viene trasferito nel nucleo dove interagisce con i DRE (*dioxin responsive elements*) o XRE (*xenobiotic responsive elements*) delle regioni regolative dei geni Ah-responsivi, modulandone l'espressione.

I congeneri 2,3,7,8-sostituiti sono metabolizzati più lentamente e di conseguenza più accumulati, in particolare nel fegato e nei tessuti adiposi. Poiché solo il composto parentale interagisce con il recettore Ah, il metabolismo è in generale considerato protettivo.

L'AhR di topo ha caratteristiche simili a quello umano: sia in topo che in uomo è presente in due forme, le cui affinità per il ligando differiscono di 5 - 10 volte. In topo è stato osservato che animali che esprimono solo la forma meno affine sono corrispondentemente meno sensibili alla tossicità del TCDD; inoltre, topi "knockout" per il gene AhR risultano tolleranti agli effetti tossici della diossina (37). Queste osservazioni indicano una stretta relazione tra l'interazione del TCDD con il fattore di trascrizione AhR e gli effetti biologici della sostanza e suggeriscono che tali effetti riflettano essenzialmente alterazioni dell'espressione genica. Un ulteriore effetto indiretto dell'interazione TCDD/AhR può essere conseguenza della sottrazione per competizione di Arnt ad altre vie regolatorie; infatti Arnt funziona da "traslocatore nucleare" anche per diverse altre proteine regolatorie della famiglia bHLH/PAS (basic Helix-Loop-Helix/Per-Arnt-Sim) (38).

Numerosi sono i geni indotti da AhR-Arnt: tra questi tre isoforme del citocromo P450 (CYP 1A1, 1A2 e 1B1) ed enzimi della fase II della detossificazione, come glucuronosil trasferasi e glutatione S trasferasi. L'induzione o la stabilizzazione delle isoforme del citocromo P450, come i CYP 1A e 2B possono influire sulla cancerogenesi a diversi livelli: questi enzimi sono essenziali per l'attivazione metabolica di molti pre-cancerogeni, come gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e infatti la cancerogenicità degli IPA è fortemente ridotta in topi privi di gene AhR (39); inoltre, la sovraregolazione delle ossidasi a funzione mista può causare direttamente la produzione di ROS (40).

Il TCDD modula il metabolismo ossidativo degli estrogeni, con varie conseguenze biologiche, tra cui la formazione indiretta di ROS. Nei ratti è stato osservato che la lesione ossidativa 8-oxo-guanina indotta da trattamento con TCDD, parallelamente all'effetto epatocancerogeno della sostanza, risulta più elevata che nei maschi e nelle femmine ovariectomizzate (41). La ragione del fenomeno è attribuita all'induzione da parte di TCDD del citocromo CYP1B1, che è responsabile, tra l'altro, del metabolismo ossidativo del 17 β -estradiolo con formazione di catecoli (2- e 4- idrossi estradiolo); questi sarebbero ulteriormente ossidati a chinoni, capaci a loro volta di dare luogo a cicli ossidoriduttivi con produzione di radicali liberi (42), (43).

Diverse evidenze sperimentali suggeriscono che una parte preminente del potenziale cancerogeno del TCDD sia dovuta alla sua attività di promotore. In epatociti primari di ratto TCDD inibisce l'apoptosi indotta da UV, attenuando l'induzione di p53, mentre l'apoptosi spontanea resta inalterata. In queste cellule p53 viene iperfosforilata con una relazione dose risposta che rispecchia quella dell'induzione di CYP1A1, il che suggerisce che l'iperfosforilazione di p53 sia associata all'attivazione di AhR (44). L'esposizione di cheratinociti umani a TCDD in vitro causa la sottoregolazione dei livelli di espressione di importanti oncosoppressori, come p53, p16INK4a e p14ARF (45). Un ruolo di TCDD come promotore tumorale spiegherebbe anche l'osservazione, frequente negli studi epidemiologici, di prevalenze di tumori diversi in diverse coorti (46); la sostanza promuoverebbe la progressione di diverse forme tumorali dipendentemente dalla concomitanza con diversi cancerogeni genotossici "iniziatori".

Recentemente è stato individuato un ulteriore fenomeno indotto da TCDD che potrebbe avere un ruolo nella cancerogenesi: la sostanza ha la capacità di promuovere l'espansione clonale di linfociti portatori della traslocazione t(14;18) (47). Questa traslocazione pone

l'oncogene Bcl2 sotto il controllo del forte promotore di IgH (la catena pesante delle immunoglobuline) causandone la sovraespressione. La traslocazione t(14;18) è associata con il linfoma non Hodgkin, uno dei tumori osservati nella popolazione esposta a diossina in studi epidemiologici. È stato osservato che in individui sani esposti a diossina la frazione di linfociti circolanti con traslocazione t(14;18) aumenta in modo dose dipendente; non aumenta invece la percentuale degli individui in cui è presente la traslocazione. Questo risultato indica che la diossina non induce la traslocazione, ma influisce in modo selettivo sulla proliferazione dei linfociti che la portano, forse modulando il gene IgH. Questo modello appare plausibile, poiché è stato dimostrato che TCDD influenza la risposta immunitaria (sia anticorpale che cellulo-mediata) (48).

PCB

I policlorobifenili sono una vasta famiglia di organoclorurati; le caratteristiche tossicologiche dei diversi congeneri dipendono in larga misura dalla struttura della singola sostanza, ma presentano elementi comuni. Nel loro complesso sono classificati come probabili cancerogeni (classe 2A secondo la IARC), con limitata evidenza di effetto cancerogeno sull'uomo. Questa classificazione è essenzialmente dovuta alla bassa numerosità dei campioni studiati, per cui non è possibile stabilire una relazione dose-risposta né escludere in modo categorico fattori confondenti, anche se gli studi disponibili suggeriscono un'associazione tra cancro ed esposizione a PCB (49).

La produzione di ROS sembra essere un tratto comune a tutti i congeneri, anche se l'entità del fenomeno e i meccanismi responsabili sono diversi. In uno studio comparativo condotto su cellule di tumore mammario umano, PCB sia con struttura planare che non planare si sono dimostrati capaci di indurre ROS in maniera tempo- e dose-dipendente. Si è anche osservata deplezione di NAD(P)H abrogata da inibitori della proteina PARP: poiché PARP (importante mediatore di meccanismi riparativi) è attivata con consumo di NAD(P)H in seguito a formazione di rotture del DNA, questa osservazione costituisce un'evidenza indiretta della induzione di queste rotture da parte dei PCB (50). L'effetto citotossico dei PCB è attenuato da antiossidanti, da chelanti del ferro e del rame, e da inibitori del CYP1A/2B.

L'attività biologica dei PCB è fortemente influenzata dalla loro struttura. In generale i congeneri che non presentano sostituzioni nelle posizioni *orto* (2, 6, 2' e 6') presentano una struttura planare; questi composti tendenzialmente sono capaci di legare AhR e pertanto sono definiti diossina-simili. I PCB planari producono ROS essenzialmente tramite l'interazione con il recettore AhR, con induzione di CYP1A1. I PCB non-planari causano danno alle membrane e frammentazione cellulare; inoltre sono associati all'induzione di CYP2B. Come già discusso nel caso della diossina, l'induzione dei CYP è un potenziale fattore di cancerogenesi, sia perché favorisce l'attivazione di pre-cancerogeni sia in quanto può portare direttamente alla formazione di ROS.

Alcuni PCB possono produrre anche danno diretto sul DNA. Il metabolismo ossidativo, dipendente da citocromo P450 (osservato sperimentalmente con frazioni microsomiali di ratto, topo e di fegato umano), produce, innanzi tutto, ossidi di arene, molto reattivi, che possono poi riarrangiarsi spontaneamente a composti fenolici o subire ulteriori reazioni di fase I o fase II. Gli ossidi di arene sono composti elettrofili, in grado di reagire con diversi siti nucleofili di proteine, RNA e DNA e formare addotti; ma anche catecoli e *p*-idrochinoni, ossidati a semichinoni e chinoni, possono dare queste reazioni (51). I congeneri mono- di- e tri- clorurati sono maggiormente metabolizzati e sono quelli più probabilmente coinvolti nella formazione di addotti al DNA *in vivo* (52), (53).

In generale, per i congeneri diossina-simili, capaci di legare AhR, è possibile prevedere meccanismi di cancerogenesi analoghi a quelli descritti per la diossina e in particolare analoghe potenzialità di agire come promotori tumorali. I congeneri non-planari possono ugualmente fungere da promotori, ma con meccanismi diversi; nel caso del PCB 153 (2,2',4,4',5,5', esaclorobifenile) è stata dimostrata la capacità di indurre in topo l'espansione clonale di cellule epatiche mutate nella β -catenina, analogamente al noto promotore Fenobarbital (54).

Alcuni congeneri possono favorire la metastatizzazione aumentando la permeabilità endoteliale e favorendo in questo modo la trasmigrazione di cellule di tumore mammario attraverso l'endotelio: il fenomeno è mediato dalla induzione del fattore VEGF (55).

PCDF

I policloro dibenzofurani (PCDF) sono sottoprodotti della produzione di PCB e di clorofenoli e sono presenti come contaminanti in questi prodotti. Insieme alle diossine, possono avere origine dall'incenerimento di rifiuti, dalla lavorazione dei metalli e dal processo di sbiancamento della pasta di legno nell'industria della carta o come residui nella produzione di cloruro di vinile. Come le diossine, sono composti persistenti e si accumulano nel grasso animale, quindi l'esposizione umana è primariamente alimentare (carne, pesce, uova, latte e derivati), ma anche l'esposizione occupazionale o accidentale devono essere tenute in considerazione.

I PCDF sono considerati dalla IARC non classificabili come cancerogeni per l'uomo (classe 3) (56).

Come le diossine, i PCDF legano il recettore AhR e la loro tossicità relativa è associata con questa capacità di legame. Si ritiene che i principali effetti tossici dei PCDF siano analoghi a quelli delle diossine ed effettivamente gli esperimenti su modelli animali mostrano pattern di tossicità analoghi, ma in generale quantitativamente inferiori.

Nell'organismo vanno incontro a metabolismo ossidativo, con conseguente perdita di affinità con AhR. L'ossidazione più frequente da parte dei citocromi P450 ha luogo sugli atomi di carbonio 4 e 6, quindi i congeneri con atomi di cloro in queste posizioni vengono metabolizzati ed escreti meno facilmente degli altri.

Mancano studi di cancerogenesi a lungo termine, ma alcuni congeneri si sono dimostrati in grado di aumentare l'insorgenza di tumori e di lesioni pre-cancerose in roditori trattati con cancerogeni genotossici, anche se questa attività di promozione tumorale è molto meno intensa di quella delle diossine (57, 58).

Considerazioni conclusive

Con il presente contributo si è inteso fornire alcuni esempi di come la relazione tra contaminazione ambientale e cancerogenesi sia caratterizzata da un notevole livello di complessità, dovuta non solo alla molteplicità degli agenti di potenziale rilevanza sanitaria a cui la popolazione è esposta, ma anche alla possibilità di additività e sinergia tra gli effetti di ogni singolo contaminante.

Dal quadro descritto emerge che lo studio dell'impatto sulla salute umana di esposizioni ambientali complesse, come quelle riscontrabili in siti inquinati, può vedere notevolmente aumentato il suo valore descrittivo e predittivo se comprende la valutazione dei meccanismi biochimici di azione dei contaminanti di interesse e le possibili interazioni tra questi

meccanismi, attraverso un approccio multidisciplinare in tutte le fasi dello studio, dal disegno all'interpretazione dei dati raccolti.

Se l'utilizzo di biomarcatori di esposizione svolge un ruolo fondamentale, la complessità dell'oggetto di studio suggerisce cautela nella valutazione di indicatori presi singolarmente, e mostra l'opportunità dell'utilizzo di più marcatori e dell'integrazione dei dati per una loro corretta interpretazione. In questo quadro, rivestono un particolare interesse gli indicatori di effetto biologico precoce, che possono riflettere l'effetto combinato di più fattori, in particolare i marcatori citogenetici e mutazionali. Inoltre l'analisi dei profili di espressione genica, già utilizzati con interessanti risultati nello studio di esposizioni complesse di elevata entità (come nel caso dei fumatori) (59), seppure attualmente in una fase di validazione, devono essere considerati come una interessante prospettiva (60).

Bibliografia

1. Zhitkovich A. Importance of chromium-DNA adducts in mutagenicity and toxicity of chromium(VI). *Chem Res Toxicol* 2005;18(1):3-11.
2. Schnekenburger M, Talaska G, Puga A. Chromium cross-links histone deacetylase 1-DNA methyltransferase 1 complexes to chromatin, inhibiting histone-remodeling marks critical for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 2007;27(20):7089-101.
3. Reynolds M, Peterson E, Quievryn G, Zhitkovich A. Human nucleotide excision repair efficiently removes chromium-DNA phosphate adducts and protects cells against chromate toxicity. *J Biol Chem* 2004;279(29):30419-24.
4. Hodges NJ, Chipman JK. Down-regulation of the DNA-repair endonuclease 8-oxo-guanine DNA glycosylase 1 (hOGG1) by sodium dichromate in cultured human A549 lung carcinoma cells. *Carcinogenesis* 2002;23(1):55-60.
5. NTP *Technical Report on the Toxicology and carcinogenesis studies of sodium dichromate dihydrate (CAS no. 7789-12-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies)*. National Toxicology Program 2007;NIH Publication No. 07-5887(NTP TR 546 - Draft report (May 2007)).
6. Casalino E, Sblano C, Landriscina C. Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: the possibility of iron involvement in lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 1997;346(2):171-9.
7. Casalino E, Calzaretto G, Sblano C, Landriscina C. Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium. *Toxicology* 2002;179(1-2):37-50.
8. Hossain Z, Huq F. Studies on the interaction between Cd(2+) ions and DNA. *J Inorg Biochem* 2002;90(3-4):85-96.
9. Jin YH, Clark AB, Slebos RJ, Al-Refai H, Taylor JA, Kunkel TA, *et al.* Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair. *Nat Genet* 2003;34(3):326-9.
10. Banerjee S, Flores-Rozas H. Cadmium inhibits mismatch repair by blocking the ATPase activity of the MSH2-MSH6 complex. *Nucleic Acids Res* 2005;33(4):1410-9.
11. Durham TR, Snow ET. Metal ions and carcinogenesis. *Exs* 2006(96):97-130.
12. Hartwig A, Schlepegrell R, Dally H, Hartmann M. Interaction of carcinogenic metal compounds with deoxyribonucleic acid repair processes. *Ann Clin Lab Sci* 1996;26(1):31-8.
13. Hainaut P, Milner J. A structural role for metal ions in the "wild-type" conformation of the tumor suppressor protein p53. *Cancer Res* 1993;53(8):1739-42.

14. Zharkov DO, Rosenquist TA. Inactivation of mammalian 8-oxoguanine-DNA glycosylase by cadmium(II): implications for cadmium genotoxicity. *DNA Repair (Amst)* 2002;1(8):661-70.
15. McNeill DR, Narayana A, Wong HK, Wilson DM, 3rd. Inhibition of Ape1 nuclease activity by lead, iron, and cadmium. *Environ Health Perspect* 2004;112(7):799-804.
16. Scicchitano DA, Pegg AE. Inhibition of O6-alkylguanine-DNA-alkyltransferase by metals. *Mutat Res* 1987;192(3):207-10.
17. Kale SP, Carmichael MC, Harris K, Roy-Engel AM. The L1 retrotranspositional stimulation by particulate and soluble cadmium exposure is independent of the generation of DNA breaks. *Int J Environ Res Public Health* 2006;3(2):121-8.
18. Witkiewicz-Kucharczyk A, Bal W. Damage of zinc fingers in DNA repair proteins, a novel molecular mechanism in carcinogenesis. *Toxicol Lett* 2006;162(1):29-42.
19. Bal W, Schwerdtle T, Hartwig A. Mechanism of nickel assault on the zinc finger of DNA repair protein XPA. *Chem Res Toxicol* 2003;16(2):242-8.
20. Hu W, Feng Z, Tang MS. Nickel (II) enhances benzo[a]pyrene diol epoxide-induced mutagenesis through inhibition of nucleotide excision repair in human cells: a possible mechanism for nickel (II)-induced carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2004;25(3):455-62.
21. Costa M, Sutherland JE, Peng W, Salnikow K, Broday L, Kluz T. Molecular biology of nickel carcinogenesis. *Mol Cell Biochem* 2001;222(1-2):205-11.
22. Kale SP, Moore L, Deininger PL, Roy-Engel AM. Heavy metals stimulate human LINE-1 retrotransposition. *Int J Environ Res Public Health* 2005;2(1):14-23.
23. Hermes-Lima M, Pereira B, Bechara EJ. Are free radicals involved in lead poisoning? *Xenobiotica* 1991;21(8):1085-90.
24. Quintanilla-Vega B, Hoover DJ, Bal W, Silbergeld EK, Waalkes MP, Anderson LD. Lead interaction with human protamine (HP2) as a mechanism of male reproductive toxicity. *Chem Res Toxicol* 2000;13(7):594-600.
25. Wedrychowski A, Schmidt WN, Hnilica LS. The in vivo cross-linking of proteins and DNA by heavy metals. *J Biol Chem* 1986;261(7):3370-6.
26. Roy NK, Rossman TG. Mutagenesis and comutagenesis by lead compounds. *Mutat Res* 1992;298(2):97-103.
27. Woods JS, Dieguez-Acuna FJ, Ellis ME, Kushleika J, Simmonds PL. Attenuation of nuclear factor kappa B (NF-kappaB) promotes apoptosis of kidney epithelial cells: a potential mechanism of mercury-induced nephrotoxicity. *Environ Health Perspect* 2002;110 Suppl 5:819-22.
28. Kim SH, Sharma RP. Mercury-induced apoptosis and necrosis in murine macrophages: role of calcium-induced reactive oxygen species and p38 mitogen-activated protein kinase signaling. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;196(1):47-57.
29. Schurz F, Sabater-Vilar M, Fink-Gremmels J. Mutagenicity of mercury chloride and mechanisms of cellular defence: the role of metal-binding proteins. *Mutagenesis* 2000;15(6):525-30.
30. Hei TK, Liu SX, Waldren C. Mutagenicity of arsenic in mammalian cells: role of reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(14):8103-7.
31. Liu SX, Davidson MM, Tang X, Walker WF, Athar M, Ivanov V, et al. Mitochondrial damage mediates genotoxicity of arsenic in mammalian cells. *Cancer Res* 2005;65(8):3236-42.
32. Keyse SM, Tyrrell RM. Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86(1):99-103.

33. Chou WC, Jie C, Kenedy AA, Jones RJ, Trush MA, Dang CV. Role of NADPH oxidase in arsenic-induced reactive oxygen species formation and cytotoxicity in myeloid leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(13):4578-83.
34. Hu Y, Su L, Snow ET. Arsenic toxicity is enzyme specific and its effects on ligation are not caused by the direct inhibition of DNA repair enzymes. *Mutat Res* 1998;408(3):203-18.
35. Schwerdtle T, Walter I, Hartwig A. Arsenite and its biomethylated metabolites interfere with the formation and repair of stable BPDE-induced DNA adducts in human cells and impair XPAzf and Fpg. *DNA Repair (Amst)* 2003;2(12):1449-63.
36. Hartwig A, Groblinghoff UD, Beyersmann D, Natarajan AT, Filon R, Mullenders LH. Interaction of arsenic(III) with nucleotide excision repair in UV-irradiated human fibroblasts. *Carcinogenesis* 1997;18(2):399-405.
37. Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM, Gonzalez FJ. Aryl-hydrocarbon receptor-deficient mice are resistant to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996;140(1):173-9.
38. Bock KW, Kohle C. Ah receptor: dioxin-mediated toxic responses as hints to deregulated physiologic functions. *Biochem Pharmacol* 2006;72(4):393-404.
39. Nakatsuru Y, Wakabayashi K, Fujii-Kuriyama Y, Ishikawa T, Kusama K, Ide F. Dibenzo[A,L]pyrene-induced genotoxic and carcinogenic responses are dramatically suppressed in aryl hydrocarbon receptor-deficient mice. *Int J Cancer* 2004;112(2):179-83.
40. Nebert DW, Roe AL, Dieter MZ, Solis WA, Yang Y, Dalton TP. Role of the aromatic hydrocarbon receptor and [Ah] gene battery in the oxidative stress response, cell cycle control, and apoptosis. *Biochem Pharmacol* 2000;59(1):65-85.
41. Tritscher AM, Seacat AM, Yager JD, Groopman JD, Miller BD, Bell D, *et al.* Increased oxidative DNA damage in livers of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin treated intact but not ovariectomized rats. *Cancer Lett* 1996;98(2):219-25.
42. Liehr JG, Roy D. Free radical generation by redox cycling of estrogens. *Free Radic Biol Med* 1990;8(4):415-23.
43. Wyde ME, Wong VA, Kim AH, Lucier GW, Walker NJ. Induction of hepatic 8-oxo-deoxyguanosine adducts by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in Sprague-Dawley rats is female-specific and estrogen-dependent. *Chem Res Toxicol* 2001;14(7):849-55.
44. Schrenk D, Schmitz HJ, Bohnenberger S, Wagner B, Worner W. Tumor promoters as inhibitors of apoptosis in rat hepatocytes. *Toxicol Lett* 2004;149(1-3):43-50.
45. Ray SS, Swanson HI. Alteration of keratinocyte differentiation and senescence by the tumor promoter dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;192(2):131-45.
46. Polychlorinated dibenzo-para-dioxins. *IARC Summaries & Evaluation* 1997;69.
47. Baccarelli A, Hirt C, Pesatori AC, Consonni D, Patterson DG, Jr., Bertazzi PA, *et al.* t(14;18) translocations in lymphocytes of healthy dioxin-exposed individuals from Seveso, Italy. *Carcinogenesis* 2006;27(10):2001-7.
48. Baccarelli A, Mocarelli P, Patterson DG, Jr., Bonzini M, Pesatori AC, Caporaso N, *et al.* Immunologic effects of dioxin: new results from Seveso and comparison with other studies. *Environ Health Perspect* 2002;110(12):1169-73.
49. Polychlorinated biphenyls. *IARC Summaries & Evaluation* 1987;Supplement 7.
50. Lin CH, Lin PH. Induction of ROS formation, poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation, and cell death by PCB126 and PCB153 in human T47D and MDA-MB-231 breast cancer cells. *Chem Biol Interact* 2006;162(2):181-94.

51. McLean MR, Bauer U, Amaro AR, Robertson LW. Identification of catechol and hydroquinone metabolites of 4-monochlorobiphenyl. *Chem Res Toxicol* 1996;9(1):158-64.
52. Pereg D, Robertson LW, Gupta RC. DNA adduction by polychlorinated biphenyls: adducts derived from hepatic microsomal activation and from synthetic metabolites. *Chem Biol Interact* 2002;139(2):129-44.
53. Borlak J, Hock A, Hansen T, Richter E. DNA adducts in cultures of polychlorinated biphenyl-treated human hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;188(2):81-91.
54. Strathmann J, Schwarz M, Tharappel JC, Glauert HP, Spear BT, Robertson LW, *et al.* PCB 153, a non-dioxin-like tumor promoter, selects for beta-catenin (Catnb)-mutated mouse liver tumors. *Toxicol Sci* 2006;93(1):34-40.
55. Eum SY, Lee YW, Hennig B, Toborek M. VEGF regulates PCB 104-mediated stimulation of permeability and transmigration of breast cancer cells in human microvascular endothelial cells. *Exp Cell Res* 2004;296(2):231-44.
56. Polychlorinated dibenzofurans. *IARC Summary & Evaluation* 1997;Vol. 69.
57. Waern F, Flodstrom S, Busk L, Kronevi T, Nordgren I, Ahlborg UG. Relative liver tumour promoting activity and toxicity of some polychlorinated dibenzo-p-dioxin- and dibenzofuran-congeners in female Sprague-Dawley rats. *Pharmacol Toxicol* 1991;69(6):450-8.
58. Hebert CD, Harris MW, Elwell MR, Birnbaum LS. Relative toxicity and tumor-promoting ability of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PCDF), and 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran (HCDF) in hairless mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990;102(2):362-77.
59. Lampe JW, Stepaniants SB, Mao M, Radich JP, Dai H, Linsley PS, *et al.* Signatures of environmental exposures using peripheral leukocyte gene expression: tobacco smoke. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(3):445-53.
60. Wild CP. Complementing the genome with an "exposome": the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(8):1847-50.

MONITORAGGIO BIOLOGICO DEI METALLI PESANTI

Nicola Violante, Francesco Petrucci, Sergio Costantini, Maria Ciprotti, Sonia D'Ilio, Oreste Senofonte
Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

L'incremento delle attività antropiche, specialmente negli ultimi decenni, suscita negli Organismi Pubblici preposti alla tutela della salute ambientale e della popolazione, un sempre maggiore interesse nella valutazione del loro impatto al fine di intraprendere eventuali azioni correttive. L'immissione di sostanze chimiche inquinanti nei vari comparti ambientali ha reso necessaria una evoluzione progressiva delle strategie di controllo e di intervento. Questa necessità si manifesta soprattutto quando si studiano sistemi complessi che necessitano di risorse tecnico-scientifiche tali da poter evidenziare tutti gli aspetti relativi alla contaminazione (trasporto, diffusione e destino ambientale) di un dato ecosistema.

L'Agenzia Europea per l'Ambiente (EEA) definisce come inquinanti tutte quelle sostanze che immesse direttamente o indirettamente nell'ambiente, producono effetti nocivi su di esso e sulla salute degli esseri viventi.

Sebbene oggi, spesso l'attenzione dei ricercatori e dei tecnici dell'ambiente, sia soprattutto concentrata sugli inquinanti organici (diossine, PCB, pesticidi, ecc.) anche a livello di traccia, storicamente sono stati gli inquinanti inorganici, tuttora rilevati dalle centraline per il controllo dell'inquinamento urbano, i primi ad essere studiati come CO, NO_x, SO₂. Tra le sostanze inquinanti inorganiche possiamo annoverare certamente i metalli pesanti che sono sostanze con cui conviviamo quotidianamente ma che possono sviluppare la loro azione tossica se penetrano nell'organismo in dosi superiori a quelle tollerabili.

Il monitoraggio biologico o biomonitoraggio valuta l'entità dell'esposizione a tali sostanze attraverso alcuni marcatori biologici. Infatti, le sostanze pericolose presenti nell'aria e in altri comparti ambientali entrano nell'organismo umano attraverso varie vie quali quelle inalatorie, cutanee e alimentari. Passate nel circolo sanguigno esse raggiungono i vari comparti del corpo dove esplicano i loro effetti dannosi la cui entità è funzione della concentrazione e della loro tossicità intrinseca.

La determinazione di tali inquinanti nel sangue, nel siero, nelle urine o nei tessuti di deposito per esposizioni prolungate, come i capelli, è un'utile informazione per la valutazione dei possibili effetti negativi sulla salute della popolazione. I settori di applicazione del monitoraggio biologico sono molteplici e vanno dalla valutazione dell'esposizione nei siti confinati (la Legge 626/1994 fa obbligo l'utilizzo di tali procedure per valutare l'esposizione ad agenti chimici presenti sul posto di lavoro) alle indagini clinico-diagnostiche (1-14). Le sostanze inquinanti e/o i relativi metaboliti sono considerati "indicatori biologici di esposizione" (BEI) (15).

L'importanza dei BEI è stata evidenziata dalla legislazione in vigore introducendo l'obbligo del monitoraggio biologico per i lavoratori per i quali è stato fissato un valore limite. L'*American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) che ha introdotto i BEI (IBE) li aggiorna ogni anno, così come avviene per i Valori Limite di Esposizione Professionale per gli agenti chimici (*Threshold Limit Values*, TLV) (16). Per molti TLVs sono stati individuati anche i corrispondenti BEI e il loro "valore limite biologico" (17).

Livelli di inquinanti al di sotto delle concentrazioni corrispondenti ai BEI non dovrebbero causare effetti negativi sulla salute, pur se essi non possono essere considerati confine netto fra esposizione pericolosa e non. L'uso dei BEI non sono previsti in settori diversi da quello lavorativo.

Nonostante il monitoraggio biologico, rispetto al quello ambientale, sia un approccio di recente applicazione, negli ultimi anni si è riscontrata una notevole diffusione di studi su questo argomento attraverso l'analisi di sostanze inquinanti nei fluidi biologici classici come sangue, siero e urina e su fluidi e tessuti alternativi come saliva, capelli, unghie, ecc.

In generale, il biomonitoraggio deve essere inserito in un quadro globale di prevenzione e controllo delle patologie correlate all'esposizione a sostanze pericolose e in questo contesto i metalli pesanti sono da considerarsi agenti ad elevata tossicità. Quando non è possibile prevenire l'esposizione si devono mettere in atto strategie appropriate quantomeno per limitarla in modo da ridurre al minimo gli effetti dannosi per la salute.

Laddove il monitoraggio ambientale può rivelare la presenza di sostanze nocive nei vari comparti (aria, acqua, suolo) prima di una significativa esposizione, quello biologico rileva, invece, l'assunzione effettiva riscontrabile dopo l'esposizione. Di per se' il monitoraggio biologico fornisce un dato più affidabile di rischio sulla salute, poiché è una misura dell'assorbimento totale che è avvenuto attraverso la pelle, l'inalazione e l'ingestione di sostanze inquinanti, tenendo conto di alcuni parametri individuali che influenzano tale assorbimento quali: abitudini igieniche, età, sesso, stato di salute, tipologia dell'attività lavorative, carichi di lavoro, ecc.

Monitoraggio biologico dei metalli pesanti

Per metalli pesanti si intendono tutti quegli elementi chimici che hanno una densità relativamente alta e risultano tossici anche a basse concentrazioni per gli organismi viventi. Tra essi quelli più conosciuti sono l'arsenico, il cadmio, il cromo, il mercurio, il piombo e il tallio. Oltre a quelli citati, altri elementi quali rame, selenio e zinco, già presenti nell'organismo come componenti fondamentali di molti enzimi coinvolti nel metabolismo, possono risultare tossici ad alte concentrazioni.

Tali elementi sono naturalmente presenti nell'ecosistema, quali componenti della crosta terrestre, e la loro mobilitazione, determinata dalle attività umane, ne causa l'accumulo nella biosfera facendoli entrare, in piccola misura, nel nostro organismo attraverso gli alimenti, l'acqua ed l'aria.

I metalli pesanti non possono essere degradati o distrutti e quindi tendono a bioaccumularsi, cioè la loro concentrazione in un organismo vivente tende ad aumentare in funzione della loro persistenza nell'ambiente. È necessario considerare che la velocità di accumulo da parte degli organismi viventi è più veloce della loro metabolizzazione o eliminazione. Essi possono causare danni ai reni, al sistema nervoso e al sistema immunitario, in certi casi avere effetti cancerogeni e teratogeni.

Varie attività antropiche possono causare la movimentazione nell'ambiente dei metalli e di conseguenza portare alla contaminazione dell'aria, delle acque e del suolo. Fenomeni come le piogge acide riescono a mobilizzare i metalli dal terreno alle falde freatiche, ai fiumi, ai laghi e al mare. La conseguenza finale di quanto detto è l'ingresso di tali inquinanti nella catena alimentare con gravi danni per gli organismi viventi e per l'uomo.

Nella Figura 1 si possono vedere quali sono le strade che possono seguire i metalli dalla contaminazione ambientale sino all'uomo.

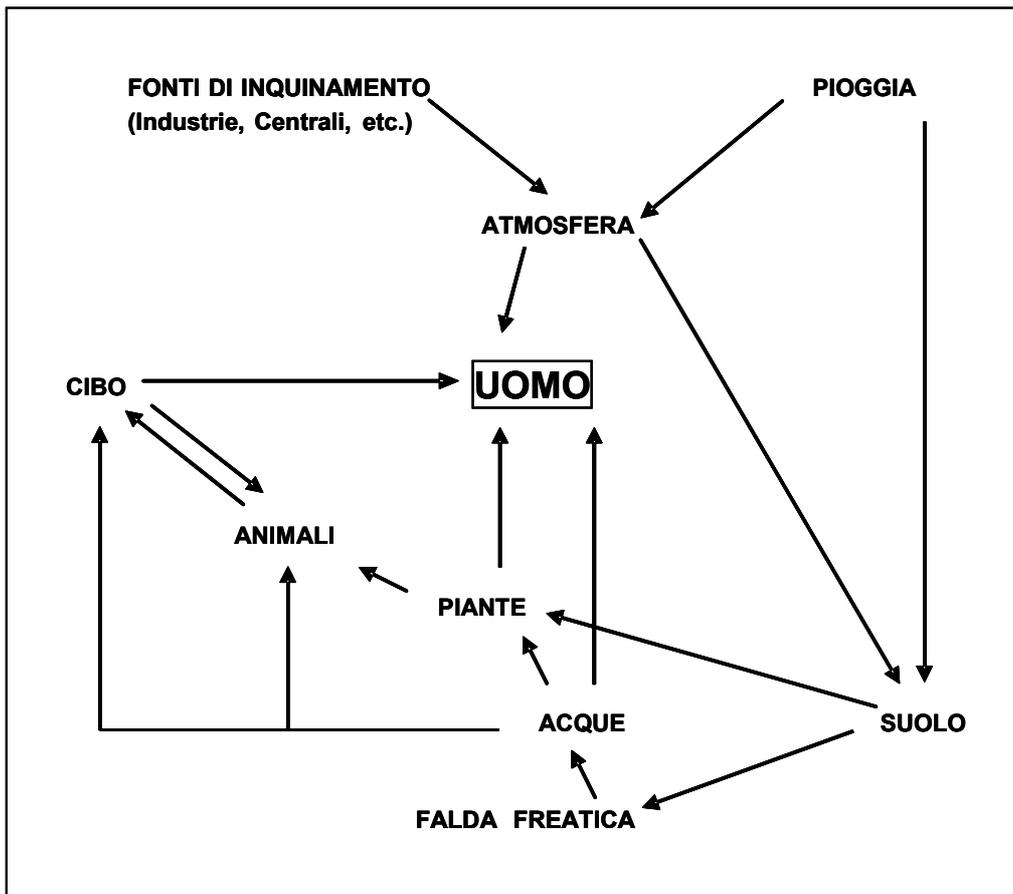


Figura 1. Schema di veicolazione dei metalli pesanti

Poiché le concentrazioni dei metalli pesanti nei fluidi biologici è da considerarsi bassa, a livello di tracce ($\mu\text{g g}^{-1}$) o ultratracce (ng g^{-1}), è richiesta estrema cura nella manipolazione del campione raccolto al fine di evitare la contaminazione da parte di fonti esterne con conseguenti risultati erronei. Altri fattori che possono influenzare l'interpretazione del dato sono: il tipo di dieta, i fattori geografici e la variabilità dell'esposizione.

Raccolta dei campioni

Strategie particolari di campionamento devono essere adottate per il monitoraggio biologico a causa della diversa incidenza di alcuni fattori tra cui: la velocità di assorbimento nel corpo, l'emivita della sostanza in oggetto, la distribuzione nei vari tessuti, il metabolismo e l'escrezione. Ad esempio, se il rilevamento nei vari fluidi di sostanze con emivita breve è indice di esposizione recente, la presenza di sostanze con emivita lunga, invece, è un indice di esposizione prolungata.

La raccolta dei campioni richiede accuratezza e attenzione poiché se essi non sono rappresentativi o non correttamente prelevati e conservati, i risultati analitici possono essere fuorvianti.

L'attuazione di protocolli analitici dove la pianificazione delle procedure di campionamento, trattamento e analisi di campioni biologici garantisce la validità dei risultati ottenuti. Appare evidente che la riduzione degli errori sia sistematici che casuali aumenta l'accuratezza del dato analitico. Nella pianificazione di un campionamento bisogna considerare che: a) la possibilità di errore è tanto maggiore quanto minori sono le concentrazioni da determinare; b) minore è la manipolazione dei campioni prima dell'analisi tanto più bassa è la possibilità di errore, c) più lungo è il periodo di conservazione e maggiore è il rischio di diminuire l'accuratezza delle determinazioni finali. Una procedura completa per condurre un monitoraggio biologico è costituita dalle seguenti fasi:

- campionamento;
- trasporto e conservazione;
- trattamento;
- analisi;
- elaborazione dei dati e valutazione.

All'inizio di ogni campionamento per ogni soggetto deve essere riempito un questionario il cui scopo è quello di fornire dati relativi all'attività svolta sul posto di lavoro, allo stato generale di salute, alle abitudini alimentari, all'eventuale uso di medicinali, alcool, caffè e tabacco, alle attività sportive praticate e, ad ogni tipo di trattamento cosmetico. Queste informazioni sono di estrema importanza al momento della valutazione dei risultati perché consentono di tenere sotto controllo le eventuali interferenze sulle concentrazioni riscontrabili che ovviamente debbono essere rappresentative della sola esposizione.

Criteri da seguire nelle operazioni di campionamento

L'importanza che il campionamento venga effettuato seguendo accurate procedure sulla base di protocolli sperimentali risulta evidente per l'ottenimento di risultati attendibili. I fattori che influenzano questa fase sono: l'*ambiente* in cui si effettua il prelievo, il soggetto che effettua il prelievo e il materiale utilizzato.

La pulizia dell'ambiente influenza fortemente l'accuratezza del prelievo perché può portare alla contaminazione dei campioni con pesanti riflessi sui risultati delle analisi

Il soggetto che effettua il campionamento deve utilizzare tutti gli accorgimenti che impediscano la contaminazione esterna al campione. Egli deve utilizzare guanti in PVC o lattice (senza talco o polveri varie), camici puliti e quanto necessario per creare una barriera tra se e i campioni. Ciò si rende necessario perché capelli, cute e abiti sono fonti di contaminazione da metalli, a causa della polvere, del sudore e dell'uso di prodotti cosmetici e per l'igiene personale (18, 19). La concentrazione di Cr e Ni nel sudore, possono risultare 10 e 20 volte superiori ai livelli normali del riscontrabili nel siero.

Gli strumenti per il campionamento devono rispondere alla necessità che non rilascino metalli come Cr, Mn, Ni e V, quindi bisturi, forbici, aghi, ecc. dovrebbero essere ricoperti di particolari materiali come il nitrato di titanio o carburo di tungsteno (20,21). I materiali più idonei per i prelievi dei fluidi biologici risultano essere gli *aghi* in platino o sue leghe o agocannule, i classici aghi di acciaio non sono indicati in quanto potrebbero cedere elementi come Cd, Co, Mn, Cr, Ni, Pb e V. Indagini hanno evidenziato che in prelievi di sangue con aghi in acciaio il contenuto di Cr può risultare uno o due ordini di grandezza superiore ai valori

normali riscontrabili in questo fluido biologico. È di fondamentale importanza che l'esecuzione di tali procedure sia affidata a personale altamente addestrato.

In caso di impossibilità a reperire utensili sicuri per il prelievo, per ridurre le probabilità di contaminazione al momento del prelievo, è opportuno scartare o destinare ad altri tipi di analisi il volume iniziale di sangue raccolto ($5 \div 10$ mL) al fine di "lavare" gli utensili da eventuali impurezze presenti (21, 22). I contenitori per la raccolta del sangue non devono contenere anticoagulanti (eparina, ecc.) che potrebbero contaminare il campione con i metalli in essi contenuti (Ba, Ca, Mn, Zn, ecc.). Per le analisi sul siero è consigliabile lasciar riposare il sangue prelevato in frigo per il tempo necessario alla coagulazione. Ad avvenuta separazione il siero risultante può essere trasferito in altro contenitore. L'uso eventuale del processo di centrifugazione può essere un metodo per accelerare il processo di sieraggio. I campioni di siero che presentano visivamente tracce di emolisi vanno eliminati.

Per quanto riguarda le urine, generalmente si raccoglie il fluido dopo un intervallo tra le 2 e le 4 ore, pur se le urine raccolte dopo le 24 ore risultano più rappresentative dall'avvenuta esposizione.

Poiché la concentrazione degli analiti nelle urine spot possono variare, questa viene corretta per la diuresi esprimendo i risultati in microgrammi (μg) di analiti per grammo di creatinina o utilizzando la densità delle urine.

Particolari precauzioni devono essere prese per prevenire una eventuale contaminazione dei campioni durante la raccolta, il trasporto e l'analisi. È importante assicurarsi che:

- i soggetti che devono prelevare la propria urina si lavino accuratamente le mani con acqua e sapone in un ambiente idoneo prima del prelievo;
- i campioni siano raccolti in contenitori precedentemente decontaminati;
- il trasporto deve avvenire in contenitori refrigerati per non alterare la stabilità dei campioni;
- per quanto concerne le urine, i campioni che non vengono analizzati entro 5 giorni dalla raccolta devono essere conservati congelati.

Per il campionamento di capelli, questi devono essere prelevati dalla nuca in corrispondenza della Regione occipitale, a circa 1 cm dalla cute, utilizzando forbici di acciaio ricoperte di carburo di tungsteno o titanio e posti quindi in bustine di politene.

Trasporto e conservazione

Nel caso che il luogo del prelievo differisca da quello di trattamento e analisi, per il trasporto dei campioni è consigliabile utilizzare per tragitti brevi una borsa frigorifero o un frigo portatile, mentre per tragitti lunghi i contenitori con ghiaccio secco sono i più indicati.

Poiché generalmente il trattamento e l'analisi dei campioni prelevati vengono effettuati dopo un certo tempo, c'è la necessità di conservarli appropriatamente per garantirne la stabilità e di conseguenza, l'accuratezza dei risultati.

Le cause che potrebbero alterare i risultati durante la conservazione potrebbero essere imputate al tipo di matrice del campione, al materiale del contenitore, alle condizioni di conservazione e al tempo trascorso tra prelievo e analisi.

Un ruolo fondamentale viene rivestito dal materiale costituente i contenitori in cui fluidi e tessuti biologici vengono conservati. Questo infatti deve presentare inerzia chimica nei confronti del campione e dei reagenti aggiunti, non dar luogo a fenomeni di adsorbimento o rilascio degli elementi da analizzare, avere un idoneo rapporto tra volume del campione e superficie del

contenitore e infine sistemi di chiusura che evitino perdite di materiale per diffusione o sublimazione.

Nella determinazione dei metalli è sconsigliato l'uso di contenitori in vetro che in certe condizioni a causa della carica negativa dei gruppi silicei agisce da scambiatore cationico. I materiali più indicati sono: il quarzo e le materie plastiche quali polistirene (PS) e politetrafluoroetilene (PTFE). Ad ogni modo, i contenitori vanno preventivamente decontaminati (23, 24).

La decontaminazione viene effettuata generalmente utilizzando HNO₃ ultrapuro diluito (1-2 %) con cui si riempie il contenitore. Trascorse 48 h, si eseguono numerosi risciacqui con acqua deionizzata. La soluzione dell'ultimo risciacquo viene analizzata per verificare la presenza di eventuali metalli in traccia e quindi l'efficacia dell'operazione.

La conservazione dei campioni prima che essi vengano trattati e analizzati viene normalmente fatta a basse temperature poiché il materiale biologico facilmente subisce, a temperatura ambiente, trasformazioni chimiche, microbiologiche ed enzimatiche. Generalmente per conservazioni per periodi inferiori ai 7 giorni un temperatura di + 4 °C (frigo) è sufficiente per la maggior parte delle matrici eccetto l'urina. Per periodi più lunghi vengono utilizzate temperature comprese tra -5 e -25 °C che permettono anche la riduzione dei fenomeni di adsorbimento o rilascio dei contenitori.

Un discorso a parte va fatto per l'urina che deve essere prima acidificata con HNO₃ a pH < 2 e poi subito congelata a - 20 °C, poiché una temperatura di + 4 °C non sarebbe sufficiente ad evitare una rapida degradazione microbica. Si raccomanda durante il congelamento di non riempire completamente il contenitore per evitare perdite a causa dell'aumento di volume del liquido. Lo scongelamento va fatto a temperatura ambiente e prima di prelevare aliquote di campione si deve agitare energicamente per eliminare il gradiente di concentrazione formatosi (24).

Le bustine di politene utilizzate nel prelievo dei capelli sono adatte sia per il trasporto che per la conservazione successiva in essiccatore a temperatura ambiente.

Trattamento

La trasformazione del campione in forma liquida, che è la forma più idonea per l'analisi, necessita di una serie di operazioni che tengano conto della matrice, del tipo e del livello di concentrazione degli analiti e della tecnica analitica. Queste operazioni vanno effettuate in ambienti idonei da personale esperto. La scelta dei reagenti per il trattamento del campione è di vitale importanza; infatti, essi stessi possono essere una possibile fonte di contaminazione. Di conseguenza è vitale l'utilizzo di acqua e acidi ad elevata purezza, ovvero con un contenuto di elementi in traccia trascurabile.

Sulla base della matrice costituente il campione si seleziona il tipo di trattamento più adatto per la successiva analisi. Generalmente, per i fluidi biologici e tessuti si ricorre a mineralizzazioni acide (HNO₃ conc. e H₂O₂) anche se urina e siero possono essere analizzati tal quale con la sola diluizione con acqua deionizzata.

Analisi

L'accuratezza dell'analisi viene verificata inserendo in un ciclo completo di trattamento dei campioni sia dei contenitori "bianchi" contenenti i reagenti usati sia un materiale di riferimento

(MR), che consiste in una matrice uguale o simile a quella dei campioni da analizzare, certificata per gli elementi da determinare. In assenza del MR, è opportuno effettuare delle prove di recupero.

La scelta della tecnica analitica da impiegare per l'analisi viene fatta sulla base della tipologia degli elementi da determinare, della loro concentrazione e del tipo di strumentazione a disposizione.

Nel monitoraggio dei metalli pesanti sia esso biologico che ambientale le tecniche analitiche più adatte sono la spettrometria atomica di assorbimento o di emissione. La prima monoelementare permette la determinazione di un solo elemento per volta mentre la seconda multielementare è indicata per la determinazione quantitativa di più elementi (24).

Nella Tabella 1 sono indicate le tecniche analitiche più idonee per il monitoraggio dei metalli pesanti presenti nei fluidi e nei tessuti corporei.

Tabella 1. Tecniche analitiche utilizzate nel monitoraggio biologico dei metalli pesanti

| Tecniche analitiche | | Limite di rilevabilità | Intervallo di linearità |
|---|-----------------|---|--------------------------------|
| <i>Assorbimento atomico</i> | | | |
| Spettrofotometria di Assorbimento Atomico in Fiamma: FAAS | Monoelementare | mg L ⁻¹ | ristretto |
| Spettrofotometria di Assorbimento Atomico a Fornetto di Grafite: ETA-AAS | Monoelementare | µg L ⁻¹ | ristretto |
| Sistema di sviluppo di idruri: HGAAS | Monoelementare | µg L ⁻¹ | ristretto |
| Analizzatore automatico di mercurio (AMA) | Monoelementare | frazioni di µg Kg ⁻¹ | ampio |
| <i>Emissione atomica</i> | | | |
| Spettrometria di emissione atomica a plasma accoppiato induttivamente: ICP-AES | Multielementare | µg L ⁻¹ - mg L ⁻¹ | ampio |
| Spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente con quadrupolo: Q-ICP-MS | Multielementare | frazioni di µg L ⁻¹ - frazioni di mg L ⁻¹ | ampio |
| Spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente con settore magnetico (alta risoluzione): HR-ICP-MS | Multielementare | ng L ⁻¹ - µg L ⁻¹ | ampio |

Interpretazione dei risultati

I risultati del monitoraggio biologico vanno comparati con i valori di riferimento o con quelli di controllo relativi alle popolazioni non esposte.

Uno dei principali benefici del monitoraggio biologico è di poter stimare il rischio individuale. Soggetti con una storia virtualmente identica di esposizione possono mostrare un'ampia variazione della risposta, a causa delle differenze nelle loro velocità di adsorbimento,

accumulo nei tessuti, o metabolismo. Quindi, deve essere data maggior importanza alla variazione dei livelli individuali da periodo a periodo e non a quelli tra diversi individui nello stesso gruppo.

I risultati possono anche essere interpretati considerando la loro distribuzione. Se tutti i valori misurati sono significativamente inferiori ai valori normali di riferimento o dei controlli, le condizioni di contaminazione possono essere considerate sotto controllo o assenti. Al contrario, vanno individuate le cause, e vanno presi i provvedimenti adatti per la riduzione della contaminazione e susseguente esposizione.

Quando per un individuo si ottengono risultati inaspettatamente alti che sembrano non corrispondere ai livelli correnti, questi vanno accuratamente verificati poiché ci può essere stata contaminazione durante il prelievo, specialmente per le urine "spot". In questo caso la ripetizione del prelievo del campione è raccomandata. Una ulteriore indagine deve essere condotta per individuare la sorgente di contaminazione che ha condotto ai risultati elevati.

Nei posti di lavoro, in aggiunta alla contaminazione del campione e all'errore analitico, risultati elevati anomali possono indicare una esposizione atipica causata da manutenzione o operazioni di riparazione o di emergenza. Essi possono anche dipendere dell'uso inadeguato dell'equipaggiamento protettivo individuale, nel qual caso è richiesto un migliore addestramento dell'operatore.

Quando si hanno risultati elevati, si devono individuare le sorgenti di esposizione e correggere il problema. Queste operazioni devono essere condotte da un esperto che abbia la conoscenza per interpretare le implicazioni dei risultati anomali.

Conclusioni

Da quanto su esposto emerge che per espletare un monitoraggio biologico efficace si deve assicurare la qualità dei risultati delle indagini. A tale scopo, è indispensabile definire un preciso e accurato protocollo operativo che contempra ogni aspetto relativo al prelievo, alla conservazione, al trattamento all'analisi dei campioni nonché alla necessaria tutela della riservatezza del dato individuale. Tutto ciò al fine di rendere i risultati derivanti dal monitoraggio affidabili per poter mettere in pratica le azioni necessarie per la protezione della salute dei soggetti esposti.

Bibliografia

1. Caroli S, Alimonti A, Coni E, Petrucci F, Senofonte O, Violante N. The Assessment of Reference Values for Elements in Human Biological Tissues and Fluids: a Systematic Review. *Crit Rev Anal Chem* 1994; 24:363-98.
2. Caroli S, Violante N, Alimonti A, Senofonte O, Fornarelli L, Coni E, Sabbioni E, Pietra R, Cristallini E, Bolis GB, Falconieri P. An Overall Approach to the Assessment of Reference Values for Trace Elements in Human Tissues. In: P. Brätter, B. Ribas, P. Schramel (Eds.), *Trace Elem Anal Chem Med Biol* 1994; 6:173-82.
3. Senofonte O, Violante N and Caroli S. Assessment of reference values for elements in human hair of urban schoolboys. *J Trace elements Med Biol* 2000; 14:6-13.
4. D'Ilio S, Violante N, Senofonte O, Caroli S. Occupational Exposure of Goldsmith Workers of the Area of Rome to Potentially Toxic Metals as Monitored through Hair Analysis. *Microchem J* 2000; 67:343-9.

5. Violante N, Senofonte O, Marsili G, Meli P, Caroli S. Human Hair as a Marker of Pollution by Chemical Elements Emitted by a Thermoelectric Power Plant. *Microchem J* 2000; 69:397-405.
6. Violante N, Senofonte O, D'Ilio S, Balestreri A, Caroli S. Assessment of the exposure of goldsmith workers from the "Tari" factory to potentially toxic metals by means of hair analysis. In: *2nd International Conference on High Resolution and Magnetic Sector Field ICP-MS*, Wien, 12-15 September 2001, 86.
7. Senofonte O, Violante N, D'Ilio S, Caimi S, Peri A, Caroli S. Hair analysis and the early detection of imbalances in trace elements for members of expeditions in Antarctica. *Microchem J* 2001;69:231-8.
8. Caroli S, Carelli G, Alimonti A, Petrucci F, Senofonte O, Violante N, Catino M, Tosti B. Urban exposure to platinum-group metals from car catalytic converters. In: *2002 Winter Conference on Plasma Spectrochemistry*. Scottsdale, Arizona, USA, 6-12 January, 349.
9. Petrucci F, Violante N, Senofonte O, De Gregorio M, Alimonti A, Caroli S, Forte G, Cristaudo A. Development of an analytical method for monitoring worker populations exposed to platinum group elements. *Microchem J* 2004;76:131-40.
10. Forte G, Bocca B, Senofonte O, Petrucci F, Brusa L, Stanzione P, Zannino S, Violante N, Alimonti A, Sancesario G. Trace and major elements in whole blood, serum, cerebrospinal fluid and urine of patients with Parkinson's disease. *J Neur Transmiss* 2004;111:1031-40.
11. Bocca B, Alimonti A, Petrucci F, Violante N, Sancesario G, Forte G, Senofonte O. Quantification of trace elements by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry in urine, serum, blood and cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease. *Spectrochim Acta Part B* 2004;59:559-66.
12. Petrucci F, Forte G, Bocca B, Senofonte O, Sancesario G, Violante N, Alimonti A. Metals in whole blood, serum, hair, cerebrospinal fluids and urine in Parkinson's disease. In: Korezyn AD (Ed.), *Mental dysfunctions in Parkinson's disease*. Medimont (Italy), 2004. p. 183-7.
13. Petrucci F, Violante N, Senofonte O, Cristaudo A, Di Gregorio M, Forte G and Alimonti A. Biomonitoring of a worker population exposed to platinum dust in a catalyst production plant. *Occup Environ Med* 2005;62:27-33.
14. Violante N, Petrucci F, Senofonte O, Cristaudo A, Di Gregorio M, Forte G and Alimonti A. Assessment of workers' exposure to palladium in a catalyst production plant. *J environ monit* 2005;7:463-8.
15. IPCS (International Program on Chemical Safety) Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. *EHC N*. 1993;155:1-82.
16. Tranchina G, Tranchino E. Monitoraggio biologico in medicina del lavoro. *G Ital Med Lav Erg* 2006;28(3suppl):19-20.
17. Gelormini A, Barbaro M, Cidaria D, Dall'Olio M. Integrazione dei piani di monitoraggio degli indicatori biologici di esposizione e dei piani di monitoraggio ambientale/espositivo. *G Ital Med Lav Erg* 2005;27(3):329-321.
18. Caroli S, Coni E, Violante N, Petrucci F, Caimi S. Alcuni aspetti del trattamento di materiale biologico prima della determinazione di elementi in traccia. In: Caroli S, Morisi G, Santaroni G. (Ed.) *Elementi in traccia: salute e ambiente*. *Ann Ist Super Sanità* 1995;31:219-24.
19. Kosta L. Contamination as limiting parameter in trace analysis. *Talanta* 1982;29:985-92
20. Pietra R, Sabbioni E, Brossa F, Gallorini M, Faruffini G, Fumagalli M, Titanium nitrite as a coating for surgical instruments used to collect human tissues for trace metal analysis. *Analyst* 1990;115:1025-8.
21. Versieck J, Barbier F, Cornelis R, Hoste J. Sample contamination as a source of error in trace element analysis of biological samples. *Talanta* 1982;29:973-84.

22. Minoia C, Pietra R, Sabbioni E, Ronchi A, Gatti A, Cavalleri A, Manzo L. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European Community. III. The control of preanalytical factors in the biomonitoring of trace elements in biological fluids. *Sci Tot Environ* 1992;120:63-79.
23. Cornelis R, Heinzow B, Herber RFM, Christensen JM, Paulsen OM, Sabbioni E, Templeton DM, Thomassen Y, Vahter M, Vesterberg O. Sample collection guidelines for trace elements in blood and urine. *Pure Appl Chem* 1995;67:1575-608.
24. Violante N, Caimi S, Di Gregorio M. Quantificazione nei tessuti e nei fluidi biologici: campionamento, pretrattamento e analisi. In: Petrucci F e Senofonte O (Ed.). *Elementi inorganici di interesse tossicologico: quantificazione in matrici ambientali, biologiche e alimentari*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/18). p. 63-75.

BIOMONITORAGGIO UMANO NELLA STIMA DELL'ESPOSIZIONE A INQUINANTI ORGANICI PERSISTENTI

Elena De Felip

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Inizialmente e tradizionalmente applicato in ambito occupazionale, il biomonitoraggio, quale metodo di misura dell'esposizione umana a contaminanti chimici, è stato progressivamente esteso alla caratterizzazione dell'esposizione della popolazione generale e delle popolazioni residenti in siti inquinati, e applicato in studi caso-controllo per verificare la correlazione tra specifiche patologie e alcuni inquinanti ambientali.

Si effettua misurando la concentrazione di biomarcatori (l'inquinante di interesse e/o i suoi metaboliti) in un organo (es. fegato), tessuto (es. tessuto endometriale), fluido (es. sangue, latte materno, urina) o altra matrice (es. capelli, omento). A differenza degli altri metodi usati per determinare l'esposizione umana, il biomonitoraggio non fornisce una "stima" di "esposizione esterna" (1) – quale quella che si ricava, ad esempio, dalla somministrazione di questionari e dal monitoraggio di tipo ambientale (che include la valutazione dell'esposizione alimentare) – ma la "misura" di una "dose interna" risultante dalle diverse vie e fonti espositive, ed è quindi considerato il migliore approccio alla valutazione dell'esposizione da utilizzarsi ai fini di un adeguato *risk assessment*.

Il biomonitoraggio di famiglie complesse di inquinanti organoalogenati

Una delle principali applicazioni del biomonitoraggio è nel settore degli inquinanti persistenti tossici tra cui i *Persistent Organic Pollutants (POPs)*, un gruppo eterogeneo di inquinanti alogenati a diffusione ambientale ubiquitaria tra i quali figurano pesticidi (DDT, aldrin, clordano, ecc.), prodotti di uso industriale – policlorobifenili (PCB), esaclorobenzene (HCB), polibromodifenileteri (PBDE) – e sottoprodotti di reazioni di combustione come le "diossine" – policlorodibenzodiossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF) –. I POP sono tutti caratterizzati da elevata persistenza ambientale e biologica e da un'ampia gamma di effetti tossici di rilievo che sono alla base della serie di azioni normative progressivamente intraprese a livello comunitario e internazionale (2) per ridurne l'impatto ambientale e sanitario. Una volta immessi nell'ambiente, i POP entrano nelle catene alimentari e, in virtù della loro lipofilità e persistenza, si accumulano nella frazione lipidica degli organismi e biomagnificano salendo di livello trofico.

Poiché l'esposizione umana è a basse dosi ma continuativa (e avviene, in misura generalmente superiore al 90%, attraverso gli alimenti), e le emivite sono dell'ordine di alcuni anni, per molti di questi inquinanti è possibile calcolare, dai dati di biomonitoraggio (di solito

dai livelli ematici dell'inquinante) il carico corporeo individuale o *Body Burden* ("*Body Burden*" = *total amount in the body in a "steady state situation", expressed as POP amount/kg body weight*") (3) tramite l'uso di appropriati modelli tossicocinetici (molto ben caratterizzati, ad esempio, nel caso delle diossine).

Un'applicazione di estrema utilità del biomonitoraggio riguarda la determinazione dell'esposizione umana a quei POP costituiti da famiglie di diversi "congeneri", cioè di molecole a differente grado e *pattern* di clorosostituzione (o bromosostituzione). Esempi tipici sono PCDD e PCDF (complessivamente, 210 congeneri), PBDE e PCB (209 congeneri in entrambi i casi, Figura 1).

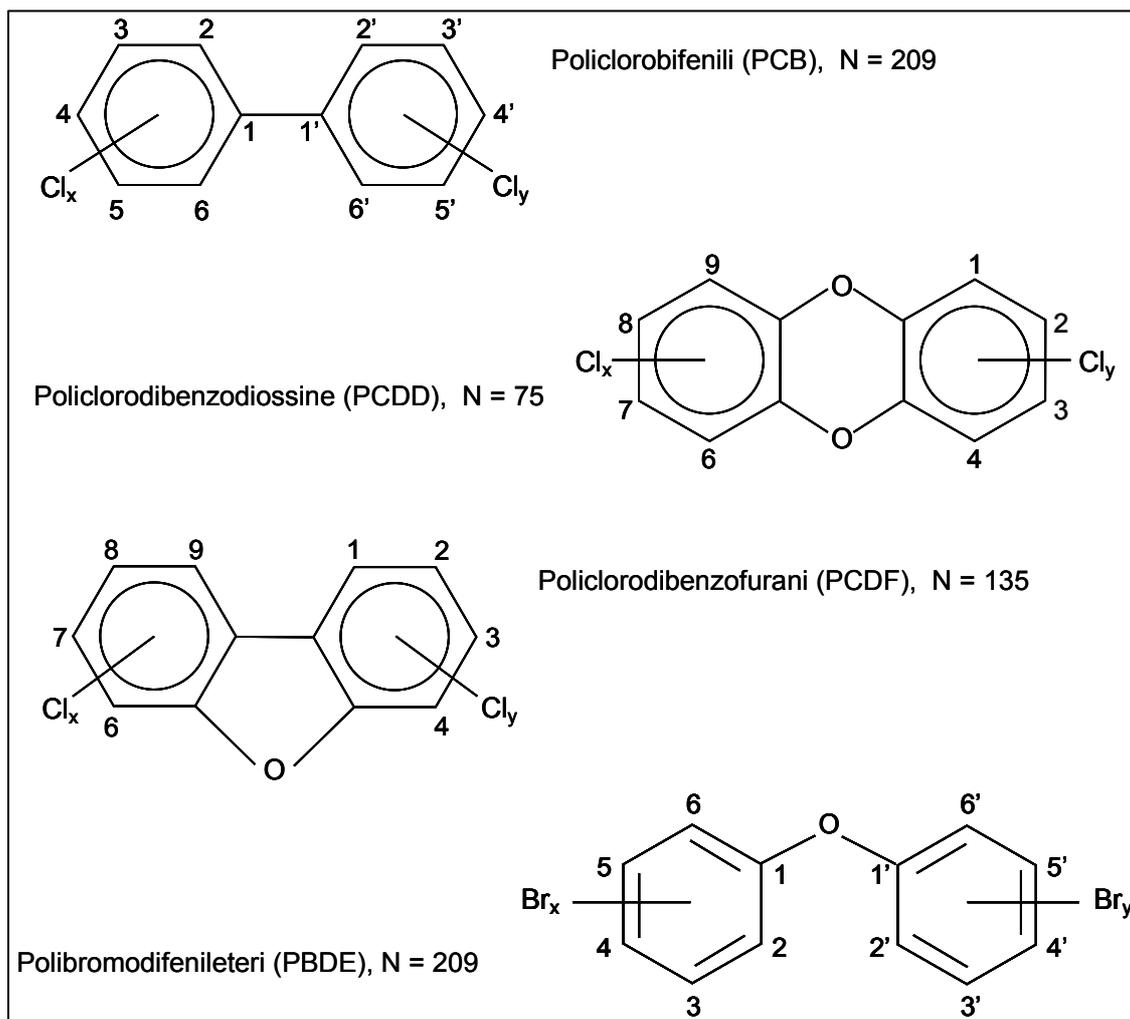


Figura 1. Strutture molecolari e numero di congeneri (N) di polichlorobifenili, polichlorodibenzodiossine, polichlorodibenzofurani e polibromodifenileteri

All'interno di ognuna di queste tre famiglie, a congeneri di diversa struttura corrispondono diverse caratteristiche a livello biochimico e tossicologico. Nel caso delle diossine, sono solo diciassette i congeneri, tutti caratterizzati dalla clorosostituzione contemporanea in posizione

2,3,7,8, in grado di legarsi al recettore arilico e quindi di esercitare una vasta gamma di effetti tossici.

I PCB sono, tra le famiglie di congeneri considerati, quelli che presentano maggiore complessità da un punto di vista tossicologico ed espositivo. Tra i circa 60 congeneri prevalenti nelle matrici ambientali e biologiche, dodici congeneri (indicati come “diossina-simili” o DL-PCB) hanno un *pattern* di clorosostituzione tale da rendere possibile il legame con il recettore arilico e l’espressione della gamma di attività tossicologiche proprie delle diossine. I congeneri non diossina-simili (NDL-PCB) sono presenti negli alimenti e nei tessuti umani a concentrazioni notevolmente superiori rispetto a quelli diossina-simili (mediamente, fino a 3 ordini di grandezza). Tra i NDL-PCB, i congeneri a maggiore abbondanza nei tessuti umani (di solito, concentrazioni > 1 ng/g di grasso) sono i sei “indicatori” (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) correntemente usati per stimare il contenuto totale di PCB. Poiché i NDL-PCB hanno una serie di attività tossicologiche che includono effetti neurologici e sul comportamento, immunotossicità, ed effetti sulla riproduzione, la valutazione del rischio tossicologico da miscele ambientali e alimentari di PCB presuppone la determinazione delle due classi di congeneri.

Nel passaggio da una matrice ambientale ad una alimentare, e al corpo umano, metabolismo e tossicocinetica intervengono per determinare un’alterazione del profilo congenere-specifico dei PCB provocando l’aumento relativo della concentrazione di alcuni congeneri e la diluizione di altri come mostrato in Figura 2, dove sono riportati i profili congenere-specifici osservati in campioni di sedimenti e di biota edule provenienti da un’area della laguna veneta, e in campioni di latte materno di un gruppo di donne residenti nella stessa zona (di Domenico A. Laguna veneta. Scenari di rischio per la salute umana associati all’introduzione e alla presenza di microinquinanti chimici ad alto potenziale tossico (PR-27/IS). Rapporto finale-Sinopsi. Istituto Superiore di Sanità – Roma. Luglio 2004).

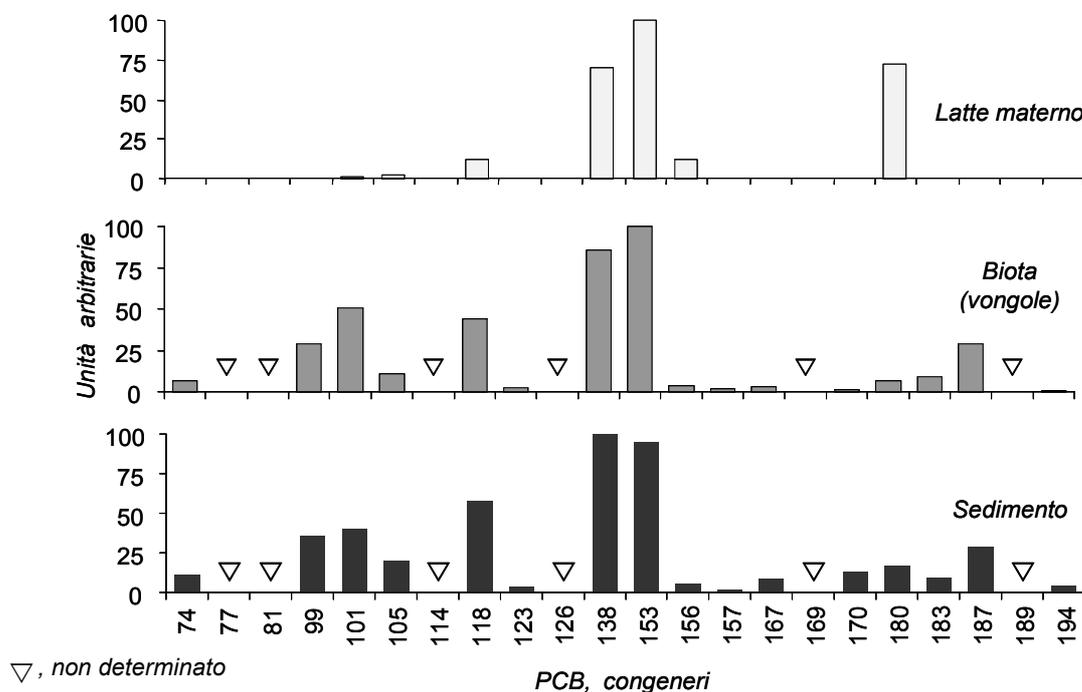


Figura 2. Profilo congenere-specifico di PCB in sedimenti, biota edule e latte materno

Nell'organismo umano i PCB si distribuiscono mantenendo uno stesso profilo congenere-specifico (Figura 3): in condizioni di *steady state* espositivo, determinate dall'esposizione continuativa a basse dosi, le concentrazioni dei PCB nella frazione lipidica dei tessuti sono infatti in equilibrio con quelle della frazione lipidica di sangue, latte e di altri fluidi biologici (4).

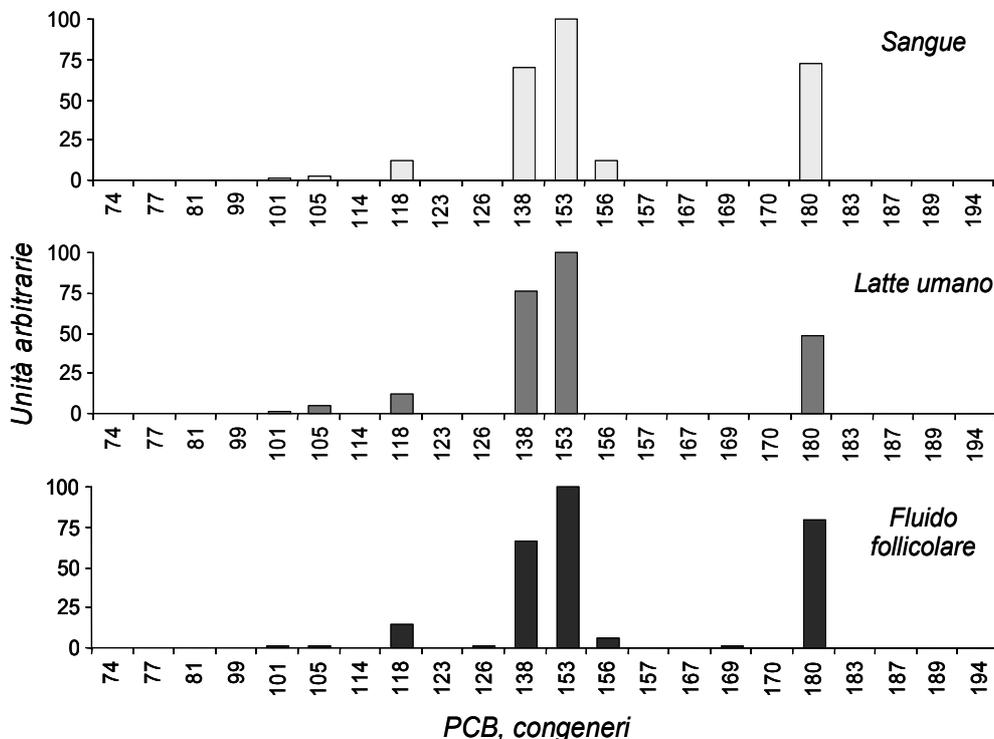


Figura 3. Profilo congenere-specifico di PCB in fluido follicolare, latte materno e sangue

Nell'unità materno-fetale i PCB passano attraverso la placenta (come anche gli altri POP) e sono presenti nel sangue del cordone a concentrazioni correlate linearmente con quelle ematiche materne (Figura 4), e mostrano un profilo congenere-specifico sovrapponibile a quello che caratterizza il comparto materno (5).

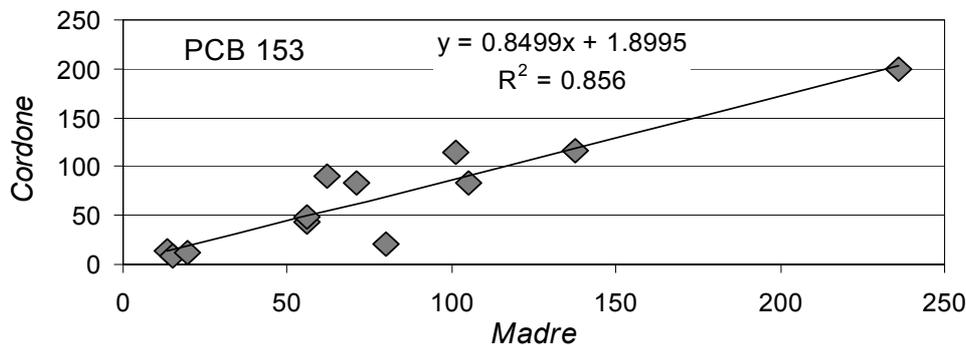


Figura 4. Livelli di PCB 153 nel sangue materno e nel sangue del cordone ombelicale (espressi in ng/g di grasso)

Quanto sopra descritto per le miscele di PCB si applica pienamente ad altre famiglie di congeneri, quali i PBDE. Questi composti, ampiamente utilizzati come “ritardanti di fiamma”, tuttora presenti in molti prodotti di uso quotidiano, sono stati progressivamente sottoposti a divieto o a riduzione di produzione e uso, man mano che evidenze sperimentali ne caratterizzavano gli effetti tossici (soprattutto di tipo neurocomportamentale) e che studi di biomonitoraggio ne dimostravano il significativo aumento di concentrazione, relativo agli ultimi trenta anni (6, 7), nella popolazione non esposta occupazionalmente.

I dati di biomonitoraggio rappresentano un’informazione essenziale per la definizione del rischio tossicologico anche nel caso di famiglie di isomeri, quali quelli dell’esaclorocicloesano, presenti nell’ambiente e negli alimenti in rapporti assolutamente variabili, e caratterizzati da differenti emivite biologiche e capacità di bioaccumulo (8, 9). La stessa considerazione vale per il *cluster* degli isomeri del DDT e quelli dei rispettivi metaboliti (DDE e DDD (10).

Fattori critici negli studi di biomonitoraggio

I dati di biomonitoraggio di inquinanti organici persistenti nella popolazione italiana sono scarsi e, per la maggior parte di essi, non si dispone di un adeguato database relativo alla popolazione generale a cui fare riferimento nella valutazione di un’eventuale esposizione incrementale (11). Le difficoltà connesse all’ottenimento dei campioni (invasività del prelievo ematico, volumi di campione richiesti per la determinazione di alcuni inquinanti) e considerazioni di tipo etico (tra le quali l’utilizzo e la protezione dei dati personali, l’arruolamento dei minori, la corretta informazione ai partecipanti) rendono sicuramente problematica l’applicazione del biomonitoraggio su larga scala. Complessità e costi delle analisi sono inoltre elementi che concorrono a determinare la bassa numerosità campionaria osservata per la maggioranza degli studi di biomonitoraggio sui POP. Questi inquinanti sono infatti presenti nei tessuti/fluidi del corpo umano in concentrazioni di picogrammi (10^{-12} g) o di nanogrammi (10^{-9} g) per grammo di grasso. L’analisi di miscele complesse di isomeri e/o congeneri a questi livelli di concentrazione è effettuata tramite metodiche analitiche elaborate che consentano di raggiungere l’alto grado di sensibilità e specificità necessarie, e che sono essenzialmente basate sull’uso di gascromatografia ad alta risoluzione abbinata a spettrometria di massa a bassa o alta risoluzione, previa effettuazione di una serie di procedure di estrazione e purificazione. Tutto questo si traduce in elevati costi di analisi.

I dati di biomonitoraggio disponibili sono anche di difficile comparabilità, perché differenze nel disegno dello studio (relative, soprattutto, a parametri come sesso, età e, per la popolazione femminile, eventuale allattamento al seno e sua durata) possono influenzare pesantemente il significato del dato ottenuto. A livello analitico, la diversità del metodo usato rappresenta un elemento che può compromettere la comparabilità dei dati disponibili, così come anche, nel caso di famiglie di congeneri, la selezione degli analiti determinati (12).

Le problematiche e i limiti sopra delineati sono emersi chiaramente nei programmi attivati, a livello internazionale (13, 14) per verificare il volume e la qualità dei dati di biomonitoraggio disponibili sull’esposizione a inquinanti tossici e persistenti della popolazione generale. Il “Progetto Pilota di biomonitoraggio umano” (2007-2010), finanziato nell’ambito del Settimo Programma Quadro Comunitario (FP7) nasce dal riconoscimento, maturato a livello comunitario, dell’opportunità di condurre uno studio “armonizzato” sull’esposizione umana a inquinanti ambientali a elevato significato tossicologico, e rappresenta uno dei risultati più immediati dell’applicazione della Strategia Europea su Ambiente e Salute varata dalla Commissione Europea nel 2003 (15). La Strategia, mirata all’acquisizione di conoscenze delle

interazioni tra ambiente e salute, sarà realizzata in cicli successivi. Uno dei principali obiettivi individuati per il primo ciclo (2004-2010) è la definizione dei rischi ambientali per uno dei gruppi sociali più vulnerabili: i bambini. Il Progetto Pilota di Biomonitoraggio è di conseguenza strutturato in modo tale da definire, nei diversi Stati Membri, l'esposizione materna e infantile a una serie di inquinanti tra i quali metalli pesanti e inquinanti organici persistenti, attraverso una stessa strategia di campionamento e l'impiego di stesse metodiche analitiche.

Interpretazione dei dati di biomonitoraggio

A livello interpretativo occorre ricordare che, proprio perché il dato di biomonitoraggio fornisce una misura "integrata" dell'esposizione, è difficile caratterizzare, in termini temporali, l'eventuale presenza di un picco espositivo e la sua collocazione. Altrettanto difficile è correlare in modo univoco uno specifico profilo di contaminazione con una particolare sorgente espositiva, e la corretta individuazione delle possibili fonti di esposizione deve essere effettuata interpretando il dato di biomonitoraggio a fronte di informazioni integrative (ottenute da questionari e/o da dati di monitoraggio ambientale).

Occorre infine tener presente che una maggiore "dose interna" di inquinanti organici persistenti può (almeno entro certi limiti) non corrispondere solo e necessariamente a una differente esposizione, ma può invece essere correlata a fattori di suscettibilità individuali quali, ad esempio, i polimorfismi degli enzimi di fase 1 e di fase 2 coinvolti nel metabolismo di questi inquinanti. Molti di questi enzimi sono infatti codificati da geni polimorfici, e alle diverse isoforme possono corrispondere diverse efficienze catalitiche e quindi differenti carichi corporei a parità di esposizione (12, 16).

Ai *caveat* sopra accennati, relativi all'interpretazione dei dati, se ne aggiunge un altro, relativo alla comunicazione del loro significato. I dati di biomonitoraggio sono dati "critici" perché spostano la consapevolezza dell'inquinamento su un livello "personale" (17) e, se non interpretati a fronte di una corretta informazione, possono creare disagi e allarmismi, anche ingiustificati. Per questo non dovrebbero essere comunicati se non accompagnati dalla spiegazione del loro significato in termini di (eventuale) rischio sanitario, sia pure con tutte le incertezze derivanti da una spesso incompleta caratterizzazione tossicologica dell'inquinante considerato, da una conoscenza molto parziale dei fattori di variabilità intra- e interindividuale e, in molti casi, dalla mancanza di valori di riferimento per la popolazione generale.

Bibliografia

1. Needham L, Ozkaynak H., Barr D, Wang R, Naeher L, Akland G, Bahadori T, Bradman A, Fortran R, Liu L, Moranti M, O'Rourke M, Thomas K, Quackenboss J, Ryan P, Zartarian V. Exposure assessment in the National Children's Study: introduction. *Environ Health Perspect* 2005; 113:1076-82.
2. Interim Secretariat for the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. *Stockholm Convention on persistent organic pollutants (POP)*. Geneva, Switzerland; 2002. Disponibile all'indirizzo <http://www.pops.int>; ultima consultazione 1/10/07
3. Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI). WHO, 1998.
4. De Felip E, di Domenico A, Miniero R, Silvestroni L. Polychlorobiphenyls and other organochlorine compounds in human follicular fluid. *Chemosphere* 2004; 54:1445-9.

5. Abballe A, De Felip E, Guarino M, Taggi F, Traina ME, Urbani E. Si può stimare l'esposizione fetale ad inquinanti ambientali analizzando il latte materno? II Congresso Nazionale della Società Italiana Tossicità della Riproduzione, Abano Terme 24-25 febbraio 2006.
6. Meironyté D, Noren K, Bergman A.. Analysis of polybrominated biphenyl ethers in Swedish human milk A time trend study, 1972-1997. *J. Toxicol Environ Health Part A* 1999;58:329-41.
7. Schecter A, Pavuk M, Papke O, Ryan J, Birnbaum L, Rosen R. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in US mothers' milk. *Environ Health Perspect* 2003; 111:1723-8.
8. Alpha- and Beta-hexachlorocyclohexanes. *Environmetal Health Criteria* 123, World Health Organization, 1993.
9. Lindane. *Environmetal Health Criteria* 124, World Health Organization, 1991.
10. Glynn A, Aune M, Darnerud PO, Cnattingius S, Bjerselius R, Becker W, Lignell S. Determinants of serum concentrations of organochlorine compounds in Swedish pregnant women: a cross-sectional study. *Environmental Health* 2007;6:2. doi: 10.1186/1476-069X-6-2.
11. De Felip E and Ingelido AM. Levels of persistent toxic substances in the general population in Italy. *Ann Ist Super Sanità* 2004;40:411-5.
12. Porpora MG, Ingelido AM, di Domenico A, Ferro A, Crobu M, Pallante D, Cardelli M, Cosmi EV, De Felip E. Increased levels of polychlorobiphenyls in Italian women with endometriosis. *Chemosphere* 2006; 63:1361-7.
13. Albaiges J, Abousamra F, Barakat A, De Felip E, Narbonne JF, Picer M. United Nation Environment Programme. *Regionally based assessment of persistent toxic substances*. UNEP 2002. (Mediterranean regional report). Disponibile all'indirizzo <http://www.chem.unep.ch>; ultima consultazione 1/10/07.
14. Baseline Report on "Biomonitoring of Children" in the framework of the European Environment and Health Strategy (COM(2003)338 final) 09 January 2004. Disponibile all'indirizzo http://ec.europa.eu/environment/health/pdf/baseline_reports.pdf; ultima consultazione 1/10/07.
15. European Environment and Health Strategy. Comunicazione della Commissione al Parlamento Europeo COM(2003)338 final.
16. Testai E. "Basic Aspects of Toxicology: Metabolic Pathways and Individual Factors of Susceptibility to Xenobiotics". In: L. Chyczewski *et al.* (Eds.). *Endocrine Disruptors and Carcinogenic Risk Assessment*, IOS Press; 2002. p. 255-70.
17. Pollution Gets Personal. *Science* 2004;304:1892-3. Disponibile all'indirizzo: <http://www.sciencemag.org/cgi/reprint/304/5679/1892.pdf>; ultima consultazione 31/1/2008.

INDICATORI DI EFFETTO PRECOCE E DI SUSCETTIBILITÀ GENETICA PER IL RISCHIO CANCEROGENO IN RELAZIONE ALLA CONTAMINAZIONE AMBIENTALE

Andrea Zijno, Riccardo Crebelli, Mariarosaria D'Errico, Eugenia Dogliotti
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Il monitoraggio biologico delle popolazioni residenti nei siti inquinati rappresenta un ulteriore strumento di indagine sull'impatto sanitario delle emergenze ambientali, capace di affiancarsi e integrarsi con gli studi epidemiologici su base geografica. L'analisi di opportuni biomarcatori nella popolazione d'interesse può infatti fornire informazioni sui livelli di esposizione interna agli inquinanti, su effetti precoci e suscettibilità individuale che possono avere un ruolo critico nell'evidenziare precocemente situazioni e/o sottogruppi a rischio, nonché nel verificare la plausibilità di associazioni causali tra esposizione a inquinanti ed effetti avversi a lungo termine.

I marcatori oggetto del monitoraggio biologico sono stati tradizionalmente distinti in biomarcatori di esposizione interna, di effetto e di suscettibilità individuale (1). Sebbene tali categorie possano applicarsi a differenti processi patologici, di fatto i biomarcatori più frequentemente analizzati fanno riferimento al rischio cancerogeno associato alla esposizione ad agenti genotossici. In questo ambito, marcatori di dose interna, quali gli addotti covalenti al DNA o alle proteine, sono risultati preziosi dosimetri della "dose efficace" risultante dal destino metabolico del cancerogeno ai fini della valutazione quantitativa del rischio, anche a livello individuale. Un ruolo di spicco hanno anche i biomarcatori di effetti precoci, che evidenziano eventi meccanicisticamente correlati al processo neoplastico anni o decenni prima dell'eventuale manifestarsi della patologia, integrando il contributo dei molteplici fattori eziologici tipicamente presenti in situazioni ambientali complesse. Infine vanno considerati i biomarcatori di suscettibilità che permettono di evidenziare l'esistenza di sottogruppi o fasce di popolazione sensibili, fornendo informazioni di importanza critica per la valutazione del rischio e utili all'interpretazione dei sottostanti meccanismi biologici.

I marcatori di esposizione interna e di effetti precoci sono stati sviluppati a partire dagli anni '70 del precedente secolo, spesso derivati da analoghe metodologie sviluppate su sistemi sperimentali in vitro e in vivo. I marcatori di suscettibilità, sia a livello fenotipico che genotipico, hanno invece avuto una introduzione relativamente più recente, in parte subordinata allo sviluppo di tecniche di indagine di tipo molecolare. Il campo di applicazione prevalente dei biomarcatori è stato finora confinato all'ambiente occupazionale o all'esposizione a specifici fattori di tipo ambientale o correlati allo stile di vita. Studi condotti su gruppi di popolazione con tipologia di esposizione definita hanno permesso di ottimizzare le metodiche e calibrarne la sensibilità. Indagini su soggetti con esposizione occupazionale hanno invece dimostrato la possibilità di monitorare la qualità dell'ambiente di lavoro, verificando l'efficacia di misure di contenimento dell'esposizione. Più limitate sono state invece le applicazioni in campo ambientale, di cui viene presentata di seguito una sintesi. Le indagini condotte hanno messo in luce le potenzialità del biomonitoraggio in studi di igiene ambientale, ma anche evidenziati i

limiti in termini sensibilità, riproducibilità, interpretabilità dei risultati. Allo stato attuale si può ritenere che il biomonitoraggio di popolazioni residenti in aree con elevato inquinamento ambientale possa rappresentare il campo di applicazione dei biomarcatori potenzialmente più fecondo, esaltandone la capacità di integrare gli effetti di fattori di rischio eterogenei, ma che a tal fine sia necessario un ulteriore sforzo nella direzione dello sviluppo di marcatori con migliori performance, facendo ricorso anche a metodi innovativi.

Biomarcatori di effetti precoci

I marcatori di effetti biologici precoci associati al rischio cancerogeno sono prevalentemente marcatori di danno genotossico. Tali biomarcatori sono, nella maggior parte dei casi, aspecifici rispetto all'agente causale, il cui ruolo può essere solo inferito in base all'intensità dell'esposizione e al meccanismo d'azione, quando noti. Eventi mutageni hanno un ruolo riconosciuto nello sviluppo neoplastico, e l'analisi di biomarcatori di danno genotossico consente di verificare l'esposizione ad agenti mutageni e quindi potenzialmente cancerogeni nella popolazione d'interesse. Sebbene gli effetti biologici vengano misurati in cellule *reporter* (in genere i linfociti periferici) surrogato del tessuto bersaglio, studi prospettici mostrano per alcuni marcatori citogenetici un valore predittivo per il rischio cancerogeno (2, 3).

In ambito ambientale, la maggior parte degli studi sui biomarcatori di effetti precoci è stata condotta al fine di valutare l'impatto sulla salute dell'inquinamento atmosferico. Gli studi si sono spesso concentrati su sottogruppi di popolazione urbana con alta esposizione ad inquinanti, e quindi capaci di massimizzarne gli effetti, in conseguenza del sito di residenza o dell'occupazione. Relativamente a quest'ultima, diversi studi sono stati effettuati su lavoratori urbani con prolungata permanenza in aree soggette ad elevato inquinamento, come i vigili urbani o i venditori ambulanti nelle zone a più alta intensità di traffico, o direttamente esposti a emissioni veicolari come autisti di autobus o garagisti.

La maggiore esposizione individuale a più elevati livelli di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) o benzene nelle popolazioni esposte a inquinanti rispetto a quelle di riferimento non è tuttavia invariabilmente risultata associata a più elevati livelli di danni genotossici nei linfociti periferici: l'analisi dei micronuclei (Mn), degli scambi tra cromatidi fratelli (SCE) o del danno al DNA valutato tramite il *Comet assay* non ha dimostrato un effetto dell'esposizione su questi marcatori in studi condotti a Roma (4), Genova (5) e nel Galles (6), mentre un significativo eccesso di aberrazioni cromosomiche è stato osservato in altri studi condotti in Scandinavia (7) e in Egitto (8). L'eterogeneità dell'esposizione delle popolazioni studiate, sia dal punto di vista qualitativo che dell'intensità, rende però difficilmente confrontabili i risultati delle diverse indagini.

Dati adeguati per una valutazione comparativa sono stati invece ottenuti nell'ambito del recente progetto di ricerca EXPAH dell'Unione Europea, finalizzato alla valutazione del danno al DNA in relazione all'esposizione ad IPA e particolato aereo. Il progetto prevedeva misure d'esposizione personale e di dose biologica interna agli inquinanti, e l'analisi di marcatori di effetto e suscettibilità su vigili e autisti di tre città dell'Europa Orientale (Praga, Sofia e Kosice), e il confronto con gruppi di controllo residenti nella stessa area (9). I primi risultati su questo studio sono stati pubblicati recentemente e hanno dimostrato una maggiore esposizione esterna ad IPA e benzo(a)pirene (B(a)P), associata al livello di addotti ingombranti e da B(a)P e di danno ossidativo sul DNA nelle categorie esposte rispetto ai gruppi di riferimento in tutte le tre città, anche se con importanti differenze quantitative. I livelli di proteine p53 e p21 plasmatiche, marcatori di stress genotossico e danno al DNA, non hanno invece evidenziato differenze tra i

gruppi. Per quanto riguarda i marcatori d'effetto, le aberrazioni cromosomiche (AC) sono risultate più elevate solo nel gruppo di esposti di Sofia, l'area urbana con i più alti livelli di IPA e BaP, mentre il rilevamento delle traslocazioni cromosomiche bilanciate tramite il *chromosome painting* ha evidenziato un aumento di danno cromosomico in tutte le popolazioni esposte (10, 11), suggerendo un possibile – e plausibile – vantaggio nell'analisi di alterazioni persistenti ai fini della valutazione degli effetti cumulativi di esposizioni prolungate nel tempo.

Anche se altri studi hanno segnalato un'associazione tra esposizione ad inquinanti atmosferici ed eccesso di alterazioni cromosomiche, la relazione tra gli inquinanti misurati e gli effetti biologici resta complessa. Una più elevata esposizione a inquinanti può riflettere globalmente una minore qualità della vita dal punto di vista sanitario nelle aree urbane rispetto a quelle rurali, spesso associata a diverse abitudini alimentari, o implicare l'intervento di fattori causali diversi da quelli considerati ma ad essi associati. Ciò è tanto più verosimile considerando che i livelli di esposizione agli specifici inquinanti misurati (es. benzene, B(a)P) sono in ogni caso di per se verosimilmente incapaci di indurre effetti misurabili. La complessità dei fattori che possono entrare in gioco nel confronto tra popolazioni residenti in aree diverse è dimostrata dai risultati di un recente studio condotto in Grecia, in cui è stata osservata un'augmentata esposizione ad IPA nei residenti nell'area urbana di Atene rispetto a quelli di un'area rurale, che è risultata però associata in modo inverso con il livello di addotti al DNA e non correlata con i livelli di SCE e di mutazioni al gene HPRT nei linfociti dei soggetti (12).

Le emissioni veicolari danno il contributo maggiore all'inquinamento atmosferico nelle aree urbane, ma su scala regionale altre fonti di inquinanti possono avere un ruolo prevalente e interessare vaste fasce di popolazione. Altri studi sono stati quindi condotti per valutare l'impatto di fattori diversi dalle emissioni veicolari.

L'effetto dell'inquinamento da IPA legato alla combustione di carbone per attività industriali e domestiche è stato valutato in una serie di studi confrontando soggetti provenienti dalla Regione della Slesia in Polonia e della Boemia Settentrionale, due aree molto inquinate dell'Europa Orientale, con quelli di regioni rurali con minor inquinamento. Il confronto ha evidenziato nella Slesia aumenti negli addotti al DNA, nelle frequenze di AC e SCE, overespressione dell'oncogene *ras*, e una significativa correlazione tra addotti al DNA e livelli di AC nei gruppi di esposti (13) e nella Boemia di Mn nei bambini e nelle loro madri ma non di AC misurate mediante *chromosome painting* (14).

La diffusione di metalli pesanti nell'ambiente rappresenta un ulteriore fattore di rischio associato ad attività antropiche di varia natura. Gli studi di biomonitoraggio nel caso dell'esposizione a metalli pesanti possono teoricamente trarre vantaggio dalla precisione delle misure di esposizione, grazie alla determinazione analitica dell'inquinante nei fluidi biologici, alleviando uno dei principali fattori di incertezza di queste indagini. Così studi condotti in Sassonia e in Polonia in aree con diffusa contaminazione da metalli pesanti hanno dimostrato un aumento nell'incidenza di danni al DNA (AC, SCE e Mn) in corrispondenza di una più elevata concentrazione di Cadmio e Piombo nel plasma degli esposti rispetto ai controlli (15, 16).

Sono da menzionare, inoltre, studi in cui il biomonitoraggio delle popolazioni residenti è stato impiegato per valutare l'evoluzione nel corso del tempo della situazione ambientale, per esempio a seguito della chiusura di una discarica (17).

Un nuovo promettente approccio per l'analisi di traslocazioni bilanciate mediante *real time* PCR è stato recentemente applicato per valutare il possibile effetto genotossico legato alla contaminazione da diossina in seguito all'incidente di Seveso. Rispetto alle metodologie classicamente applicate per la determinazione degli effetti biologici precoci questo nuovo approccio coniuga la sensibilità con la possibilità di valutare rapidamente un numero elevato di campioni con un costo contenuto. Nello studio condotto sulla popolazione di Seveso si è osservato che, sebbene nel gruppo di esposti la prevalenza di soggetti con la traslocazione

t(14;18) non era aumentata, tuttavia la frequenza della traslocazione – ove presente – risultava significativamente più elevata rispetto al gruppo di riferimento. Ciò suggerisce l'espansione di cloni con la traslocazione nei soggetti esposti a diossine, un meccanismo di tipo epigenetico che può essere implicato nell'aumentato rischio di linfomi non Hodgkin nella popolazione di Seveso e in altre popolazioni esposte a diossina (18).

Questa breve panoramica non può e non vuole coprire la totalità degli studi di biomonitoraggio condotti in relazione a fattori di rischio ambientale, ma solo presentare alcuni degli studi più recenti e più rappresentativi. Il quadro totale che se ne ricava è in parte contraddittorio, anche se la maggior parte delle indagini ha messo in luce un'associazione tra esposizione ambientale e più elevati livelli di marcatori di effetti biologici precoci, segnatamente danni genotossici. Sebbene esista la possibilità di un *bias* legato alla scarsa attitudine alla pubblicazione di risultati nulli, la consistenza e la riproducibilità di alcune osservazioni depongono a favore dell'utilità dell'analisi dei marcatori di effetti precoci in studi su popolazioni residenti in aree ad elevata contaminazione ambientale. A tal fine lo sviluppo, validazione e calibrazione di biomarcatori associati di una più ampia gamma di effetti avversi, quali quelli indotti dai cancerogeni non genotossici o dai distruttori endocrini, rimane un obiettivo prioritario.

Biomarcatori di suscettibilità

La variabilità interindividuale nelle caratteristiche genetiche può essere rilevante come marcatore biologico di suscettibilità all'esposizione ad inquinanti ambientali se consente di individuare soggetti o gruppi di popolazione a maggior rischio di sviluppare patologie associate a tali esposizioni.

Per valutare l'impatto della variabilità genetica sulla suscettibilità agli agenti ambientali la ricerca si è sviluppata principalmente sui geni coinvolti nel metabolismo degli xenobiotici, nella riparazione del DNA e, sebbene in minor grado, anche sui geni che controllano la risposta immunitaria e il ciclo cellulare (19, 20). Le cellule umane hanno evoluto dei complessi meccanismi per garantire l'integrità del genoma attraverso sistemi di detossificazione delle specie chimiche reattive con il DNA (enzimi del metabolismo di fase I e II) e di riparazione del danno al DNA, che limitano l'impatto degli effetti deleteri degli agenti tossici ambientali. Una ridotta efficienza di tali meccanismi è associata allo sviluppo di diverse patologie umane. Le sindromi umane ereditarie associate a difetti nella riparazione del DNA sono l'esempio migliore di tale associazione. Un difetto nel meccanismo di riparazione del danno indotto da radiazioni UV (*nucleotide excision repair*) nei pazienti affetti da Xeroderma pigmentosum causa un rischio di cancro della pelle 2000 volte maggiore rispetto a soggetti normali. Un secondo modello umano che mette in evidenza la relazione tra i processi riparativi del DNA e la cancerogenesi è rappresentato da pazienti con tumore del colon di tipo familiare che presentano un difetto nei geni coinvolti nel processo di riparazione delle coppie di basi appaiate erroneamente (*mismatch repair*).

Il ruolo dei geni che controllano la stabilità del genoma non è però confinato a sindromi rare ereditarie. A tal riguardo occorre puntualizzare che, a differenza del cancro ereditario (5-10% di tutti i casi di cancro), dove un'alterazione dell'attività di un singolo gene rappresenta spesso il principale determinante eziologico (es. mutazioni del gene BRCA1 e cancro del seno), l'insorgenza del cancro sporadico è associata a piccoli cambiamenti nell'attività di molteplici geni, in combinazione con fattori legati allo stile di vita (9, 15). Questi cambiamenti detti SNP (*single nucleotide polymorphisms*), cioè polimorfismi di un singolo nucleotide, sono comuni,

ma sono associati ad un aumento di rischio modesto. Un esempio sono i polimorfismi del gene del metabolismo degli xenobiotici N-acetiltransferasi 2 (NAT2) che conferiscono il fenotipo “acetilatore lento” che sono presenti in >20% della popolazione ma sono associati con un rischio di cancro della vescica modesto (odds ratio, OR, tra 1.22 e 1.54) (21).

La saga storica degli studi di associazione del fenotipo “acetilatore lento” con il rischio di cancro della vescica (22) condotti a partire dal lavoro pionieristico di Lower del 1979 (23) identifica una serie di prerequisiti per una corretta associazione genotipo-fenotipo: 1) Il disegno dello studio deve essere guidato da un’ipotesi plausibile dal punto di vista biologico, 2) l’associazione genotipo-fenotipo deve essere riprodotta in studi di popolazione indipendenti, 3) il significato biologico (attività funzionale) delle varianti genetiche deve essere identificato e, infine, 4) l’interazione con esposizioni ben caratterizzate deve essere verificata. Questi prerequisiti sono tutti soddisfatti dallo studio di Lower ma spesso disattesi in studi successivi. Lo studio di Lower è infatti basato sull’osservazione di un più elevato rischio di cancro della vescica tra lavoratori esposti ad arilamine e tra fumatori e, all’interno di queste popolazioni a rischio, negli individui con bassa attività NAT2. La meta-analisi di 36 studi di associazione tra genotipo NAT2 e rischio di cancro alla vescica nella popolazione generale ha confermato questa associazione (22). Studi biochimici hanno stabilito che il fenotipo “acetilatore lento” è dovuto ad una ridotta attività enzimatica di NAT2 e sono state caratterizzate le sue varianti funzionali. Infine, è stata determinata un’interazione significativa, anche se modesta, della presenza di questa variante polimorfica con l’esposizione a fumo di sigaretta.

Nonostante l’ingente impiego di risorse, il progresso raggiunto in termini di identificazione dei fattori genetici in grado di contribuire ad un incremento di rischio di cancro nella popolazione generale esposta ad inquinanti ambientali è relativamente limitato. L’immagine complessiva che emerge dagli studi finora condotti è stata sintetizzata in una recente rassegna (24) che evidenzia una discrepanza nei risultati di indagini di epidemiologia molecolare che analizzano il ruolo dei geni di suscettibilità. L’inconsistenza osservata è da attribuirsi sostanzialmente all’assenza in molti studi dei prerequisiti sopra elencati associata alla bassa potenza statistica e alle limitate informazioni sull’esposizione. La realizzazione di studi di meta- o *pooled*-analisi dei dati provenienti da singoli studi ha consentito solo in alcuni casi di disporre di sufficiente numerosità per poter analizzare le associazioni di interesse. Ad esempio una meta-analisi di 7 studi epidemiologici sull’associazione tra rischio di cancro e polimorfismi in alcuni geni della riparazione del DNA (OGG1, APE1/APEX1 e XRCC1) ha permesso di stimare, a partire da 3253 casi e 3371 controlli, un aumento del 24% nel rischio di tumore del polmone tra i soggetti che presentavano la variante polimorfica Cys/Cys della DNA glicosilasi OGG1, che determina una diminuzione dell’attività di rimozione di basi ossidate del DNA (25).

Un altro problema, non risolvibile dalle meta- o *pooled*-analisi, è rappresentato dalla eterogeneità degli studi disponibili sullo stesso argomento che spesso divergono significativamente nelle stime di rischio prodotte (26).

Un altro importante fattore che limita fortemente l’interpretazione degli studi sulla suscettibilità genetica è rappresentato dall’elevata complessità dei processi che sottendono alla risposta biologica ad agenti ambientali. Il problema è di capire quale sia effettivamente la combinazione delle varianti genetiche che complessivamente concorrono a determinare una maggiore suscettibilità alle esposizioni ambientali ma l’inclusione nello studio di più varianti polimorfiche in geni diversi richiede la genotipizzazione di un grande numero di soggetti per identificare combinazioni di polimorfismi significativamente associati con rischio di cancro. Recentemente queste variazioni sono state raggruppate in piccoli blocchi chiamati aplotipi. L’aplotipo è una combinazione di diversi SNP che hanno viaggiato insieme nel corso dell’evoluzione. La mappa degli aplotipi (HapMap) è uno strumento prezioso per studiare la predisposizione genetica individuabile proprio attraverso gli aplotipi, che si combina poi con

fattori ambientali. La sua applicazione in studi di epidemiologia molecolare si prospetta promettente (27).

Un altro aspetto problematico dell'uso di SNP in studi di suscettibilità genetica è la scarsa disponibilità di informazioni sull'impatto fenotipico di molte varianti geniche. A tal riguardo, l'impiego di saggi fenotipici funzionali, quali l'*host cell reactivation assay (HCR)* e il *mutagen sensitivity assay*, sta acquisendo un crescente interesse applicativo nella valutazione del rischio di cancro in studi di epidemiologia molecolare.

Il saggio HCR viene utilizzato per misurare la riparazione del DNA attraverso l'inserimento nelle cellule umane di geni reporter sui quali viene preventivamente indotta una quantità misurabile di danno tramite l'esposizione ad un agente mutageno. In questo modo è possibile quantificare la riparazione della cellula ospite sulla base dell'attività enzimatica del gene reporter. L'impiego di questo saggio funzionale ha consentito di dimostrare che una ridotta capacità di riparazione del danno al DNA indotto dalle radiazioni UV è un fattore di rischio per l'insorgenza di tumori della pelle (basaliomi e melanomi) nella popolazione generale (28-30). Lo stesso saggio ha permesso di evidenziare che una ridotta capacità di riparazione del danno indotto da B(a)P diolo epossido (BPDE), un noto cancerogeno presente nel fumo di sigaretta, è associato ad aumento di rischio per i tumori del polmone (31).

Il saggio funzionale di sensibilità ai mutageni (detto anche *challenge assay*) è invece basato sulla misura di aberrazioni cromosomiche (CA) in cellule trattate *in vitro* con agenti fisici (raggi γ o UV) o chimici (bleomicina, B(a)P, ecc.) (32). Questo saggio fornisce una misura indiretta di sensibilità a mutageni integrando verosimilmente l'attività di vari geni coinvolti in diversi meccanismi di riparazione del danno genetico (33). Uno studio condotto su un'ampia casistica di gemelli mono- e di-zigotici (34) ha recentemente fornito una chiara evidenza che la sensibilità ai mutageni è altamente ereditaria validando l'uso di questo saggio come marcatore di suscettibilità al cancro. In accordo con questi risultati studi precedenti (35) avevano descritto l'ereditabilità della sensibilità alle radiazioni in linfociti di parenti di primo grado di pazienti affetti da cancro del seno. L'identificazione dei geni coinvolti nella sensibilità ai mutageni rimane una delle domande aperte più interessanti nella ricerca sulla suscettibilità al cancro. Ad oggi sono stati pubblicati circa 100 studi epidemiologici che usano il *challenge assay* per valutare il rischio di cancro e sono state riportate associazioni con i più diffusi tipi di cancro (OR negli studi più grandi tra 1,5 e 2,5). Molti studi suggeriscono che la combinazione della sensibilità ai mutageni con altri fattori di rischio ne aumenta il potere predittivo. Per esempio, uno studio multicentrico condotto su pazienti affetti da tumore del collo e della testa (36) ha mostrato un aumento di rischio di cancro di 44,5 volte nei forti fumatori sensibili ai mutageni mentre aumenti di 2,6 e 11,5 volte di rischio era rilevati rispettivamente per la sensibilità ai mutageni e il fumo di sigaretta quando considerati separatamente. I risultati dello studio sui gemelli indica che i fattori ambientali esercitano effetti considerevoli sulla sensibilità ai mutageni anche se, particolarmente nel caso della sensibilità a radiazioni, la componente genetica è predominante (37). Gli studi epidemiologici ad oggi condotti sulla modulazione della sensibilità ai mutageni da parte di fattori ambientali (es. fumo, dieta, alcool) sono purtroppo inconsistenti. Si ravvede l'importanza di studi disegnati per identificare quali fattori ambientali e a che livello influenzano la sensibilità ai mutageni prima di applicare questo saggio in studi di popolazione su soggetti esposti a contaminanti ambientali.

Un recente studio sulla valutazione del rischio di cancro in relazione alla suscettibilità genetica ha utilizzato un saggio funzionale della capacità di riparazione che rappresenta una sorta di combinazione tra i saggi di *HCR* e *challenge*, evidenziando una ridotta efficienza del *nucleotide excision repair* in donne con tumore della mammella rispetto a sorelle sane (38). Il saggio ha utilizzato cellule linfoblastoidi trattate con BPDE e tecniche di immunofluorescenza basate su un anticorpo anti BPDE-DNA per quantificare la formazione e riparazione del danno

indotto. Questo studio ha evidenziato che la rimozione di addotti specifici in linee cellulari linfoblastoidi può essere un valido indicatore di suscettibilità genetica, in quanto capace di integrare la misura del danno indotto e la capacità di riparazione dello stesso dopo il trattamento con agenti mutageni. Studi più ampi dovranno però rispondere alla domanda se la risposta al danno del DNA di cellule surrogato (linee linfoblastoidi verso linfociti periferici, linfociti periferici verso cellule bersaglio come cellule del polmone o del fegato) riflette gli eventi biologici che avvengono nelle cellule bersaglio e se questi eventi predicono il rischio di cancro. Un confronto sistematico della risposta al danno al DNA di linfociti periferici di soggetti sani e linee linfoblastoidi derivate dagli stessi, utilizzando sia saggi genotipici che fenotipici, è attualmente in corso in un progetto nazionale multicentrico finanziato dall'AIRC (coordinatore G. Matullo, ISI, Torino) che coinvolge anche i nostri gruppi di ricerca.

I saggi funzionali di riparazione del DNA sopra descritti anche se da una parte sono più potenti della genotipizzazione (migliore capacità predittiva rispetto alla valutazione di una singola mutazione, SNP, in un gene specifico) soffrono però di alcuni svantaggi: sono più complicati dell'analisi degli SNPs e di solito non sono condotti nel tessuto bersaglio. Questa situazione potrebbe cambiare con lo sviluppo di saggi funzionali adatti ad applicazioni su larga scala che analizzano l'attività di specifici enzimi della riparazione. Per esempio il saggio funzionale per l'attività della DNA glicosilasi OGG1 ha evidenziato che una ridotta attività enzimatica è un fattore di rischio per il tumore del polmone (39) e per il carcinoma della testa e del collo (40). Questo saggio esamina la capacità di estratti cellulari di incidere un residuo di 8-oxoguanina (substrato dell'enzima OGG1) presente in un substrato di DNA sintetico (oligonucleotide) marcato con nucleotidi radioattivi, generando due frammenti distinguibili per la diversa dimensione con tecniche elettroforetiche. Per la sua semplicità e costo limitato si presta ad una applicazione su grandi numeri di campioni e all'uso di estratti derivati da diversi tipi cellulari. Nel nostro laboratorio abbiamo messo a punto un saggio per misurare l'attività enzimatica delle DNA glicosilasi basato sull'uso della fluorescence cross-correlation spectroscopy (FCCS) idoneo all'applicazione in studi di popolazione (41).

Prospettive future

Lo studio degli effetti ambientali sulla stabilità del genoma e del suo impatto sulla salute umana, attraverso lo sviluppo di marcatori di esposizione, di risposta biologica precoce e di suscettibilità genetica è un'importante area di ricerca in sanità pubblica che richiede l'attenzione dei ricercatori e adeguati investimenti. L'approfondimento di queste problematiche è ad esempio uno dei principali obiettivi del Piano Strategico del *National Institute of Environmental Health Sciences* (NIEHS) statunitense per il periodo 2006-2011.

Attualmente i saggi di riparazione del DNA disponibili per studi epidemiologici sono molto limitati e la ricerca futura dovrà concentrarsi sullo sviluppo di saggi funzionali idonei all'applicazione su larga scala. Inoltre, uno sforzo dovrà essere condotto per verificare l'applicabilità delle nuove tecniche di *omics* (trascrittomica, proteomica, metabolomica) per la valutazione dell'esposizione ambientale, reale "tallone d'Achille" negli studi di epidemiologia molecolare. La loro validità ruota intorno alla domanda se specifiche esposizioni si riflettono in livelli alterati di mRNA, proteine o metaboliti e se i cambiamenti prodotti sono predittivi della fonte di esposizione (*fingerprints* di esposizione?). Studi *in vitro* e *in vivo* indicherebbero che questa area è promettente anche se ancora in una fase iniziale per una valutazione del suo potenziale uso. Un pannello di alcune centinaia di geni si è mostrato in grado di rilevare, attraverso cambiamenti d'espressione, l'esposizione ad una classe di composti chimici di uso

industriale con attività estrogenica in un modello cellulare *in vitro* (42). Studi più avanzati condotti utilizzando le radiazioni ionizzanti come agente danneggiante hanno confermato la specificità di cambiamenti di espressione genica in funzione dell'esposizione e delle dosi applicate sia in modelli *in vitro* che *in vivo*. Il profilo di espressione di geni predittivi dell'esposizione a radiazioni (definito "metagene") sviluppato in un modello murino (43) si è dimostrato altamente predittivo dell'esposizione a radiazioni di soggetti umani (pazienti sottoposti a radioterapia verso soggetti sani non irradiati) suggerendo che questo approccio possa essere usato per il monitoraggio di esposizione ad agenti danneggianti ambientali. Le informazioni attualmente disponibili sui cambiamenti di espressione genica in seguito a trattamenti con agenti genotossici e non genotossici sia in sistemi *in vitro* che *in vivo* associate alle conoscenze sui meccanismi d'azione di contaminanti ambientali, potrebbero essere raccolte e utilizzate per disegnare *arrays* per esposizioni ambientali specifiche (esposomi) (44). Gli "esposomi" così disegnati, dopo appropriata validazione in sistemi modello, potrebbero essere utilizzati per identificare esposizioni umane ad inquinanti ambientali.

Bibliografia

1. International Programme on Chemical Safety (IPCS). *Biomarkers and risk assessment: concepts and principles*. Environmental Health Criteria n.155. Geneva: World Health Organization; 1993.
2. Bonassi S, Znaor A., Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, Kirsch-Volders M, Zeiger E, Ban S, Barale R, Bigatti MP, Bolognesi C, Cebulska-Wasilewska A, Fabianova E, Fucic A, Hagmar L, Joksic G, Martelli A, Migliore L, Mirkova E, Scarfi MR, Zijno A, Norppa H, Fenech M. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* 2007;28(3):625-31.
3. Hagmar L, Stromberg U, Bonassi S, Hansteen IL, Knudsen L, Lindholm C, Norppa H. Impact of Types of Lymphocyte Chromosomal Aberrations on Human Cancer Risk: Results from Nordic and Italian Cohorts. *Cancer Res* 2004;64:2258-63.
4. Carere A, Andreoli C, Galati R, Leopardi P, Marcon F, Rosati MV, Rossi S, Tomei F, Verdina A, Zijno A, Crebelli R. Biomonitoring of exposure to urban air pollutants: analysis of sister chromatid exchanges and DNA lesions in peripheral lymphocytes of traffic policemen. *Mutat Res* 2002;518:215-24.
5. Bolognesi C, Merlo F, Rabboni R, Valerio F, Abbondandolo A. Cytogenetic biomonitoring in traffic police workers: micronucleus test in peripheral blood lymphocytes. *Environ Mol Mutagen* 1997;30:396-402.
6. Parry EM, Ballantine JA, Ellard S, Evans WE, Jones C, Kilic N, Lewis RI. Biomonitoring study of a group of workers potentially exposed to traffic fumes. *Environ Mol Mutagen* 1997;30:119-30.
7. Knudsen LE, Norppa H, Gamborg MO, Nielsen PS, Okkels H, Soll-Johanning H, Raffn E, Jarventaus H, Austrup H. Chromosomal aberrations in humans induced by urban air pollution: influence of DNA repair and polymorphisms of glutathione S-transferase M1 and N-acetyltransferase 2. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:303-10.
8. Anwar WA, Kamal AAM. Cytogenetic effects in a group of traffic policemen in Cairo. *Mutat Res* 1988;208:225-31.
9. Taioli E, Sram RJ, Garte S, Kalina I, Popov TA, Farmer PB. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental pollution on exogenous and oxidative DNA damage (EXPAH project): Description of the population under study. *Mutat Res* 2007;620:1-6.
10. Beskid O, Binkova B, Dusek Z, Rossner P, Solansky I, Kalina I, Zidzik J, Popov TA, Farmer PB, Sram RJ. Chromosomal aberrations by fluorescence in situ hybridization (FISH)-Biomarker of exposure to carcinogenic PAHs. *Mutat Res* 2007;620:62-70.

11. Sram RJ, Beskid O, Binkova B, Chvatalova I, Lnenickova Z, Milcova A, Solansky I, Tulupova E, Bavorova H, Ocadlikova D, Farmer PB. Chromosomal aberrations in environmentally exposed population in relation to metabolic and DNA repair genes polymorphisms. *Mutat Res* 2007;620:22-33.
12. Kyrtopoulos SA, Georgiadis P, Autrup H, Demopoulos NA, Farmer P, Haugen A, Katsouyanni K, Lambert B, Ovrebo S, Sram R, Stephanou G, Topinka J. Biomarkers of genotoxicity of urban air pollution. Overview and descriptive data from a molecular epidemiology study on populations exposed to moderate-to-low levels of polycyclic aromatic hydrocarbons: the AULIS project. *Mutat Res* 2001;496:207-28.
13. Perera FP, Hemminki K, Gryzbowska E, Motykiewicz G, Michalska J, Santella RM, Young TL, Dickey C, Brandt-Rauf P, De Vivo I, Blaner W, Tsai WY, Chorazy M. Molecular and genetic damage in humans from environmental pollution in Poland. *Nature* 1992;360:256-58.
14. Pedersen M, Vinzents P, Petersen JH, Kleinjans JC, Plas G, Kirsch-Volders M, Dostal M, Rossner P, Beskid O, Sram RJ, Merlo DF, Knudsen LE. Cytogenetic effects in children and mothers exposed to air pollution assessed by the frequency of micronuclei and fluorescence in situ hybridization (FISH): a family pilot study in the Czech Republic. *Mutat Res* 2006;608:112-20.
15. Huttner E, Gotze A, Nikolova T. Chromosomal aberrations in humans as genetic endpoints to assess the impact of pollution. *Mutat Res* 1999;445:251-7.
16. Kapka L, Baumgartner A, Siwinska E, Knudsen LE, Anderson D, Mielzynska D. Environmental lead exposure increases micronuclei in children. *Mutagenesis* 2007;22:201-7.
17. Klemans W, Vleminckx C, Schriewer L, Joris I, Lijssen N, Maes A, Ottogali M, Pays A, Planard C, Rigaux G, *et al.* Cytogenetic biomonitoring of a population of children allegedly exposed to environmental pollutants. Phase 2: Results of a three-year longitudinal study. *Mutat Res* 1995; 342:147-56.
18. Baccarelli A., Hirt C., Pesatori AC, Consonni D, Patterson DG Jr, Bertazzi PA, Dolken G, Landi MT. t(14;18) translocations in lymphocytes of healthy dioxin-exposed individuals from Seveso, Italy. *Carcinogenesis* 2006;27:2001-7.
19. Houlston RS, Peto J. The search for low-penetrance cancer susceptibility alleles. *Oncogene* 2004;23:6471-6.
20. Au WW. Usefulness of biomarkers in population studies: from exposure to susceptibility and to prediction of cancer. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210:239-46.
21. Olden K. Commentary: From phenotype, to genotype, to gene-environment interaction and risk for complex diseases. *Int J Epidemiol* 2007;36:18-20.
22. Rothman N, Garcia-Closas M, Hein DW. Commentary: Reflections on G. M. Lower and colleagues' 1979 study associating slow acetylator phenotype with urinary bladder cancer: meta-analysis, historical refinements of the hypothesis, and lessons learned. *Int J Epidemiol* 2007;36: 23-8.
23. Lower GM Jr, Nilsson T, Nelson CE, Wolf H, Gamsky TE, Bryan GT. N-acetyltransferase phenotype and risk in urinary bladder cancer: approaches in molecular epidemiology. Preliminary results in Sweden and Denmark. *Environ Health Perspect* 1979;29:71-9.
24. Kyrtopoulos SA, Sarrif A, Elliott BM, Schoket B, Demopoulos NA. Biomarkers and molecular epidemiology-present state and future trends: concluding remarks. *Mutat Res* 2006;600:77-8.
25. Hung RJ, van der Hel O, Tavgigian SV, Brennan P, Boffetta P, Hashibe M. Perspectives on the molecular epidemiology of aerodigestive tract cancers. *Mutat Res* 2005;592:102-18.
26. Paracchini V, Raimondi S, Gram IT, Kang D, Kocabas NA, Kristensen VN, Li D, Parl FF, Rylander-Rudqvist T, Soucek P *et al.* Meta- and pooled analyses of the cytochrome P-450 1B1 Val432Leu polymorphism and breast cancer: a HuGE-GSEC review. *Am J Epidemiol* 2007;165: 115-125.
27. Engels EA, Wu X, Gu J, Dong Q, Liu J, Spitz MR. Systematic evaluation of genetic variants in the inflammation pathway and risk of lung cancer. *Cancer Res* 2007;67:6520-7.

28. D'Errico M, Calcagnile A, Iavarone I, Sera F, Annessi G, Baliva G, Chinni L, Corona R, Pasquini P, Dogliotti E. Factors that influence DNA repair capacity of normal and skin cancer-affected individuals. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:553-9.
29. Wei Q, Matanoski GM, Farmer ER, Hedayati MA, Grossman L. DNA repair and susceptibility to basal cell carcinoma: a case-control study. *Am J Epidemiol* 1994;140:598-607.
30. Wei Q, Lee JE, Gershenwald JE, Ross MI, Mansfield PF, Strom SS, Wang LE, Guo Z, Qiao Y, Amos CI *et al.* Repair of UV light-induced DNA damage and risk of cutaneous malignant melanoma. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:308-15.
31. Cheng L, Eicher SA, Guo Z, Hong WK, Spitz MR, Wei Q. Reduced DNA repair capacity in head and neck cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:465-8.
32. Au WW. Mutagen sensitivity assays in population studies. *Mutat Res* 2003;544:273-7.
33. Erdei E, Lee SJ, Wei Q, Wang LE, Song YS, Bovbjerg D, Berwick M. Reliability of mutagen sensitivity assay: an inter-laboratory comparison. *Mutagenesis* 2006;21:261-4.
34. Wu X, Spitz MR, Amos CI, Lin J, Shao L, Gu J, de Andrade M, Benowitz NL, Shields PG, Swan GE. Mutagen sensitivity has high heritability: evidence from a twin study. *Cancer Res* 2006;66:5993-6.
35. Roberts SA, Spreadborough AR, Bulman B, Barber JB, Evans DG, Scott D. Heritability of cellular radiosensitivity: a marker of low-penetrance predisposition genes in breast cancer? *Am J Hum Genet* 1999;65:784-94.
36. Cloos J, Spitz MR, Schantz SP, Hsu TC, Zhang ZF, Tobi H, Braakhuis BJ, Snow GB. Genetic susceptibility to head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:530-5.
37. Wu X, Gu J, Spitz MR. Mutagen sensitivity: a genetic predisposition factor for cancer. *Cancer Res* 2007;67:3493-5.
38. Kennedy DO, Agrawal M, Shen J, Terry MB, Zhang FF, Senie RT, Motykiewicz G, Santella RM. DNA repair capacity of lymphoblastoid cell lines from sisters discordant for breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:127-32.
39. Paz-Elizur T, Krupsky M, Blumenstein S, Elinger D, Schechtman E, Livneh Z. DNA repair activity for oxidative damage and risk of lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1312-9.
40. Paz-Elizur T, Ben-Yosef R, Elinger D, Vexler A, Krupsky M, Berrebi A, Shani A, Schechtman E, Freedman L, Livneh Z. Reduced repair of the oxidative 8-oxoguanine DNA damage and risk of head and neck cancer. *Cancer Res* 2006;66:11683-9.
41. Collini M, Caccia M, Chirico G, Barone F, Dogliotti E, Mazzei F. Two-photon fluorescence cross-correlation spectroscopy as a potential tool for high-throughput screening of DNA repair activity. *Nucleic Acids Res* 2005;33:e165.
42. Terasaka S, Aita Y, Inoue A, Hayashi S, Nishigaki M, Aoyagi K, Sasaki H, Wada-Kiyama Y, Sakuma Y, Akaba S. *et al.* Using a customized DNA microarray for expression profiling of the estrogen-responsive genes to evaluate estrogen activity among natural estrogens and industrial chemicals. *Environ Health Perspect* 2004;112:773-81.
43. Dressman HK, Muramoto GG, Chao NJ, Meadows S, Marshall D, Ginsburg GS, Nevins JR, Chute JP. Gene expression signatures that predict radiation exposure in mice and humans. *PLoS Med* 2007;4:e106.
44. Wild CP. Complementing the genome with an "exposome": the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1847-50.

SEZIONE 3

Aspetti statistici degli studi sui siti inquinati

USO DELL'INDICE DI DEPRIVAZIONE MATERIALE IN EPIDEMIOLOGIA DESCRITTIVA

Laura Grisotto (a, b), Dolores Catelan (a, b), Corrado Lagazio (c), Annibale Biggeri (a, b)

(a) Dipartimento di Statistica "G. Parenti" Università degli studi di Firenze,

(b) Unità di Biostatistica, CSPO Centro per lo Studio e la Prevenzione Oncologica, Firenze

(c) Dipartimento di Scienze Statistiche, Università degli Studi di Udine

Introduzione

In epidemiologia descrittiva l'indice di deprivazione materiale è stato usato insieme con altre variabili socio-economiche, indicatori di reddito o classe sociale, indicatori di scolarità, per documentare l'ampiezza dei differenziali sociali di mortalità, prevalenza o incidenza di malattia. In tale applicazione si discute del valore dell'indice e delle sue componenti, di solito appartenenti agli ambiti della capacità personale, sociale e materiale. Ad esempio in Tabella 1 sono riportati i tassi di ricovero 1997-2000 per livello di deprivazione materiale a livello individuale tratti dallo Studio Longitudinale Toscano (1), Coorte Censuarie 1991 di Firenze.

Tabella 1. Ricoveri totali 1997-2000, tassi grezzi di ricovero (x 1000), rischi relativi* (rif.: Indice 0) con limiti di confidenza al 95% per genere e classe di età

| | Indice di deprivazione | | | | | |
|---------------------------------|------------------------|-----------|--------------|----------|-----------|--------------|
| | Uomini | | | Donne | | |
| | Indice 0 | Indice 1 | Indice 2 o + | Indice 0 | Indice 1 | Indice 2 o + |
| <i>Classe di età 18-59 anni</i> | | | | | | |
| ricoveri | 11.152 | 19.407 | 6.042 | 20.901 | 27.596 | 5.795 |
| tassi grezzi | 81,47 | 129,21 | 158,92 | 115,00 | 141,92 | 150,17 |
| rischi relativi | 1,00 | 1,34 | 1,76 | 1,00 | 1,17 | 1,28 |
| limiti conf. | Rif, | 1,3 – 1,4 | 1,6 – 1,9 | Rif, | 1,1 – 1,2 | 1,2 – 1,3 |
| <i>Classe di età 60-74 anni</i> | | | | | | |
| ricoveri | 6.119 | 19.727 | 2.323 | 5.540 | 30.732 | 2.267 |
| tassi grezzi | 321,14 | 374,25 | 386,06 | 227,82 | 271,63 | 301,35 |
| rischi relativi | 1,00 | 1,16 | 1,22 | 1,00 | 1,17 | 1,31 |
| limiti conf. | Rif, | 1,1 – 1,2 | 1,1 – 1,3 | Rif, | 1,1 – 1,2 | 1,2 – 1,4 |

* I rischi relativi sono aggiustati per età

La deprivazione è qui la somma a livello di ciascun individuo censito del numero di condizioni di svantaggio.

L'indice sopra descritto ha anche altri utilizzi. In epidemiologia ambientale è stato dimostrato come la popolazione in condizioni socio-economiche svantaggiate tende a vivere in vicinanza di fonti potenziali di emissione di sostanze nocive o in aree dove la pressione ambientale è maggiore, a causa di fattori molteplici, quali la prossimità ai luoghi di lavoro, la disponibilità o il costo delle abitazioni. In Tabella 2 è riportata, a titolo esemplificativo, la

distribuzione della popolazione per livello di deprivazione materiale e distanza da una potenziale sorgente di inquinamento (Prato 1997) (2).

Tabella 2. Distribuzione della popolazione maschile per livello di deprivazione materiale e distanza da un impianto di incenerimento di scorie

| Distanza dall'impianto (km) | Indice di deprivazione | | | | | | Totale | |
|--------------------------------|------------------------|------|--------|------|--------|------|--------|-------|
| | basso | | medio | | alto | | N. | % |
| | N. | % | N. | % | N. | % | | |
| <=1,49 | 677 | 17,6 | 1.283 | 33,4 | 1.882 | 49,0 | 3.842 | 100,0 |
| 1,5-3,49 | 7.922 | 33,2 | 7.154 | 30,0 | 8.782 | 36,8 | 23.858 | 100,0 |
| 3,5-4,49 | 5.051 | 28,9 | 6.007 | 34,4 | 6.410 | 36,7 | 17.468 | 100,0 |
| >=4,50 | 13.299 | 37,1 | 11.260 | 31,5 | 11.241 | 31,4 | 35.800 | 100,0 |
| Totale | 26.949 | 33,3 | 25.704 | 31,7 | 28.315 | 35,0 | 80.968 | 100,0 |

Entro 1,5 km la percentuale di soggetti con alto livello di deprivazione è pari a circa il 50% mentre se consideriamo le residenze oltre i 4,5 km dalla sorgente la percentuale è intorno al 30%. Nello studio degli effetti sulla salute delle esposizioni ambientali il livello socio-economico, come riassunto dall'indice di deprivazione, si comporta pertanto come un fattore di confondimento (è associato alla malattia, è associato alla esposizione in studio) (3).

Il livello socio-economico o la deprivazione materiale esercitano il loro effetto sulla genesi delle malattie in modo mediato. Non discuteremo oltre questo punto, ma ricordiamo come la rete causale in gioco coinvolge sia le abitudini di vita, ad esempio fumo di sigaretta e dieta, che le esposizioni lavorative. L'eventuale aggiustamento per condizione socio-economica o per deprivazione materiale nelle analisi di epidemiologia ambientale ha lo scopo di controllare queste due importanti fonti di confondimento, anche se in modo indiretto e quindi imperfetto (4).

L'esigenza di tener conto di questa potenziale distorsione era molto avvertita negli studi di epidemiologia occupazionale. La mortalità delle coorti degli esposti, assemblate storicamente, è stata comparata sia con standard nazionali che locali. L'uso degli standard locali era giustificato dal rilievo di forti gradienti entro la nazione dei rischi di morte per causa e dall'assunto che le abitudini di vita fossero simili a quelle della coorte in studio nella presunzione che i suoi membri provenissero prevalentemente da un ambito locale (5).

La popolazione locale è quindi usata in modo alternativo all'aggiustamento per deprivazione materiale. In generale perché non è disponibile un indice di deprivazione materiale e un profilo di tassi di riferimento specifici per livello di deprivazione (si veda ad esempio il rapporto dell'Osservatorio epidemiologico della Regione siciliana, 6). Questa soluzione è però molto arbitraria, poiché lascia aperta la questione di definire cosa si intenda per popolazione di riferimento locale. Abbiamo così diverse proposte: un cerchio centrato sull'area in studio e di dimensioni prefissate (7), la provincia di appartenenza (8), la Regione (9). Ciascuna delle opzioni ha i suoi pro e contro. Tuttavia la ricerca epidemiologia su temi ambientali ha ormai adottato come standard l'aggiustamento per deprivazione materiale in tutte le analisi descrittive, e come tale la ritroviamo sempre ad accompagnare eventuali standardizzazioni locali (come in 7, 8, 9).

Il presente contributo ha lo scopo di raccomandare la standardizzazione per deprivazione materiale negli studi di epidemiologia ambientale. Esso è così strutturato: nel paragrafo seguente sono spiegati e motivati i metodi usati per la costruzione dell'indice di deprivazione e per il confronto tra tassi o rapporti tra tassi standardizzati su popolazioni locali o standardizzati per deprivazione materiale; nel paragrafo 3 sono presentati esempi dal rapporto sulle aree a rischio della Regione Sardegna (9). Seguono infine la Discussione e le Conclusioni.

Abbiamo anche inserito due Allegati che mostrano in modo schematico il calcolo dell'indice di deprivazione materiale e la procedura di standardizzazione.

Obiettivo del lavoro

Mostrare l'uso della standardizzazione per deprivazione materiale negli studi di epidemiologia descrittiva con valore di sorveglianza ambientale.

Materiali e metodi

I dati provengono dal Rapporto sulle aree a rischio della Regione Sardegna (9). Si riferiscono ai certificati di causa di morte ISTAT per il ventennio 1981-2001 e alle schede di dimissione ospedaliera per il periodo 2001-2003.

L'indice di deprivazione materiale è stato costruito sulla base di alcune variabili disponibili a livello comunale al censimento del 1991 (10). In particolare le variabili considerate per definire l'ambiente sociale sono state:

- l'istruzione: percentuale di analfabeti, alfabeti o con licenza elementare sulla popolazione con più di 6 anni;
- la condizione professionale: percentuale di disoccupati sulla popolazione attiva;
- l'indice di affollamento: numero di occupanti per stanza.

L'indice di deprivazione materiale per tutti Comuni della Regione Sardegna è stato costruito come somma dei punteggi z per ciascuna delle 3 variabili (vedi Allegato 1).

È stato considerato anche un indice di deprivazione sociale aggiungendo alle tre precedenti variabili anche la tipologia familiare (percentuale di famiglie con 5 o più componenti). Questo indice non è poi stato usato per semplicità e perché lo scopo è quello dell'aggiustamento nelle analisi di epidemiologia ambientale piuttosto che lo studio degli effetti delle condizioni sociali ed economiche (9).

L'indice prodotto è diverso dall'indice di Cadum (11) in quanto non sono considerate le caratteristiche dell'abitazione come indicatori di reddito. Si è ritenuto che esse potrebbero andar bene in altre realtà nazionali, ma non sono indicatori appropriati in realtà ancora caratterizzate da intense attività di tipo agricolo-pastorale come la Regione Sardegna. Il risultato di un indice che include le caratteristiche dell'abitazione è un indice che assegna livelli medi di deprivazione alle grandi aree urbane dell'isola, la Gallura, l'area di Macomer e il medio Campidano, che invece hanno i redditi più alti (9).

La somma di punti z per ciascuna delle variabili considerate nella costruzione dell'indice serve perché: 1) standardizzando si toglie l'unità di misura e quindi le variabili sono confrontabili tra loro; 2) facendo la somma semplice non pesata, si assegna la stessa importanza a ciascuna delle variabili. Tale procedura permette di essere riprodotta facilmente in occasioni successive o in contesti differenti. Le componenti in gioco sono poche e con forte validità di costruito, cioè si considerano variabili che hanno una forte interpretazione o valenza socio-economica. In tal modo si privilegia la specificità a scapito della sensibilità. Questa strategia è coerente quando si conduce uno studio epidemiologico e siamo preoccupati dagli eventuali falsi positivi. Dato che le aree a forte pressione ambientale potrebbero avere alti livelli di deprivazione materiale (2,4) è importante non includere nell'insieme delle aree deprivate che costituisce la popolazione di riferimento aree che non sono deprivate (falsi positivi).

L'aggiustamento per deprivazione materiale è fatto calcolando gli eventi attesi sulla base di una popolazione di riferimento con livello di deprivazione simile. Questa popolazione è di solito ottenuta aggregando le aree nello stesso quintile di deprivazione. È una strategia semplice, facilmente riproducibile e che non richiede dati su base individuale (4). In contesi particolari come gli studi longitudinali si può avere il dato sul singolo soggetto, ma sono eccezioni (1). Studi semi-individuali (12) usano a volte dati per micro-aree come le sezioni censuarie (13). In questo caso si potrebbe anche aggiustare per deprivazione materiale usando un modello di regressione di Poisson (14, 15). Tuttavia l'uso di modelli di regressione non è immune da difficoltà e possibili distorsioni quando la variabile di risposta è un tasso o rapporto tra tassi standardizzato per età mentre le covariate non lo sono (16).

Metodi per il confronto con standard locali

Quando si confrontano due misure della stessa quantità il coefficiente di correlazione di Pearson può essere fuorviante (17). Questo perché la correlazione non è influenzata da cambiamenti della media dei valori di una delle due misure, cioè la correlazione tra Y e X è la stessa della correlazione tra Y e $(X+k)$, dove k è una costante arbitraria. La correlazione tra rapporti standardizzati (SMR) su una popolazione locale, o standardizzati per deprivazione materiale, può perciò essere alta anche nel caso in cui ad esempio gli SMR aggiustati per deprivazione fossero sistematicamente più vicini al valore nullo.

Nel Rapporto sulle aree a rischio della Regione Sardegna (9) abbiamo quindi utilizzato in aggiunta al coefficiente di correlazione di Pearson, anche il coefficiente di concordanza di Lin (18). Questa statistica è simile alla precedente ma tiene conto della differenza tra le medie delle due distribuzioni. L'interpretazione del coefficiente di Lin è rispetto alla bisettrice: se le due variabili (Y e X) misurano la stessa quantità allora ci aspettiamo che i punti siano allineati lungo la retta di pendenza unitaria e intercetta nell'origine. Il coefficiente misura appunto la distanza dei punti dalla bisettrice.

Nei diagrammi di dispersione che riportano SMR locali e aggiustati per deprivazione materiale abbiamo riportato la bisettrice e la retta di regressione sull'asse maggiore (RMA, 19). Questa retta ha una pendenza data dal rapporto tra le due deviazioni standard e quindi è appropriata per esprimere l'attenuazione o l'accentuazione della variabilità tra le osservazioni a seconda dell'indicatore usato.

Infine le differenze tra i due SMR: abbiamo riportato un grafico con la differenza in ordinata e la media in ascissa (20). Sono indicati anche i limiti di concordanza al 95% (dati da $\pm 1,96$ volte la deviazione standard delle differenze) che sono utili per identificare le malattie per le quali gli SMR hanno differenze maggiori.

Risultati

La standardizzazione per deprivazione materiale è in generale migliore della standardizzazione su popolazioni locali perché non dipende dalla arbitraria definizione di cosa si intende per "locale". Inoltre si tenga presente che questa definizione dipende dalle malattie esaminate, e quindi una scelta ottimale non è facilmente gestibile negli studi di tipo esplorativo che prendono contemporaneamente in considerazione l'intero profilo di salute di una popolazione esposta.

Prendendo come esemplificazione i risultati del rapporto sulle aree a rischio della Regione Sardegna (Tabella 3) (9) osserviamo che gli SMR aggiustati per deprivazione materiale sono

mediamente più piccoli, compresi verso il valore nullo di 100, sia rispetto agli SMR su standard regionale che locale (definito come il cerchio di raggio tale da includere almeno 50 Comuni vicini all'area in studio). In Tabella 3 sono riportati i coefficienti di correlazione (Pearson) e concordanza (Lin) per gli SMR (sulla trasformata logaritmica) relativi alle 367 cause di morte indagate.

Tabella 3. Coefficiente di correlazione e coefficiente di concordanza tra SMR aggiustati per deprivazione e SMR con standard regionale o locale (aree a rischio della Regione Sardegna)

| Riferimento | Correlazione (Pearson) | | Concordanza (Lin) | |
|------------------|------------------------|--------------|-------------------|--------------|
| | Locale (cerchio) | Deprivazione | Locale (cerchio) | Deprivazione |
| Regione | 0,850 | 0,958 | 0,812 | 0,948 |
| Locale (cerchio) | | 0,859 | | 0,849 |

Come detto, la concordanza è inferiore alla correlazione per effetto della leggera differenza in media. Questa è maggiore se consideriamo l'aggiustamento con popolazione locale rispetto a quello con popolazione regionale, un risultato che solleverebbe la questione di un eventuale *overmatching*.

La Figura 1 mostra, sempre su scala logaritmica, i diagrammi di dispersione per gli SMR regionali, locali e aggiustati per deprivazione.

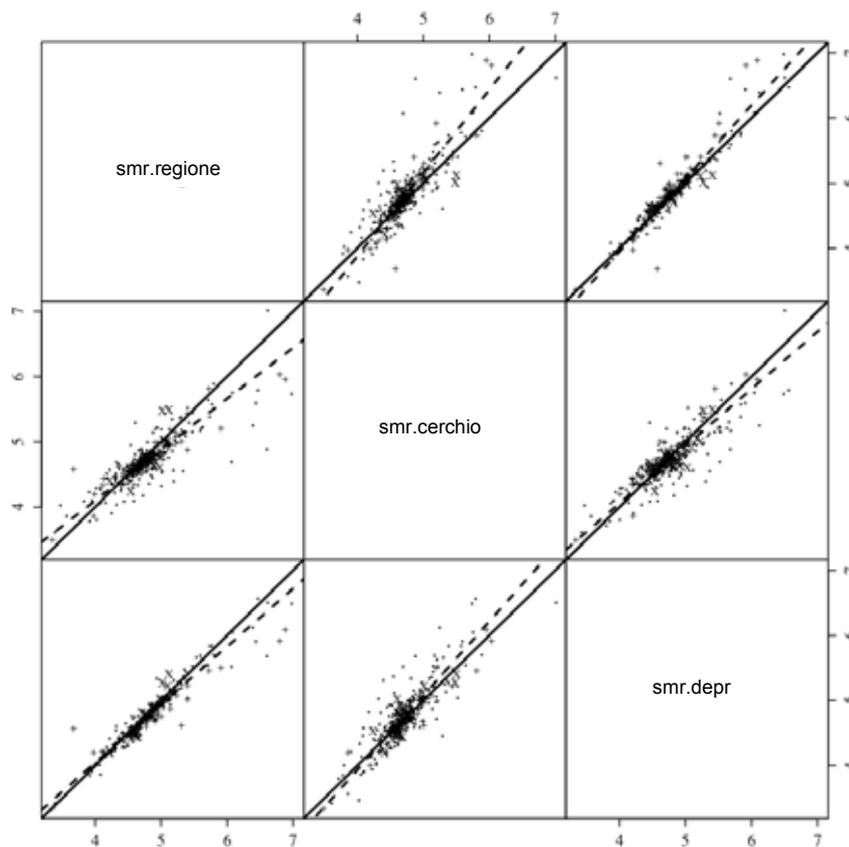


Figura 1. Diagramma di dispersione tra SMR aggiustati per deprivazione e SMR con standard regionale o locale (scala logaritmica); in continuo è indicata la retta di perfetta concordanza e in tratteggio la retta RMA (aree a rischio della Regione Sardegna)

È evidente la maggior coerenza tra SMR aggiustati per deprivazione e SMR con standard regionale, anche se questo risultato non è generalizzabile ad altri contesti. È interessante notare come la retta RMA (in tratteggio) mostra una maggiore omogeneità degli SMR con aggiustamento per deprivazione materiale e con standard locale rispetto agli SMR con standard regionale. Per leggere questo risultato si ricordi che la retta RMA è data dal rapporto delle deviazioni standard Y (ordinata) su X (ascissa): pertanto è sopra la bisettrice (la retta di perfetta concordanza, in continuo nella Figura 1) quando la variabile sulle ascisse ha una deviazione standard minore della variabile sulle ordinate. I risultati sono coerenti con l'ipotesi che l'aggiustamento per deprivazione materiale rimuove parte della variabilità tra SMR che invece resta quando si aggiusta sullo standard regionale. Inoltre sono coerenti con l'ipotesi di un eccessivo appiattimento delle differenze quando si usi uno standard locale. Nella Figura 1 sono segnati con il simbolo + i punti relativi alle cause di morte per le quali c'è significatività sull'SMR con standard regionale mentre non c'è con l'aggiustamento per deprivazione materiale; con il simbolo X quando è significativo il confronto con l'SMR aggiustato per deprivazione materiale ma non con lo standard regionale. La sproporzione a vantaggio dei + indica come l'uso dello standard regionale porti a dichiarare significativi degli SMR che sono spiegati da differenze di deprivazione materiale. Vi sono tuttavia situazioni in cui l'aggiustamento per deprivazione svela differenze che non sarebbero altrimenti rilevate (le X: un esempio la mortalità per il tumore del polmone negli uomini per gli anni 1997-2001 nell'area di Portoscuso ha SMR con standard regionale di 110 con un intervallo di confidenza al 95% di 95-127 mentre l'SMR aggiustato per deprivazione materiale è pari a 124 con un intervallo al 95% di 107-143).

La Figura 2 mostra il grafico di Bland e Altman (20), in ordinata la differenza (su scala logaritmica) e in ascissa la media (sempre su scala logaritmica) tra SMR con standard regionale e SMR aggiustato per deprivazione materiale.

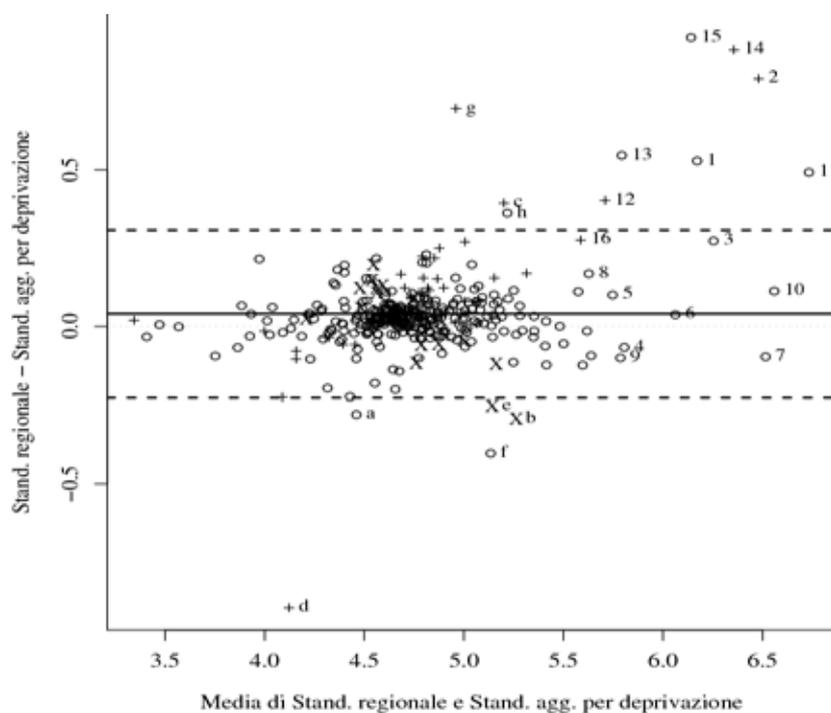


Figura 2. Diagramma di Bland e Altman (20). SMR aggiustati per deprivazione e SMR con standard regionale (scala logaritmica). In continuo è indicata la differenza media e in tratteggio i limiti di concordanza al 95% (aree a rischio della Regione Sardegna)

Si nota una certa relazione, le differenze tendono ad essere maggiori e positive quando gli SMR sono più grandi (cioè SMR largamente in eccesso sono ridotti in misura maggiore dall'aggiustamento per deprivazione materiale). La media delle differenze non è zero, ma è leggermente positiva ad indicare che l'aggiustamento per deprivazione materiale porta complessivamente ad una riduzione degli SMR verso il valore nullo. Poche le variazioni eclatanti (15 su 367 nel nostro esempio, il 4%). Quando gli SMR con standard regionale hanno valori molto alti, superiori a 300 indicati con numeri in Figura 2, vengono mantenuti con valori alti anche se a volte molto ridotti (ad esempio passando da 600 a 300; si veda la Tabella 4).

Tabella 4. Cause di morte per le quali si hanno maggiori discrepanze tra SMR con standard regionale e SMR aggiustato per deprivazione (aree a rischio della Regione Sardegna)

| Area | Sesso | Cause di morte | SMR | | | p-valore* | | |
|------|-------|------------------------------------|---------|---------|---------|-----------|---------|-----------|
| | | | Regione | Depriv. | Locale | Regione | Depriv. | |
| Ind1 | M | Pneumoconiosi | 623,98 | 367,62 | 268,14 | sì | sì | 1 |
| Ind1 | F | Pneumoconiosi | 969,39 | 438,50 | 384,61 | sì | no | 2 |
| Ind2 | M | Pneumoconiosi | 596,08 | 453,56 | 190,15 | sì | sì | 3 |
| Ind3 | M | Tumore maligno pleura | 321,27 | 343,52 | 263,16 | sì | sì | 4 |
| Ind3 | F | Melanoma | 329,36 | 297,92 | 360,36 | sì | sì | 5 |
| ind6 | M | Tumore maligno pleura | 437,43 | 421,36 | 315,79 | sì | sì | 6 |
| ind7 | M | Tumore tiroide | 643,38 | 708,93 | 327,87 | sì | sì | 7 |
| ind7 | F | Tumore tiroide | 302,43 | 255,56 | 281,69 | no | no | 8 |
| ind8 | M | Sintomi segni e stati morbosi m..d | 309,86 | 342,65 | 217,79 | sì | sì | 9 |
| mil2 | M | Tumore maligno pleura | 746,28 | 666,76 | 1111,11 | sì | sì | 10 |
| min1 | M | Pneumoconiosi | 1073,84 | 656,30 | 310,28 | sì | sì | 11 |
| min2 | M | Tumore maligno pleura | 368,31 | 246,46 | 180,50 | sì | no | 12 |
| min2 | M | Pneumoconiosi | 431,29 | 249,66 | 109,31 | sì | sì | 13 |
| min2 | M | Tumore testicolo | 897,33 | 370,35 | 416,67 | sì | no | 14 |
| min2 | F | Pneumoconiosi | 737,01 | 292,72 | 131,58 | no | no | 15 |
| oris | M | Melanoma | 306,52 | 232,30 | 333,33 | sì | no | 16 |
| ind2 | F | Tumore trachea bronchi e polmoni | 75,26 | 99,52 | 108,70 | no | no | 1 |
| ind4 | M | Pneumoconiosi | 166,74 | 223,48 | 244,50 | no | sì | 2 |
| mil1 | M | Pneumoconiosi | 221,07 | 149,07 | 128,87 | sì | no | 3 |
| mil1 | M | Malattie apparato respiratorio | 39,43 | 96,49 | 97,29 | sì | no | 4 |
| mil3 | M | Pneumoconiosi | 150,86 | 194,32 | 241,16 | no | sì | 5 |
| mil3 | F | Malattie apparato digerente | 138,89 | 207,76 | 123,10 | sì | sì | 6 |
| min2 | F | Sintomi segni e stati morbosi m.d. | 202,20 | 100,78 | 149,78 | sì | no | 7 |
| min2 | F | Tumore maligno pleura | 221,36 | 154,08 | 250,00 | no | no | 8 |

* p-valore sì: significativo al 10%, no: non significativo al 10%

Sono queste situazioni di poca importanza, visto che non influenzano più di tanto la decisione finale. Invece alcune situazioni mostrano un cambiamento importante nelle stime passando agli SMR aggiustati per deprivazione (le lettere in Figura 2 e i numeri in corsivo in Tabella 4). Lasciamo al lettore il gusto di altre scoperte nell'esempio riportato.

Discussione

È giusto pensare che l'aggiustamento per deprivazione materiale sia migliore dell'uso di confronti locali? Ammesso che la deprivazione materiale sia una buona approssimazione alle variabili socio-economiche e quindi all'insieme di fattori legati allo stile di vita e alle

esposizioni lavorative, la risposta è affermativa. Su questo punto è utile richiamare la letteratura riportata in introduzione (3,4). Da un punto di vista empirico gli esempi riportati nel paragrafo dei risultati mostrano il differente ruolo giocato per alcune cause, a ulteriore conferma della bontà dell'indicazione all'uso di indici standardizzati per deprivazione materiale.

La procedura seguita è quella di una standardizzazione "ecologica". Sarebbe possibile usare dati relativi alla distribuzione congiunta età-deprivazione materiale entro area? In tal caso potremmo costruire una vera popolazione di riferimento con livelli omogenei di deprivazione materiale, analogamente a quanto facciamo con gli studi longitudinali su base individuale (le coorti censuarie dello studio torinese e toscano (1)). Difficoltà pratiche e vincoli di riservatezza statistica sono attualmente insormontabili nel nostro paese.

L'indice di deprivazione è costruito a partire da variabili socio-economiche. In genere si usano le variabili rilevate dal censimento della popolazione, ma non si possono escludere altre fonti informative (21). In molte situazioni si usano indici già calcolati e resi disponibili da Istituti pubblici o centri di ricerca (11) oppure si procede alla loro costruzione nell'ambito di uno specifico studio epidemiologico (22). La tendenza attuale è quella di cercare sempre più di integrare fonti differenti usando anche sistemi geografici di gestione delle informazioni, specialmente quando si desidera scendere ad un livello di aggregazione spaziale molto fine (23).

Conclusioni e raccomandazioni

La concordanza tra SMR con standard locali (nel nostro esempio il cerchio di raggio tale da includere almeno 50 Comuni, 9) e SMR aggiustati per deprivazione materiale non è alta. La prima conclusione è pertanto che è falso pensare che stringendo il raggio si migliora l'aggiustamento. Nel nostro esempio è molto più frequente che lo standard regionale sia in accordo con l'aggiustamento per deprivazione materiale. L'uso di popolazioni locali è perciò da sconsigliare, non porta ad una maggiore accuratezza e certamente aumenta l'imprecisione delle stime.

Ci sono esempi importanti di discrepanza tra SMR con standard regionale e SMR aggiustati per deprivazione materiale. Non possiamo pensare di adottare standard (regionali-locali) soddisfacenti. L'adozione di standard regionali può portare ad inferenze molto inaccurate. Si ricordi nel rapporto sulle aree a rischio della Regione Sardegna (9) il caso del tumore polmonare a Portoscuso, che risulta significativo solo aggiustando per deprivazione materiale.

Le raccomandazioni sono pertanto stringenti: nelle indagini di epidemiologia ambientale si deve standardizzare per deprivazione materiale ogni indicatore di rischio di malattia (tassi, rapporti tra tassi e altro). Le indicazioni pratiche sono riportate nei due Allegati.

Allegato 1 - Come si calcola l'indice?

a) Scelta della Popolazione

In generale quando si calcola l'indice di deprivazione per studi di epidemiologia ambientale la popolazione di riferimento è definita su base geografica ad esempio l'intera nazione o la Regione entro cui si trova l'area o il gruppo di popolazione potenzialmente esposta ad inquinanti ambientali. Le unità statistiche migliori sono naturalmente gli individui appartenenti alla popolazione tuttavia non sempre sono disponibili i dati individuali. Più spesso si dispone di dati aggregati ad esempio per sezione di censimento o per Comune.

b) I Dati

I dati ISTAT generalmente usati per il calcolo dell'indice sono i dati censuari. Per ragioni di confidenzialità l'ISTAT limita il dettaglio territoriale, nel migliore dei casi è il Comune.

Le informazioni estrapolate dal questionario del censimento riguardano:

- popolazione residente, classificata per genere, età, stato civile, istruzione, occupazione, ecc.;
- abitazioni ed edifici, classificati per disponibilità e tipo di servizi, per epoca di costruzione, ecc.;
- popolazione straniera, classificata per paese di provenienza, ecc.

Alcune di queste informazioni sono disponibili sul sito <http://dawinci.istat.it/>.

Non è necessario avere i dati più recenti (ad esempio del 2001). Infatti in molte indagini si hanno dati di mortalità o ricovero ospedaliero per anni precedenti e spesso è importante tener conto dei tempi di latenza. In molti esempi si hanno dati desunti dai censimenti del 1991 o addirittura anteriori per analisi relative a eventi sanitari registrati negli anni novanta.

c) Scelta delle variabili

L'indice di deprivazione è per definizione un indice composito cioè è il risultato del contributo indipendente di diversi svantaggi socio-economici. Si parla in genere della mancanza di capacità personale, sociale e materiale.

La scelta delle variabili può quindi essere mirata, cioè si scelgono, ad esempio, tre variabili che sappiamo appartenere a queste componenti, come, per la capacità personale la percentuale di persone poco istruite, per la capacità sociale il tasso di disoccupazione, per quella materiale la proporzione di abitazioni senza acqua calda corrente.

In alternativa alla scelta soggettiva delle variabili si può decidere di utilizzare tecniche statistiche di classificazione e sintesi automatica dell'informazione. Nella fattispecie si possono utilizzare alcune delle tecniche di analisi multivariata come l'analisi delle componenti principali. I risultati di queste analisi permettono di identificare quali variabili maggiormente spiegano le differenze osservate tra le unità statistiche.

d) Calcolo dell'indice

Una volta individuate le variabili si procede al calcolo dei punteggi Z per ogni variabile.

$$Z_{ik} = \frac{x_{ik} - \mu_k}{\sigma_k}$$

Dove:

x_{ik} è il valore osservato nell' i -esima unità (ad esempio il Comune) della k -esima variabile;

μ_k è la media della k -esima variabile;

σ_k è lo scarto quadratico medio della k -esima variabile.

L'indice di deprivazione per l' i -esima unità (ad esempio il Comune) è:

$$ID_i = \sum_{k=1}^3 Z_{ik}$$

Allegato 2 - Come si standardizza per deprivazione

Supponiamo di voler ottenere l'SMR aggiustato per deprivazione per una determinata causa di morte per i Comuni di una Regione.

Precedentemente abbiamo calcolato o abbiamo ottenuto da altra fonte l'indice di deprivazione per tutti i Comuni della Regione di interesse.

Utilizziamo il metodo della standardizzazione indiretta interna.

a) Aggregazione dei Comuni

Per effettuare la standardizzazione è necessario avere i tassi di riferimento.

A questo scopo si calcolano i quintili della distribuzione dell'indice di deprivazione e si assegna ogni Comune al relativo livello di deprivazione. Successivamente si aggregano, per ciascuna classe di età e per ogni quintile di deprivazione materiale, i decessi e la popolazione dei Comuni. Si calcolano quindi i tassi specifici per età di tutti i Comuni appartenenti allo stesso quintile di deprivazione. Si hanno così una serie di tassi specifici per età per ciascun livello di deprivazione materiale.

b) Calcolo degli attesi:

Per ciascun *i*-esimo Comune appartenente all'area in studio, i casi attesi sono dati da:

$$ATTESI_{i(q)} = \sum_{j=1}^J tasso_{j,q} * casi_{j,i(q)}$$

Dove *i*=1,...,I denota il Comune; *j*=1,...,J denota la classe di età; *q*=1,...,5 il quintile di deprivazione materiale. La notazione *i*(*q*) indica che l'*i*-esimo Comune appartiene al *q*-esimo quintile di deprivazione materiale.

Per l'area in studio, nel caso in cui sia composta da più Comuni con differente livello di deprivazione materiale, gli attesi sono dati dalla somma degli attesi calcolati separatamente per ciascun Comune:

$$ATTESI_{area} = \sum_{i \in area} ATTESI_i$$

L'SMR aggiustato per deprivazione sarà dato dal rapporto tra i casi totali osservati nell'area in studio e i casi attesi così ottenuti.

In tal modo gli attesi provengono dalla somma di popolazioni di riferimento con proporzionalmente la stessa composizione per deprivazione materiale dell'area in studio.

Bibliografia

1. Biggeri A, Barchielli A, Geddes M, Pasqua A, Bianchini E. SLT Studio Longitudinale Toscano. *Condizione socio-economica e ricovero ospedaliero a Firenze. Informazioni Statistiche, Studi e Ricerche*. Firenze: Edizioni Regione Toscana; 2003.
2. Chellini E, Biggeri A, Cherubini M, Vannucchi G, Chetoni L, Seniori Costantini A. Respiratory cancer in a population resident in the neighbourhood of a sewage plant in Prato, Italy. *Arch Environ Health* 2002;57:548-53.
3. Carstairs V. Deprivation indices: their interpretation and use in relation to health. *J Epidemiol Community Health* 1995;49(S2):3-8.
4. Dolk H, Mertens B, Kleinschmidt I, Walls P, Shaddick G, Elliott P. A standardization approach to the control of socioeconomic confounding in small area studies of environment and health. *J Epidemiol Community Health* 1995;49(S2):9-14.
5. Pearce N, Checkoway H, Kriebel D. Bias in occupational epidemiology studies. *Occup Environ Med* 2007;64:562-8.
6. Fano V, Cernigliaro A, Scondotto S, Pollina Addario S, Caruso S, Mira A, Forastiere F, Perucci CA. *Stato di salute della popolazione residente nelle aree ad elevato rischio ambientale e nei siti di interesse nazionale della Sicilia. Regione siciliana, ESA*. Dipartimento di Epidemiologia ASL Roma/E; 2005.
7. Cislaghi C. *GIS8 Atlante italiano di mortalità 1981-2001. Versione 8*. Milano: Cilea; 2005.
8. Martuzzi M, Mitis F, Biggeri A, Terracini B, Bertollini R. Ambiente e stato di salute nella popolazione delle aree ad alto rischio di crisi ambientale in Italia. *Epidemiol Prev* 2002;26,Suppl.: 1-53.
9. Biggeri A, Lagazio C, Catelan D, Pirastu R, Casson F, Terracini B. Rapporto sullo stato di salute delle popolazioni residenti in aree interessate da poli industriali, minerari o militari della Regione Sardegna. *Epidemiol Prev* 2006;30,Suppl:1-96.
10. ISTAT. *14° Censimento generale della Popolazione e delle Abitazioni. Anno 1991*. Roma: Istituto Nazionale di Statistica; 2005.
11. Cadum E, Costa G, Biggeri A, Martuzzi M. Deprivazione e mortalità: un indice di deprivazione per l'analisi delle disuguaglianze su base geografica. *Epidemiol Prev* 1999;23:175-87.
12. Kunzli N, Tager IB. The semi-individual study in air pollution epidemiology: a valid design as compared to ecologic studies. *Environ Health Perspect* 1997;105:1078-83.
13. Elliott P, Wartenberg D. Spatial epidemiology: current approaches and future challenges. *Environ Health Perspect* 2004;112:998-1006.
14. Bithell JF, Dutton SJ, Neary NM, Vincent TJ. Controlling for socio-economic confounding using regression methods. *J Epidemiol Community Health* 1995;49(S2):15-9.
15. Morton-Jones T, Diggle P, Parker L, Dickinson HO, Binks K. Additive isotonic regression models in epidemiology. *Stat Med* 2000;19:849-59.
16. Rosenbaum PR, Rubin DB. Difficulties with regression analysis of age-adjusted rates. *Biometrics* 1984;40:437-43.
17. van Belle G, Fisher LD. *Biostatistics. A Methodology for the Health Sciences*. New York: John Wiley & Sons; 1996.
18. Lin L. A Concordance Correlation Coefficient to Evaluate Reproducibility. *Biometrics* 1989;45: 255-68.
19. Sokal RR, Rohlf FJ. *Biometry. 2nd edition*. New York: Freeman; 1981.
20. Bland JM, Altman DG. Measuring Agreement in Method Comparison Studies. *Stat Methods Med Res* 1999;8:135-60.

21. Caiazzo A, Cardano M, Cois E, Costa G, Marinacci C, Spadea T, Vannoni F, Venturini L. Disuguaglianze sociali e salute in Italia. *Epidemiol Prev* 2004;28(3 Suppl):1-161.
22. Cesaroni G, Agabiti N, Rosati R, Forastiere F, Perucci CA. Un indice di posizione socio-economica basato sul censimento del 2001 a Roma. *Epidemiol Prev* 2006;30:352-7.
23. Bell N, Schuurman N, Hayes MV. Using GIS-based methods of multicriteria analysis to construct socio-economic deprivation indices. *Int J Health Geogr* 2007;14:6-17.

SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA E IDENTIFICAZIONE DEGLI ECCESSI IN EPIDEMIOLOGIA DESCRITTIVA

Dolores Catelan (a, b), Annibale Biggeri (a, b)

(a) *Università degli studi di Firenze*

(b) *Unità di Biostatistica, CSPO, Centro per lo Studio e la Prevenzione Oncologica, Firenze*

Introduzione

Gli Atlanti di mortalità o di patologia così come molte indagini di epidemiologia descrittiva riportano lunghe liste di rischi relativi e i relativi test d'ipotesi volti a saggiare se vi sono scostamenti dalla media locale o nazionale.

Le liste possono essere per una data causa di morte o per una data malattia, relative alle aree o Comuni indagati, l'ipotesi quella di uno scostamento ad esempio dalla media regionale.

Oppure, per una data area o Comune, relative ad una serie abbastanza dettagliata di cause di morte o malattie, l'ipotesi quella dello scostamento da una popolazione di riferimento.

Nelle analisi geografiche condotte per scopi descrittivi e di sorveglianza epidemiologica il problema dei falsi positivi è stato trascurato (1).

La conseguenza è stata la scarsa coerenza dei rapporti epidemiologici, stante la forte variabilità dei risultati e la mancata riproducibilità in successive indagini degli eccessi o difetti segnalati (2).

La giustificazione fin qui adottata è stata quella di non penalizzare troppo la capacità di mettere in evidenza situazioni di rischio per la salute, tenendo conto che in indagini di Sanità Pubblica i falsi negativi potrebbero essere più importanti di eventuali falsi allarmi.

Anche in epidemiologia geografica sono stati discussi questi problemi e sono stati suggeriti intervalli di probabilità per le stime di rischio relativo al 90% o all'80% (3).

Vi sono infine aspetti legati alla comunicazione dell'incertezza. È noto come facile sia il fraintendimento nel riportare i valori di probabilità di errore di primo tipo (p-valori) (4). Non migliore la situazione con gli intervalli di confidenza, perché riposano sulla stessa filosofia e cioè sull'assunzione di uno spazio campionario dei risultati dello studio. Inoltre sono difficilmente compresi da non addetti ai lavori.

Due filosofie

La confusione nasce dal non aver riconosciuto che molte volte stiamo saggiando molte ipotesi nulle differenti anziché ripetendo molti test della stessa ipotesi nulla.

La necessità di una protezione globale rispetto all'errore di primo tipo (falsi positivi) si manifesta se la nostra decisione è ragionevole che sia compromessa quando almeno uno dei test saggiati lo sia. Ad esempio stiamo valutando se il fumo di sigaretta ha un effetto sull'asma bronchiale e suddividiamo la variabile numero di sigarette fumate in una serie di variabili fittizie per nessuna, 1-9, 10-19, 20+ sigarette/die. Ebbene tutti sanno che è scorretto valutare la significatività del test sulle singole variabili fittizie ma che occorre valutare globalmente

l'insieme delle variabili di classificazione. Nell'analisi della varianza questo corrisponde al test F di Fisher. Ritornando alle considerazioni iniziali considerare i singoli test sulle variabili che indicizzano il consumo di 1-9, 10-19 o 20+ sigarette/die rispetto alla categoria non fumatore significa ripetere sullo stesso campione una serie di test della stessa ipotesi, che il fumo non abbia effetto sull'esito in studio.

Questa è la situazione appropriata per la correzione per test multipli. Infatti la decisione di dichiarare vero un effetto del fumo è ragionevole che sia compromessa quando almeno uno dei test è falsamente significativo. Da qui la necessità di controllare globalmente la probabilità di errore di primo tipo, cioè controllare la probabilità di avere almeno un falso positivo. Nell'esempio porre $0.05=(1-\alpha)^k$ e risolvere per α (il livello di significatività per il singolo di k test multipli).

Non è sempre questa la situazione, tuttavia.

Supponiamo in uno studio di genomica funzionale di valutare la variazione di espressione di diecimila geni su due condizioni sperimentali (ad esempio esposti e non esposti). La nostra decisione è ragionevole che NON sia compromessa quando almeno uno dei geni saggiati è falsamente significativo. Ci aspettiamo un effetto su alcuni geni e non su altri e lo studio è chiaramente di natura esplorativa. Il significato dei test è profondamente diverso da gene a gene saggiato. Semplificando stiamo valutando simultaneamente ipotesi multiple. Un controllo globale dell'errore di primo tipo comprometterebbe gravemente la potenza dello studio. In queste circostanze è appropriato controllare il tasso di falsi positivi tra tutte le ipotesi nulle rifiutate (FDR: *false discovery rate*). Si rimanda a (5) per ulteriori approfondimenti.

Esempi

Presentiamo due esempi nei quali l'inferenza multipla in termini di FDR è più appropriata rispetto ad un approccio classico ai test multipli (FWER: *family-wise error rate*).

Il primo si rifà al rapporto sulle aree a rischio della Regione Sardegna (6). Il rapporto, richiesto nel 2005 dall'assessore alla sanità della Regione stessa, consiste in uno screening sullo stato di salute della popolazione residente in aree identificate a priori a rischio di pressione ambientale per la presenza di insediamenti industriali, minerari e militari. L'analisi ha riguardato anche le città. Nel complesso sono state considerate 18 aree, per un totale di 71 Comuni e una popolazione residente al censimento del 2001 di 917.977 unità (pari al 56% della popolazione totale della Regione). Per ogni area e separatamente per uomini e donne è stata effettuata l'analisi dei dati di mortalità per il periodo 1981-2001 e delle schede di dimissione ospedaliera per il periodo 2001-2003.

Varie elaborazioni sono incluse nel rapporto: un'analisi descrittiva per il periodo più recente di mortalità e per i dati di ricovero ospedaliero (11 indicatori, tra i quali tassi grezzi e standardizzati, rapporti standardizzati di mortalità SMR, SMR aggiustati per deprivazione materiale), un'analisi geografica (test di eterogeneità e rappresentazioni cartografiche di SMR, di stimatori bayesiani, e delle probabilità a posteriori di eccesso sulla media regionale), un'analisi temporale dei dati di mortalità per l'intero ventennio (1981-2001) e un'analisi per coorte di nascita (1904-1948).

Quello che preme sottolineare è che per ciascuna area e separatamente per uomini e donne, sono stati analizzati 36 codici di malattia per la mortalità e 48 per i ricoveri. I dati primari risultano perciò in 1512 stime di rischi relativi per ciascun sesso.

Siamo chiaramente in una situazione di grandi tabulazioni di stime (*large table*) (7, 8). Problemi di inferenza multipla nell'identificazione degli eccessi non possono essere ignorati!

Il secondo esempio rientra nell'ambito dell'epidemiologia descrittiva geografica. Lo studio riguarda la distribuzione del rischio di tumore polmonare in Toscana. Sono stati considerati i certificati di morte per tumore al polmone negli uomini residenti nei 287 Comuni della Regione nel periodo 1995-1999. I dati derivano dal registro di mortalità regionale. Un insieme di tassi di riferimento (Toscana, 1971-1999) è stato utilizzato per calcolare il numero di casi attesi nel periodo per ciascun Comune seguendo una standardizzazione interna indiretta e classificando la popolazione in 18 classi d'età (0-5;...;85 e più). Quali sono i Comuni a rischio significativamente diverso dalla media?

Siamo chiaramente in due contesti di inferenza multipla diversi: identificare le malattie in eccesso in un'area nel primo caso, identificare un insieme di aree in eccesso per la stessa malattia nel secondo. In entrambe le situazioni la nostra decisione, basata sull'insieme complessivo delle stime, non è inficiata se rifiutiamo erroneamente alcune ipotesi nulle. Ovvero, nel primo caso la definizione di un'area come ad alto rischio sulla base di, ad esempio, 10 malattie identificate in eccesso non è erranea se una di esse lo è stata dichiarata erroneamente (poiché altre 9 malattie lo sono). Nell'ambito del *Disease Mapping* le analisi effettuate hanno generalmente scopi di tipo esplorativo o per la formulazione di ipotesi e non mirano all'identificazione di singoli Comuni in eccesso sui quali poi prendere singole decisioni. Dichiarare erroneamente alcuni Comuni come a più elevato rischio rispetto all'area di riferimento non incide negativamente sui risultati dell'analisi descrittiva che mira ad evidenziare la presenza di eterogeneità di rischio nella Regione in esame.

In entrambi i casi è più appropriato controllare il numero di falsi positivi sul totale dei test dichiarati significativi (FDR) che non il FWER.

Metodi statistici: inferenza multipla

Assumiamo di voler effettuare m test d'ipotesi. La Tabella 1 definisce i possibili risultati dei test, dove m è assunto noto a priori e R , il numero di ipotesi rifiutate, è l'unica variabile casuale osservabile.

Tabella 1. Possibili risultati di m test d'ipotesi

| | Accetto H_0 | Rifiuto H_0 | |
|----------------|---------------|---------------|-----------|
| Vera H_0 | U | V | M_0 |
| Non vera H_0 | T | S | $m - m_0$ |
| | $m - R$ | R | m |

In un contesto di test multipli generalmente si controlla il tasso di errore ad un desiderato livello mantenendo la potenza di ciascun test il più possibile alta. La quantità comunemente controllata è il FWER (*Family-Wise Error Rate*) ovvero la probabilità di produrre uno o più falsi positivi fra tutte le ipotesi testate. Uno dei metodi più utilizzati è il metodo di Bonferroni (9) per cui, definito un livello di significatività α e dati m test d'ipotesi, ciascun test è controllato ad un livello α/m . Questo garantisce che la probabilità di un falso positivo sia al massimo pari ad α .

In termini più formali è possibile definire il FWER come:

$$\text{FWER} = \text{Prob}(V \geq 1).$$

Come affermato nell'introduzione vi sono situazioni in cui questa quantità non è di interesse. In questi casi è preferibile controllare la proporzione attesa di errori tra le ipotesi nulle rifiutate. Benjamini e Hochberg (5) hanno definito questa quantità *False Discovery Rate* (FDR). Seguendo le definizioni della Tabella 1

$$FDR = E\left[\frac{V}{R \cup 1}\right] = E\left[\frac{V}{R} \mid R > 0\right] \text{Prob}(R > 0)$$

dove E[.] indica l'operatore valore atteso. Il FDR è perciò il valore atteso del rapporto tra numero di ipotesi nulle falsamente rifiutate sul numero totale di ipotesi (nulle e non) rifiutate. L'operatore che indica l'unione di insiemi (\cup) al denominatore serve a garantire che $FDR=0$ quando nessuna ipotesi viene rifiutata. Il FDR può essere anche espresso come prodotto tra la probabilità di avere un rifiuto e il cosiddetto positive FDR. Storey (10) definisce infatti il positive *False Discovery Rate* (pFDR) come:

$$pFDR = E\left[\frac{V}{R} \mid R > 0\right]$$

dove il termine positivo deriva dal condizionamento all'occorrenza di almeno un risultato positivo (ovvero al rifiuto di almeno un'ipotesi).

Il pFDR può essere scritto come una probabilità bayesiana a posteriori, ha una connessione alla teoria della classificazione e può essere utilizzato per definire il q-valore, l'analogo bayesiano del p-valore. Inoltre, come sottolineano in (11), il pFDR utilizza l'informazione sulla $\text{Prob}(R>0)$ contenuta nei dati osservati, diversamente dal FDR risultando perciò più potente (si veda (12) per una discussione su FDR versus pFDR).

Sia, per un predefinito livello di significatività α , T nella Regione di rifiuto per H_0 . Possiamo definire il pFDR come:

$$pFRD = \Pr(H_0|T) = \frac{\pi_0 \Pr(T|H_0)}{\pi_0 \Pr(T|H_0) + \pi_1 \Pr(T|H_1)}$$

ovvero come una probabilità a posteriori bayesiana. Si noti come la probabilità di osservare quel valore T della statistica test è data dalla mistura della distribuzione sotto ipotesi nulla e sotto ipotesi alternativa, ovvero:

$$\Pr(T) = \pi_0 \Pr(T|H_0) + \pi_1 \Pr(T|H_1)$$

dove π_0 è la probabilità a priori che l'ipotesi nulla sia vera e $\pi_1=1-\pi_0$.

Se consideriamo la probabilità riferita ai valori uguali o più estremi di T_{obs} (valore osservato della statistica test, e relativamente all'insieme di m ipotesi saggate) abbiamo:

$$\begin{aligned} pFDR \{(T \geq T_{obs})\} &= \frac{\pi_0 \Pr(T \geq T_{obs} | H_0)}{\pi_0 \Pr(T \geq T_{obs} | H_0) + \pi_1 \Pr(T \geq T_{obs} | H_1)} \\ &= \text{Prob}(H_0 | T \geq T_{obs}) \end{aligned}$$

Tale probabilità a posteriori è definita q-valore:

$$q\text{-valore} = \text{Prob}(H_0 \mid T \geq T_{\text{obs}})$$

e rappresenta il corrispondente bayesiano del p-valore:

$$p\text{-valore} = \text{Prob}(T \geq T_{\text{obs}} \mid H_0)$$

In termini generali il p-valore è un'indicazione della forza della evidenza empirica contro l'ipotesi nulla (è il minimo errore del I tipo che si può commettere quando si rifiuta l'ipotesi nulla sulla base del valore osservato della statistica test T ; siamo in un contesto decisionale) mentre il q-valore è il minimo pFDR in cui si incorre quando si rifiuta l'ipotesi sulla base del valore osservato o valori più estremi della statistica test T . È una misura che tiene conto della molteplicità delle ipotesi saggiate e rappresenta quanto lontano ci siamo portati dall'ipotesi nulla alla luce dei dati osservati (siamo in un contesto valutativo). Diversamente dal p-valore, la probabilità sotto ipotesi alternativa entra in gioco (13).

Gli algoritmi per il calcolo di pFDR e del q-valore sono riportati in (11).

Risultati

Dal rapporto sulle aree a rischio della Regione Sardegna abbiamo estratto la Tabella 2 relativa alla mortalità negli uomini per il periodo 1997-2001 per l'area industriale di Portoscuso, area per la quale diverse malattie risultavano in eccesso. In Tabella 2 riportiamo il p-valore e il q-valore per le 11 malattie che sono statisticamente significative fissando un errore del I tipo del 10% per singolo test. Se controlliamo il FDR al livello del 10% sei malattie sarebbero dichiarate statisticamente significative. Va notato che mentre il p-valore è il minimo tasso di falsi positivi nel quale incorriamo dichiarando ciascun test significativo, il q-valore misura il minimo tasso di "scoperte" false, cioè tra tutti i test dichiarati significativi la percentuale di quelli che lo sono stati dichiarati erroneamente. Possiamo dire in altre parole che per l'area indagata delle 6 malattie dichiarate significative (secondo il q-valore) al massimo una di esse è un falso positivo, anche se non possiamo dire quale di esse sia.

Tabella 2. p-valore e q-valore; area industriale di Portoscuso, uomini, mortalità 1997-2001; in grassetto sono riportate le malattie per cui $FDR \leq 10\%$ (aree a rischio della Regione Sardegna)

| Causa di morte (ICD IX) | p-valore | q-valore |
|--|-------------------|-------------------|
| Pneumoconiosi | <0,0001 | <0,0001 |
| Diabete | 0,00166 | 0,0151 |
| Tumore della prostata | 0,00202 | 0,0151 |
| Tumore del polmone | 0,01180 | 0,0661 |
| Malattie acute dell'apparato respiratorio | 0,01505 | 0,0675 |
| Infarto del miocardio | 0,01848 | 0,0690 |
| Cirrosi epatica | 0,03451 | 0,1098 |
| Cause mal definite | 0,03918 | 0,1098 |
| Malattie croniche dell'apparato respiratorio | 0,04689 | 0,1116 |
| Melanoma | 0,04980 | 0,1116 |
| Tumore della laringe | 0,06508 | 0,1326 |

Passando al secondo esempio considerato, la distribuzione della mortalità comunale per tumore polmonare in Toscana, i rapporti standardizzati di mortalità (SMR) mostrano una certa struttura spaziale (Figura 1a) e un'alta variabilità (Figura 1b) suggerendo la presenza di aree a basso/altro rischio per la malattia indagata.

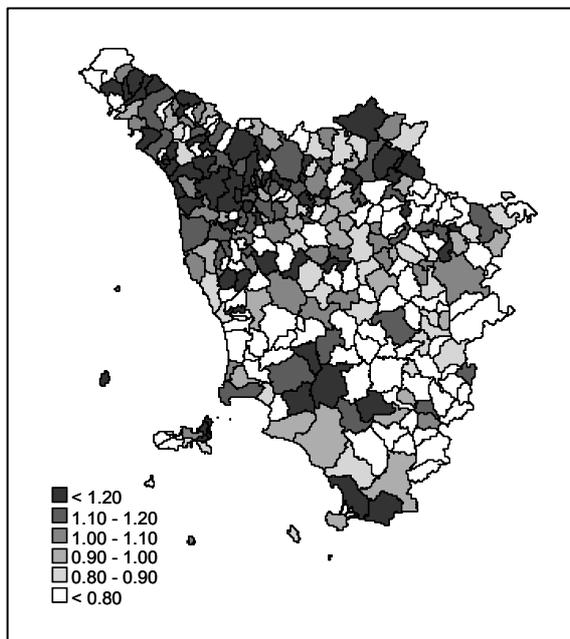


Figura1 a. Distribuzione spaziale del rischio relativo di mortalità (SMR) per tumore al polmone (Toscana, uomini, 1995-1999)

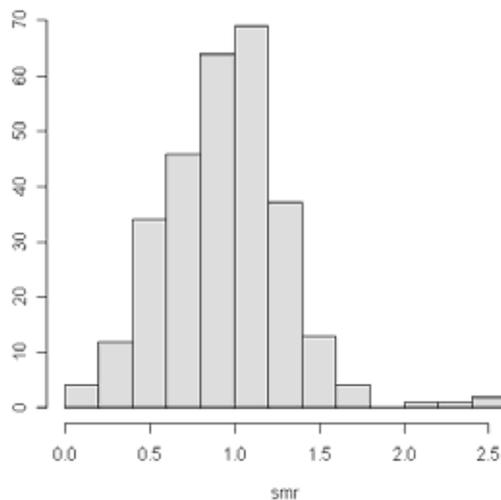


Figura1b. Istogramma dei rischi relativi di mortalità (SMR) per tumore al polmone (Toscana, uomini, 1995-1999)

In Tabella 3 abbiamo riportato p-valori e q-valori per un predefinito livello di FDR=20%. Solo 6 Comuni mostrano q-valori inferiori al 10% mentre i p-valori sono estremamente bassi e porterebbero ad un numero molto alto di falsi positivi.

Tabella 3. p-valore e q-valore; tumore al polmone; in grassetto sono riportati i Comuni per cui FDR ≤ 10% (Toscana, uomini, 1995-1999)

| Codice Comune | p-valore | q-valore |
|---------------|----------------|----------------|
| 46033 | 0,00000 | 0,00005 |
| 46005 | 0,00018 | 0,02482 |
| 45003 | 0,00061 | 0,04467 |
| 51020 | 0,00064 | 0,04467 |
| 46017 | 0,00094 | 0,05231 |
| 52035 | 0,00165 | 0,07657 |
| 47012 | 0,00324 | 0,12261 |
| 51001 | 0,00353 | 0,12261 |
| 48001 | 0,00412 | 0,12740 |
| 46002 | 0,00465 | 0,12925 |
| 52007 | 0,00648 | 0,16371 |

Discussione

Il calcolo del q-valore è relativamente semplice e si tratta essenzialmente di una procedura basata sui p-valori osservati, procedura che è indipendente dal modello utilizzato per ottenere i p-valori stessi (11).

Una nota va posta tuttavia sul calcolo dei p-valori in quanto non è sempre facile trovare p-valori che abbiano una copertura pari a quella nominale. Nel caso di dati di conteggio (casi o decessi osservati) la stima di massima verosimiglianza del rischio relativo è data dal rapporto tra osservati e attesi e p-valori esatti possono essere ottenuti direttamente dalla distribuzione di Poisson. Va notato che in alcuni casi i p-valori a una e due code possono coincidere (14).

La procedura che abbiamo introdotto non considera eventuale informazione relativa all'insieme locale o generale dei test condotti. Ad esempio in ambito geografico si potrebbe considerare l'informazione delle aree vicine nel condurre l'inferenza sul rischio relativo di un'area predefinita. Storey (15) propone una *Optimal Discovery Procedure* (ODP) come alternativa nel caso di osservazioni non indipendenti. L'ODP utilizza l'informazione derivante da tutti i test di ipotesi e determina la significatività del singolo test come media pesata dei p-valori di tutte le ipotesi testate (è uno stimatore *shrinkage*). La procedura, proposta dall'autore nell'ambito dell'analisi dei DNA *microarrays*, sfrutta la stessa idea dei modelli bayesiani e bayesiani empirici utilizzati nell'ambito del *Disease Mapping* per ottenere stime "lisciate" degli SMR grezzi (16, 17).

Una possibile alternativa è sviluppare un modello bayesiano gerarchico a tre livelli dal quale stimare la probabilità a posteriori per la singola area/malattia di appartenere all'insieme dell'ipotesi nulla o dell'ipotesi alternativa (18) e ottenere quindi un q-valore basato su un modello. Identificare le aree/malattie estreme tiene in considerazione in questo modo dell'informazione derivante da tutti i dati (19).

In letteratura altri approcci all'analisi epidemiologica di *large tables* sono presenti. Tra essi ricordiamo il QQ-plot di stime bayesiane empiriche con l'indicazione di *guide rails* (7, 8). L'approccio grafico è molto semplice e appropriato per accertare la presenza di pochi rischi relativi estremi ma potrebbe fallire in presenza di un alto numero di malattie alterate (entro area) o di aree alterate (per una data malattia) (19).

Conclusioni

La sorveglianza epidemiologica spaziale si basa su metodi di rappresentazione cartografica, sulla ricerca di aggregati di casi ed eventualmente su analisi mirate. Generalmente si controlla il tasso di errore con tecniche FWER (una discussione sulle alternative per migliorare la sensibilità è in (1)).

Abbiamo presentato due diverse esemplificazioni in cui problemi legati all'inferenza multipla sono presenti: valutare diverse malattie entro la stessa area (6) oppure la stessa malattia su diverse aree. Abbiamo considerato l'alternativa bayesiana al p-valore (il q-valore come riportato nella citazione bibliografica n. 11) per identificare le malattie o le aree in eccesso/difetto. La logica alla base del q-valore è più adatta nelle situazioni analizzate e permette una comunicazione del rischio più naturale.

Il programma per il calcolo dei p-valori esatti può essere richiesto agli autori.

Bibliografia

1. Rolka H, Burkom H, Cooper G, Kulldorff M, Madigan D, Wong WK. Issues in applied statistics for public health bioterrorism surveillance using multiple data streams: research need. *Stat Med* 2007;26:1834-56.
2. Elliott P, Wakefield JC, Best NG, Briggs, DJ. *Spatial Epidemiology: Methods and Applications*. Oxford: Oxford University Press; 2000.
3. Richardson S, Thomson A, Best N, Elliot P. Interpreting posterior relative risk estimates in disease mapping studies. *Environ Health Perspect* 2004;112(9):1016-25.
4. Sterne JAC, Davey Smith G. Shifting the evidence-what's wrong with significance tests? *BMJ* 2001;322:226-31.
5. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc B* 1995;57:289-300.
6. Biggeri A, Lagazio C, Catelan D, Pirastu R, Casson F, Terracini B. Ambiente e salute nelle aree a rischio della Sardegna. *Epidemiol Prev* 2006;30(Suppl 1):1-96.
7. Carpenter L, Maconochie NES, Roman E, Cox DR. Examining Associations Between Occupation and Health by using Routinely Collected data. *J R Stat Soc A* 1997;160:507-21.
8. Law G, Cox, Machonochie N, Simpson J, Roman E, Carpenter L. Large tables *Biostatistics* 2001;2:163-71.
9. Bonferroni C. Teoria statistica delle classi e calcolo delle probabilità. *Pubblicazioni del R. Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze*. 1936;8:3-62.
10. Storey J. The positive false discovery rate: a bayesian interpretation and the q-value. *Ann Statistics* 2003;31:2013-35.
11. Storey J. A direct approach to false discovery rates. *J R Stat Soc B* 2002;64:479-98.

12. Storey J, Tibshirani R. *Estimating false discovery rates under dependence, with applications to DNA microarrays.*, Technical Report, Stanford University; 2001.
13. Goodman SE. Of p-values and Bayes: A Modest Proposal. *Epidemiology* 2001;12(3):295-7.
14. Clayton D, Hills M. *Statistical Models in Epidemiology*. Oxford: Oxford Science Publication; 1993.
15. Storey J. The optimal discovery procedure: a new approach to simultaneous significance testing. *J R Stat Soc B* 2007:347-68.
16. Clayton DG, Kaldor J. Empirical Bayes estimates of age-standardized relative risks for use in disease mapping, *Biometrics* 1987;43:671-81.
17. Besag J, York JC, Mollié A. Bayesian image restoration, with two applications in spatial statistics (with discussion), *Annals of the Institute of Statistical Mathematics* 1991;43:1-59.
18. Efron B. *Local False Discovery Rates*. Technical Report, Dept. of Statistics, Stanford University; 2005. (20 B/234).
19. Biggeri A, Catelan D. Statistical approaches to environmental spatial surveillance. In: *Proceedings del convegno TIES*. Mikulov, Agosto 2007.

METANALISI ED ETEROGENEITÀ IN EPIDEMIOLOGIA AMBIENTALE

Michela Baccini (a, b), Annibale Biggeri (a, b)

(a) Dipartimento di Statistica "G. Parenti" Università degli studi di Firenze

(b) Unità di Biostatistica, CSPO, Centro per lo Studio e la Prevenzione Oncologica, Firenze

Introduzione

Numerosi studi epidemiologici sono concordi nel concludere che l'inquinamento atmosferico ha un effetto a breve termine sulla salute (1). Usualmente questi studi sono basati sull'analisi dell'associazione tra le variazioni giornaliere nel numero di eventi sanitari (decessi o ricoveri ospedalieri) e le variazioni giornaliere nella concentrazione atmosferica dei principali indicatori di inquinamento rilevati in ambito urbano (2).

Anche se gli eccessi di rischio stimati non sono elevati (per esempio, per il PM₁₀, incrementi di concentrazione dell'inquinante pari a 10 µg/m³ comportano variazioni percentuali nel numero di decessi nei giorni immediatamente successivi inferiori all'1%), il loro impatto sanitario può essere rilevante dato che tutta la popolazione è da considerarsi esposta al fattore di rischio.

Nel quantificare il fenomeno, non si può pertanto prescindere dalla valutazione del numero di eventi attribuibili ai livelli di concentrazioni rilevati o a livelli di concentrazione ipotetici ma che dipingono scenari realistici di riduzione o aumento dell'inquinamento atmosferico.

Ormai esercizi di calcolo dei decessi attribuibili all'inquinamento atmosferico sono pratica diffusa (3) e sempre più spesso vengono utilizzate per la valutazione di impatto stime di effetto già pubblicate nella letteratura epidemiologica (4). Di solito le stime prese in considerazione non provengono da studi effettuati su singole città, bensì da meta-analisi pianificate che coinvolgono un numero più o meno grande di centri.

Con il presente lavoro vogliamo sottolineare l'importanza di una corretta interpretazione delle meta-analisi pianificate riportate in letteratura e mettere in luce le criticità relative alla scelta delle stime di effetto da usare a fini della valutazione di impatto.

Per far questo riportiamo tre differenti riflessioni nate dalla lettura critica e dal confronto di alcuni risultati riportati in letteratura.

Oggetto del paragrafo 2 è il confronto tra i risultati delle due maggiori meta-analisi pubblicate a livello statunitense (5, 6) ed europeo (6, 7) e i risultati della meta-analisi italiana MISA2 (8). Questo confronto ci ha dato l'occasione di richiamare brevemente i problemi relativi all'uso dei modelli additivi generalizzati (GAM) per l'analisi di serie storiche epidemiologiche, venuti alla luce nel 2002, ma soprattutto di riflettere su alcuni aspetti di modellazione che possono in parte spiegare le discrepanze tra i risultati ottenuti.

Nel terzo paragrafo abbiamo invece affrontato, presentando alcuni esempi tratti dallo studio MISA2, la questione dell'eterogeneità degli effetti dell'inquinamento e dell'interpretazione e validità generale dei risultati meta-analitici in presenza di disomogeneità delle stime di effetto città-specifiche.

Un'occasione per ragionare ulteriormente su questi punti si è presentata con la recente meta-analisi pianificata di studi *case-crossover* condotta su 9 città italiane (studio SISTI-SYSTEM). La meta-analisi SYSTEM riporta stime dell'effetto a breve termine dell'inquinamento atmosferico che si discostano in modo non trascurabile da quelle del MISA 2, nonostante le città

coinvolte nei due studi siano, tranne poche eccezioni, le stesse. Nel paragrafo 4, effettuando anche nuove analisi sui dati originali, si è cercato di capire in quale misura le differenze relative al campione di città analizzate, al disegno dello studio e al periodo di calendario spieghino la discrepanza osservata.

Nell'ultimo paragrafo, si sono discussi in modo unitario i punti trattati nelle sezioni precedenti, cercando di trarne delle raccomandazioni da seguire quando si interpretano, si confrontano e si utilizzano i risultati delle meta-analisi pianificate.

Confronto tra i risultati dello studio APHEA 2, NMMAPS e MISA 2

Negli ultimi anni sono state numerose le meta-analisi pianificate che hanno studiato l'effetto a breve termine dell'inquinamento atmosferico in ambito urbano. Quelle cui si fa più spesso riferimento, nonché le prime ad essere state pubblicate, sono lo studio NMMAPS (*The National Mortality, Morbidity and Air Pollution Study*) (5, 6) che ha coinvolto 100 città statunitensi e lo studio APHEA2 (*Air Pollution and Health, a European Approach*) (6, 7) condotto su 29 città Europee tra cui anche Milano, Torino e Roma.

Nel panorama italiano, lo studio MISA2 ha investigato l'effetto dell'inquinamento su 15 città della penisola (11 per quanto riguarda il PM_{10}) per il periodo 1996-2002 (8, 9), aggiornando i risultati del precedente studio MISA1 (10-12).

Le meta-analisi pianificate sono strutturate in due stadi. Prima si ottengono stime città-specifiche dell'associazione di interesse che vengono successivamente combinate con metodi meta-analitici per ottenere una stima globale sintetica di effetto. L'analisi città-specifica di solito si basa sull'analisi statistica delle serie storiche giornaliere di mortalità o ricoveri ospedalieri attraverso modelli di regressione Poisson (13). In questi modelli si inserisce una funzione flessibile (*spline*) del tempo di calendario per tenere conto dell'effetto confondente degli andamenti stagionali di medio-lungo periodo che caratterizzano sia le serie di eventi sanitari che le serie di inquinamento (14).

Nel 2002 sono venuti alla luce dei problemi relativi all'utilizzo di *spline* non parametriche per la modellazione della stagionalità, ovvero all'utilizzo dei GAM per l'analisi di serie storiche epidemiologiche (15, 16). I problemi riguardavano sia la stima puntuale degli effetti, sia la stima del loro errore standard, qualora fossero utilizzate le funzioni implementate in Splus o SAS. La stima puntuale risultava distorta in eccesso per un problema relativo alla definizione dei criteri di convergenza dell'algoritmo di stima, mentre l'errore standard risultava sottostimato in quanto calcolato sulla base di un'approssimazione della matrice di varianza-covarianza da ritenersi appropriata solo se la concurrità tra la serie di eventi sanitari e la serie di inquinamento era trascurabile (17, 18).

La scoperta di questi problemi ha richiesto la rianalisi dei dataset con metodi alternativi per la stima dei modelli GAM o seguendo approcci di tipo parametrico (19, 20).

Le rianalisi hanno portato talvolta a revisioni drastiche delle stime di effetto riportate in precedenza (6).

Nella Tabella 1 sono riportati i risultati meta-analitici delle rianalisi NMMAPS e APHEA2 e i risultati meta-analitici dello studio MISA2 (effettuato dopo il 2002, quindi esente dai problemi appena descritti), con indicate le caratteristiche del disegno e del modello città-specifico utilizzato (8).

Tabella 1. Caratteristiche del disegno e del modello e stime delle variazioni percentuali della mortalità naturale associate ad un incremento della concentrazione di PM₁₀ pari a 10µg/m³ per gli studi MISA2, APHEA 2 e NMMAPS

| Caratteristiche del disegno e del modello | MISA 2 (11 città italiane) (8) | APHEA 2 (21 città europee) (6) | NMMAPS (100 città US) (6) |
|--|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| Grado di lisciamento della <i>spline</i> (Vp*) | | | |
| 3 gdl/anno | 0,38 | 0,41 | |
| 5 gdl/anno | 0,31 | | |
| 7-8 gdl/anno | 0,22 | | 0,19 |
| Caratteristiche dello studio | | | |
| Lag | 0-1 | 0-1 | 1 |
| Periodo di calendario | 1996-2002 | 1990-1997 | 1987-2000 |
| Concentrazione mediana di PM ₁₀ | 46,2 | 40 | 27,1 |
| Temperatura mediana | 15,5 | 13-15 | 14,5 |

* Vp=Variazione percentuale

I risultati si riferiscono all'effetto del PM₁₀ sulla mortalità per cause naturali e sono espressi in termini di variazione percentuale nella mortalità associata a incrementi di concentrazione dell'inquinante pari a 10 µg/m³.

Lo studio MISA2 riporta come risultato principale una variazione percentuale pari a 0,31, collocandosi in una posizione intermedia tra lo studio APHEA2 (variazione percentuale pari a 0,41) e lo studio NMMAPS (variazione percentuale pari a 0,19). Si può subito notare che i tre studi differiscono sensibilmente per il livello osservato di concentrazione del PM₁₀, il che potrebbe spiegare la diversità delle stime di effetto. Tuttavia ad una analisi più attenta emergono altre possibili spiegazioni.

In tutti e tre gli studi, l'analisi città-specifica era basata su un modello Poisson in cui l'aggiustamento per la stagionalità era effettuato utilizzando una *spline* di regressione parametrica (21). Il grado di lisciamento di questa funzione, governato dal parametro "gradi di libertà" (gdl), era però diverso: basso nello studio APHEA2 (variabile da città a città ma mediamente intorno a 3 gdl/anno), elevato nello studio NMMAPS (7-8 gdl/anno). Nelle analisi principali dello studio MISA2 è stata utilizzata una *spline* di regressione con 5 gradi di libertà all'anno, ma nell'ambito di questo studio è stata effettuata anche un'analisi di sensibilità al variare del grado di lisciamento della *spline* stagionale, i cui risultati sono di aiuto per comprendere le ragioni della discrepanza osservata tra le stime di effetto delle tre meta-analisi. Se infatti si effettua un confronto dei risultati a parità di gradi di libertà per la *spline* stagionale, le differenze risultano molto meno accentuate (Tabella 1). Aumentando i gradi di libertà della *spline* la stima di effetto diminuisce; diminuendo i gradi di libertà si ottiene una stima della variazione percentuale più elevata.

Interpretazione dei risultati delle meta-analisi pianificate

Usualmente, nell'ambito delle meta-analisi pianificate, le stime di effetto città-specifiche vengono combinate attraverso la specificazione di un modello di meta-analisi a effetti casuali (22). La meta-analisi a effetti casuali produce una stima sintetica di effetto che tiene conto di eventuale eterogeneità tra centri, diversamente dalla meta-analisi ad effetti fissi che assume l'esistenza di un unico effetto comune a tutti gli studi.

Siano $\hat{\beta}_i$ la stima città-specifica del coefficiente che esprime l'effetto dell'inquinante nella i -esima città e $\hat{\sigma}_i^2$ la corrispondente stima della varianza. Il modello di meta-analisi ad effetti casuali è un modello a due stadi. Al primo stadio il modello assume che ciascun $\hat{\beta}_i$ sia la realizzazione di una variabile casuale normale con media città-specifica β_i e varianza nota $\hat{\sigma}_i^2$, modellando così la variabilità entro città:

$$\hat{\beta}_i \sim N(\beta_i, \hat{\sigma}_i^2). \quad (1)$$

Al secondo stadio il modello assume che a loro volta i parametri β_i costituiscano un campione casuale da una super-popolazione con media β e varianza τ^2 , modellando così l'eterogeneità tra città:

$$\beta_i \sim N(\beta, \tau^2). \quad (2)$$

La stima meta-analitica di effetto riportata dalle meta-analisi pianificate deriva direttamente dal parametro β nella (2) e può essere interpretata come l'effetto atteso per un soggetto estratto dalla popolazione totale dell'insieme delle città, ignorando cioè da quale di essa provenga. Tanto maggiore è la varianza τ^2 tanto maggiore è l'eterogeneità tra città e ci si allontana dall'idea di un unico effetto comune.

A titolo esemplificativo, nella Tabella 2 sono riportate le stime globali meta-analitiche dell'effetto dei 5 principali inquinanti urbani insieme con la stima del parametro di eterogeneità, ottenute nello studio MISA2 (8) per la mortalità per cause naturali (ICD IX 1-799). Per le polveri sottili si osserva una notevole eterogeneità tra città; più omogeneo appare invece l'effetto del biossido di azoto e del monossido di carbonio. I valori sono espressi in termini di variazioni percentuali del numero di decessi associate ad un incremento di 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ per il CO); in corsivo sono riportate le stime del parametro di eterogeneità con il loro corrispondente intervallo di credibilità.

Tabella 2. Stime globali e intervalli di credibilità relativi all'effetto degli inquinanti sulla mortalità (lag 0-1) dallo studio MISA2

| Inquinanti | Vp * | ICr ** 95% | τ^2 *** | ICr ** 95% |
|------------------|------|------------|--------------|-------------|
| SO ₂ | 0,60 | -0,39;1,59 | 0,32 | 0,001; 2,40 |
| NO ₂ | 0,59 | 0,26;0,94 | 0,13 | 0,001; 0,65 |
| CO | 1,19 | 0,61;1,72 | 0,14 | 0,001; 0,89 |
| PM ₁₀ | 0,31 | -0,19;0,74 | 0,32 | 0,011; 1,16 |
| O ₃ | 0,27 | -0,26;0,70 | 0,34 | 0,002; 1,40 |

* Vp=Variazione percentuale **; ICr=Intervallo di Credibilità; *** τ^2 = parametro di eterogeneità

In presenza di eterogeneità diventa prioritario investigarne le fonti, ma la stima di β è comunque utile per comunicare in modo sintetico i risultati della meta-analisi pianificata in termini di tendenza centrale. Se invece l'obiettivo è quantificare l'impatto dell'inquinamento, utilizzando la stima meta-analitica dell'effetto si possono ottenere valutazioni poco accurate: se

l'effetto non è lo stesso nelle città analizzate, perché si dovrebbe utilizzare un effetto medio per valutare il numero di decessi attribuibili all'inquinante nelle varie città?

Nella Tabella 3 sono riportati i risultati MISA2 relativi al numero di decessi attribuibili alle concentrazioni osservate di NO₂ nelle 15 città analizzate, calcolati utilizzando la stima meta-analitica globale per tutti i centri e utilizzando le stime città-specifiche di seconda fase, ovvero le stime dei parametri β_i (*shrinkage estimates*) (8). Le stime *shrinkage* costituiscono un compromesso tra la stima globale meta-analitica e le stime città-specifiche; possono essere in effetti calcolate come una media di queste due quantità. Esse rispecchiano maggiormente la specificità di ciascuna città, con una conseguente riduzione della distorsione, e sono caratterizzate da una maggiore precisione rispetto alle stime città-specifiche di prima fase, in quanto traggono vantaggio dalla numerosità campionaria complessiva dello studio (22).

Come mostrato in Tabella 3, è evidente che per le città dove si registrano gli effetti più alti/bassi si ha una sottostima/sovrastima dell'impatto quando si utilizza la stima globale meta-analitica. Questo accade anche in una situazione di moderata eterogeneità come quella riportata. La sovrastima/sottostima è ovviamente più evidente se l'eterogeneità tra città è maggiore.

Tabella 3. Numero di decessi attribuibili all'NO₂ per anno e intervalli di credibilità all'80% dallo studio MISA 2 ottenute utilizzando la stima di effetto meta-analitica e le stime a posteriori città-specifiche

| Città | Stima meta-analitica | | | Stima città-specifica | | |
|------------------|--------------------------|--------|-----------|--------------------------|--------|-----------|
| | Decessi attribuibili (%) | | ICr * 80% | Decessi attribuibili (%) | | ICr * 80% |
| Bologna | 95 | (2,24) | 63;128 | 109 | (2,57) | 57;171 |
| Catania | 45 | (1,69) | 30;60 | 36 | (1,35) | 3;66 |
| Firenze | 55 | (1,36) | 37;75 | 44 | (1,09) | 5;77 |
| Genova | 136 | (1,75) | 91;183 | 110 | (1,41) | 33;176 |
| Mestre - Venezia | 19 | (1,13) | 12;25 | 18 | (1,07) | 5;30 |
| Milano | 249 | (2,34) | 166;335 | 294 | (2,76) | 181;425 |
| Napoli | 457 | (5,23) | 305;616 | 368 | (4,21) | 236;495 |
| Palermo | 99 | (1,90) | 65;134 | 97 | (1,86) | 43;154 |
| Pisa | 9 | (1,12) | 6;13 | 9 | (1,12) | 3;16 |
| Ravenna | 22 | (1,63) | 14;29 | 19 | (1,41) | 4;33 |
| Roma | 583 | (2,74) | 388;787 | 885 | (4,16) | 518;1320 |
| Taranto | 19 | (1,18) | 13;26 | 18 | (1,12) | 4;30 |
| Torino | 171 | (2,28) | 114;230 | 149 | (1,98) | 56;236 |
| Trieste | 14 | (0,68) | 9;20 | 13 | (0,63) | 5;22 |
| Verona | 39 | (1,91) | 26;52 | 54 | (2,64) | 27;90 |

* ICr=Intervallo di Credibilità

Un secondo problema direttamente legato all'eterogeneità dell'effetto riguarda la generalizzazione dei risultati della meta-analisi al di fuori delle città arruolate nello studio. In presenza di eterogeneità, la composizione del campione di città analizzate è cruciale e la validità dei risultati è limitata all'insieme dei centri considerati. Se l'eterogeneità è elevata anche l'esclusione di una sola città dal campione può infatti implicare variazioni sensibili dei risultati. Le Tabelle 4 e 5 riportano una valutazione dell'influenza di ciascuna singola città arruolata nello studio MISA2 sulla stime meta-analitiche dell'associazione di PM₁₀ e NO₂ con la mortalità per cause naturali. I risultati sono espressi in termini di variazione percentuale del numero di decessi associata a un incremento della concentrazione dell'inquinante pari a di 10µg/m³. Per il PM₁₀, il cui effetto è caratterizzato da un'accentuata eterogeneità tra centri, la variabilità delle stime ottenute rimuovendo una città alla volta è molto più grande che per l'NO₂, il cui effetto è

sostanzialmente omogeneo tra i vari centri (coefficiente di variazione=0,19 vs coefficiente di variazione=0,08).

Tabella 4. Stime meta-analitiche dell'effetto di PM₁₀ dallo studio MISA2 e risultati dell'analisi di sensibilità effettuata rimuovendo una città alla volta dal dataset

| Vp * | ICr **95% | Città esclusa |
|------|------------|---------------|
| 0,31 | -0,07;0,66 | - |
| 0,34 | -0,10;0,74 | Bologna |
| 0,32 | -0,11;0,71 | Firenze |
| 0,29 | -0,17;0,72 | Milano |
| 0,21 | -0,13;0,49 | Palermo |
| 0,31 | -0,09;0,67 | Pisa |
| 0,20 | -0,15;0,53 | Roma |
| 0,39 | -0,05;0,76 | Torino |
| 0,36 | -0,04;0,73 | Venezia |
| 0,36 | -0,04;0,73 | Catania |
| 0,35 | -0,07;0,73 | Genova |
| 0,33 | -0,09;0,71 | Ravenna |

* Vp=Variazione percentuale; ** ICr=Intervallo di Credibilità

Tabella 5. Stime meta-analitiche dell'effetto di NO₂ dallo studio MISA2 e risultati dell'analisi di sensibilità effettuata rimuovendo una città alla volta dal dataset

| Vp * | ICr ** 95% | Città esclusa |
|------|------------|---------------|
| 0,60 | 0,31;0,89 | - |
| 0,57 | 0,28;0,85 | Bologna |
| 0,62 | 0,36;0,90 | Catania |
| 0,63 | 0,36;0,91 | Firenze |
| 0,63 | 0,34;0,94 | Genova |
| 0,60 | 0,34;0,88 | Mestre |
| 0,55 | 0,26;0,86 | Milano |
| 0,68 | 0,33;0,99 | Napoli |
| 0,60 | 0,30;0,90 | Palermo |
| 0,60 | 0,32;0,87 | Pisa |
| 0,61 | 0,33;0,90 | Ravenna |
| 0,47 | 0,25;0,70 | Roma |
| 0,61 | 0,35;0,89 | Taranto |
| 0,62 | 0,32;0,92 | Torino |
| 0,60 | 0,32;0,90 | Trieste |
| 0,54 | 0,30;0,78 | Verona |

* Vp=Variazione percentuale; ** ICr=Intervallo di Credibilità

Confronto MISA 2-SISTI

Oggetto di questo paragrafo è un confronto tra i risultati dello studio MISA 2 e di uno studio condotto recentemente dal gruppo collaborativo SISTI/SISTEM, in via di pubblicazione (23). Tale studio è una meta-analisi pianificata su 9 città italiane, molte delle quali già incluse nello studio MISA2 e si riferisce al periodo 2001-2005.

A differenza dello studio MISA2, lo studio SISTI/SISTEM ha utilizzato per le analisi città-specifiche un approccio di tipo *case-crossover*. Tale approccio prevede per ciascun soggetto, il confronto tra il livello di inquinamento nel giorno del decesso con quello rilevato in altri giorni presi come riferimento. Nello studio SISTI la scelta dei giorni di riferimento è stata basata su un approccio *time stratified*, selezionando come giorni di controllo gli stessi giorni della settimana all'interno del mese di calendario in cui si è verificato il decesso.

Il confronto qui presentato è relativo all'associazione tra concentrazione di PM₁₀ e mortalità per cause naturali. Lo studio SISTI riporta come stima globale meta-analitica della variazione percentuale associata ad un incremento di 10 mg/m³ del livello dell'inquinante pari a 0.60, contro la stima di 0.31 ottenuta nello studio MISA 2. La discrepanza tra i due valori è notevole e questo ci ha spinto a investigare in dettaglio i possibili motivi di questa differenza.

Le differenze tra i due studi sono riconducibili a:

- disegno dell'analisi città-specifica: lo studio MISA analizza le serie storiche epidemiologiche, mentre lo studio SISTI segue un approccio *case-crossover*;
- composizione del campione di città analizzate: le città incluse nello studio MISA2 per l'analisi degli effetti del PM₁₀ erano Bologna, Firenze, Milano, Palermo, Pisa, Roma, Torino, Venezia, Catania, Genova e Ravenna. Lo studio SISTI ha considerato i dati di Bologna, Firenze, Milano, Palermo, Pisa, Roma, Taranto, Torino e Venezia;
- periodo di calendario: i risultati MISA2 si riferiscono agli anni 1996-2002, quelli SISTI al periodo 2001-2005.

Abbiamo quindi effettuato delle rianalisi dei dati originali per valutare il contributo di ciascuno di questi fattori sulla differenza osservata, a parità degli altri due. I risultati dei confronti sono riportati in Tabella 6.

Tabella 6. Stime meta-analitiche delle variazioni percentuali nella mortalità associate a un aumento di 10mg/m³ nella concentrazione di PM₁₀ e relative stime del parametro di eterogeneità, ottenute dai dati MISA2 e SISTI

| Stesse città, stesso periodo | Approccio MISA 2 | Approccio case-crossover SISTI |
|---|-------------------------|--|
| VP* | 0,59 (0.30;0.92) | 0,67 (0.40;0.97) |
| ICr ** 95% | 0,166 (0.008;0.525) | 0,106 (0.002;0.383) |
| Stesso approccio, stesso periodo | Città MISA 2 | Intersezione città MISA 2 e SISTI |
| VP * | 0,31 (-0.07;0.06) | 0,43 (-0.04;0.88) |
| ICr **95% | 0,310 (0.027;0.870) | 0,452 (0.031;1.373) |
| Stesso approccio, stesse città | Periodo MISA 2 | Periodo SISTI |
| VP * | 0,43 (-0.04;0.88) | 0,62 (0.30;0.96) |
| ICr ** 95% | 0,452 (0.031;1.373) | 0,179 (0.010;0.577) |

* Vp Variazione percentuale ** ICr Intervallo di credibilità

Per mettere in luce la differenza attribuibile al diverso disegno dello studio, a parità di composizione del campione e periodo di calendario, abbiamo semplicemente adattato il modello città-specifico specificato nell'ambito dello studio MISA2 sui dati dello studio SISTI/SISTEM. Abbiamo quindi confrontato la stima meta-analitica della variazione percentuale così ottenuta con la stima riportata dallo studio SISTI/SISTEM. Come è possibile vedere dalla Tabella 6, la

differenza è trascurabile (0,59 vs 0,60), indicando che la discrepanza tra i risultati dei due studi è solo in minima parte attribuibile al diverso approccio seguito per le analisi città-specifiche.

Al fine di valutare l'entità della differenza dovuta alla diversa composizione del campione, a parità di disegno dello studio e periodo di calendario, abbiamo specificato un modello di meta-analisi ad effetti casuali sulle stime città-specifiche ottenute nell'ambito dello studio MISA2, per le sole città incluse anche nello studio SISTI/SISTEM (Bologna, Firenze, Milano, Palermo, Pisa, Roma, Torino, Venezia).

La stima meta-analitica così ottenuta è stata quindi confrontata con la stima di effetto del PM_{10} riportata nello studio MISA2. Dal confronto tra le due variazioni percentuali (0,31 vs 0,43) emerge che la composizione del campione è una possibile sorgente di discrepanza tra i due studi. D'altra parte questo risultato era atteso, visto che, come mostrato anche al paragrafo precedente, in situazioni di eterogeneità, l'influenza dei singoli centri sulla stima meta-analitica può essere rilevante.

Infine, è stato effettuato un confronto a parità di disegno e composizione del campione, per quantificare l'eventuale discrepanza legata al differente periodo di calendario. A questo scopo abbiamo considerato solo le città incluse in entrambi gli studi. Da una parte abbiamo rianalizzato i dati SISTI/SISTEM utilizzando il modello città-specifico definito nell'ambito dello studio MISA2. Dall'altra abbiamo combinato le stime città-specifiche MISA2 solo per le città in comune. Dal confronto delle variazioni percentuali (0,43 vs 0,62), appare che l'effetto dell'inquinante non è lo stesso se si considerano periodi di calendario differenti.

Per la corretta interpretazione di questo risultato è utile specificare che le stazioni di monitoraggio dell'inquinamento atmosferico utilizzate per ottenere le serie storiche dei livelli di concentrazione del PM_{10} erano le stesse nei due studi.

La differenza osservata tra i due periodi può avere diverse spiegazioni. Potrebbe indicare una effettiva modificazione d'effetto legata ad una variazione della composizione chimica del PM_{10} nel corso degli anni. Oppure potrebbe rispecchiare una non linearità dell'effetto dell'inquinante: a basse concentrazioni, come quelle rilevate negli anni più recenti, potrebbe corrispondere un effetto più accentuato dell'inquinante che non in corrispondenza di livelli di PM_{10} più elevati, come quelli registrati nel passato.

Non dovrebbe infine essere scartata l'ipotesi di una differenza dovuta a confondimento residuo che potrebbe per esempio derivare da un controllo poco accurato dell'effetto delle variabili meteorologiche.

Discussione

Nei tre paragrafi precedenti abbiamo presentato delle riflessioni sull'interpretazione dei risultati delle meta-analisi pianificate per lo studio dell'effetto a breve termine dell'inquinamento atmosferico, facendo riferimento a stime pubblicate e, limitatamente alla comparazione MISA-SISTI/SISTEM, ad analisi originali.

La prima indicazione di carattere pratico che emerge è che i risultati ottenuti dall'analisi di serie storiche epidemiologiche pubblicati prima della "crisi" dei GAM del 2002 non sono da ritenersi in generale corretti. Questa non è una considerazione banale, dal momento che anche le stime di impatto dell'effetto a breve termine dell'inquinamento sulla salute prodotte da WHO (4) utilizzano le stime di rischio associate al PM_{10} stimate prima al 2002 e non i risultati delle rianalisi successive.

Quando si confrontano i risultati di studi pubblicati bisogna prestare attenzione a diversi aspetti prima di attribuire eventuali differenze ad una effettiva eterogeneità dell'effetto

dell'inquinante. Ad esempio, le differenze tra i risultati degli studi MISA2, APHEA 2 e NMMAPS per quanto riguarda l'effetto del PM_{10} sulla mortalità naturale sono in larga spiegati da una più o meno efficace modellazione del confondimento stagionale a livello di analisi città-specifica. È anche necessario dire che in questo caso una modellazione blanda della stagionalità (ovvero la scelta di un basso numero di gradi di libertà per la *spline* stagionale) porta verosimilmente ad una sovrastima dell'effetto dell'inquinante (20).

I risultati delle meta-analisi pianificate sembrano invece meno sensibili al disegno dello studio utilizzato per l'analisi città-specifica. Dal confronto MISA2-SISTI/SISTEM appare chiaramente che l'analisi di serie storiche epidemiologiche e il *case-crossover* conducono a risultati simili. Questo è un risultato atteso, in quanto è possibile dimostrare che esiste una perfetta corrispondenza tra i due approcci, per particolari scelte dei giorni di riferimento e della *spline* stagionale (24, 25).

Spesso le meta-analisi pianificate evidenziano una certa eterogeneità dell'effetto tra città, in particolare per il PM_{10} . In presenza di eterogeneità l'interpretazione della stima globale meta-analitica si discosta da quella di unico effetto comune a tutti i centri, per avvicinarsi a quello di media di effetti tra loro discrepanti. In questo caso, se si vuol valutare l'impatto dell'inquinante nelle città analizzate è consigliabile utilizzare le stime città-specifiche di seconda fase, che sono più precise delle stime città-specifiche di primo livello, ma meno distorte della stima meta-analitica globale, quando l'interesse è sui singoli centri.

In presenza di eterogeneità è necessario tenere conto che l'oggetto dell'inferenza cambia al variare della composizione del campione. Questo aspetto è cruciale quando si confrontano studi differenti, ma anche nel valutare la validità generale dei risultati. Pertanto, l'utilizzo, per esempio a fini di valutazione di impatto, di risultati già pubblicati dovrebbe sempre essere valutato in modo critico alla luce di queste considerazioni.

Se l'evidenza empirica indica una disomogeneità dell'effetto, l'interesse si sposta dalla stima sintetica di effetto alla ricerca delle fonti di eterogeneità (26). A questo scopo vengono spesso specificati modelli di meta-regressione che mettono in relazione le stime città-specifiche con variabili misurate a livello dei singoli centri. Data la natura ecologica di questo tipo di analisi, i risultati della meta regressione possono essere affetti da distorsione e dovrebbero essere utilizzati solo per generare eventuali ipotesi da investigare successivamente attraverso strumenti di analisi più affidabili.

Dal confronto MISA2-SISTI/SISTEM emerge infine un aspetto interessante che riguarda la variazione dell'effetto delle concentrazioni di PM_{10} nel tempo. E cioè un aumento dell'associazione tra livello di inquinamento e mortalità nel tempo. Recentemente (27) è stata riportata una tendenza di segno opposto per le città statunitensi coinvolte nello studio NMMAPS.

Come già evidenziato, differenze di effetto legate al periodo di calendario possono essere biologicamente plausibili (la composizione dell'inquinante potrebbe cambiare negli anni), ma possono anche indicare una inappropriata modellazione dell'effetto principale o del confondimento che, in questo contesto, è soprattutto legato alla stagionalità e all'effetto delle variabili meteorologiche. Ulteriori studi sono necessari per affinare la nostra conoscenza riguardo alla composizione delle polveri e al loro meccanismo di azione sull'organismo umano e particolare attenzione dovrebbe essere rivolta all'analisi della relazione dose-risposta tra inquinamento e stato di salute della popolazione, nonché allo studio della complessa interazione tra inquinamento e meteorologia.

Bibliografia

1. Pope CA 3rd, Dockery DW. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. *J Air Waste Manag Assoc* 2006;56(6):709-42.
2. Bell ML, Samet JM, Dominici F. Time-series studies of particulate matter. *Annu Rev Public Health* 2004;25:247-80.
3. Kunzli N, Kaiser R, Medina S, Studnicka M, Chanel O, Filliger P, Herry M, Horak F Jr, Puybonnieux-Textier V, Quenel P, Schneider J, Seethaler R, Vergnaud JC, Sommer H. Public-health impact of outdoor and traffic-related air pollution: a European assessment. *Lancet* 2000;356(9232):795-801.
4. Martuzzi M, Mitis F, Iavarone I, Serinelli M. *Health impact of Pm10 and ozone in 13 Italian cities*. WHO-Regional office for Europe, 2006.
5. Samet JM, Zeger S, Dominici F, Curriero F, Coursac I, Dockery DW, Schwartz J, Zanobetti A. The National Morbidity, Mortality, and air pollution study (NMMAPS). Part 2. Morbidity and mortality from air pollution in United States. Health Effect Institute. Boston (MA), 2000. Disponibile all'indirizzo <http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=118>; Ultima consultazione 7/11/2007.
6. HEI Health Effect Institute. *Revised analyses of time series studies of air pollution and health*. Health Effect Institute Special Report. Boston (MA), 2003.
7. Katsouyanni K, Touloumi G, Samoli E, Gryparis A, Le Terre A, Monopolis Y, Rossi G, Zmirou D, Ballester F, Boumghar A, Anderson HR, Wojtyniak B, Paldy A, Braunstein R, Pekkanen J, Schindler C, Schwartz J. Confounding and effect modification in the short-term effects of ambient particles on total mortality: results from 29 European cities within the APHEA2 project. *Epidemiology* 2001;12:521-31.
8. Biggeri A, Bellini P, Terracini B. Metanalisi italiana degli studi sugli effetti a breve termine dell'inquinamento atmosferico 1996-2002. *Epidemiol Prev* 2004;28(Suppl 4-5):1-100.
9. Bellini P, Baccini M, Biggeri A, Terracini B. The meta-analysis of the Italian studies on short-term effects of air pollution (MISA): old and new issues on the interpretation of the statistical evidences. *Environmetrics* 2007;18:1-11.
10. Biggeri A, Bellini P, Terracini B. Metanalisi italiana degli studi sugli effetti a breve termine dell'inquinamento atmosferico. *Epidemiol Prev* 2001;25(Suppl 1):1-72.
11. Biggeri A, Baccini M, Accetta G, Lagazio C. Estimates of short-term effects of air pollutants in Italy. *Epidemiol Prev* 2002;26:203-5.
12. Biggeri A., Baccini M., Bellini P., Terracini B. Italian studies of short term effect of air pollution (MISA), 1990-1999. *Int J Occup Environ Health* 2005;11:107-22.
13. McCullagh P., Nelder JA. *Generalized Linear Models*. New York, NY: Chapman and Hall; 1989.
14. Schwartz J. *The use of Generalized additive models in epidemiology*. In: Proceedings of XVII International Biometric Society Conference, Hamilton, Ontario, 1994; pp. 55-80.
15. Knight J. Statistical error leaves pollution data in the air. *Nature* 2002;417:677.
16. Kaiser J. Software glitch threw off mortality estimates. *Science* 2002;296:1945-6.
17. Dominici F, McDermott A, Zeger SL, Samet J. On the use of generalized additive models in time series studies of air pollution and health. *Am J Epidemiol* 2002;156:193-203.
18. Ramsay T.O., Burnett R.T., Krewski D. The effect of concurvity in generalized additive models linking mortality to ambient particulate matter. *Epidemiology* 2003;14:18-23.
19. Baccini M, Biggeri A, Accetta G, Lagazio C, Lerxtundi A, Schwartz J (2006). Comparison of alternative modelling techniques in estimating short term effect of air pollution with application to the Italian meta-analysis data (MISA study). *Epidemiol Prev* 2006;30:279-88.

20. Baccini M., Biggeri A., Lagazio C., Lertxundi A., Saez M. Parametric and semi-parametric approaches in the analysis of short term effects of air pollution on health. *Computational Statistics & data analysis* 2007;51:4324-36.
21. Green PJ and Silverman BV. *Non parametric regression and generalized linear models*. London: Chapman and Hall, 1994.
22. Normand S. Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Stat Med* 1999;18:321-59.
23. Forastiere F, Stafoggia M, Berti G, Bisanti L, Cernigliaro A, Chiusolo M, Mallone S, Miglio R, Pandolfi P, Rognoni M, Serinelli M, Tessari R, Vigotti M, and Perucci CA on behalf of the SISTI Group. "Particulate Matter and Daily Mortality: a Case-Crossover Analysis of Individual Effect Modifiers" (Submitted to Epidemiology)
24. Lu Y., Zeger S.L. On the equivalence of case-crossover and time series methods in environmental epidemiology. *Biostatistics* 2007;8:337-44.
25. Whitaker HJ, Hocine MN, Farrington CP. On case-crossover methods for environmental time series data. *Environmetrics* 2007;18:157-71.
26. Thompson SG Sharp SJ. Explaining heterogeneity in meta-analysis: a comparison of methods. *Stat Med* 1999;18:2693-708.
27. Dominici F, Peng RD, Zeger SL, White RH, Samet JM. Particulate Air Pollution and Mortality in the United States: Did the Risks Change from 1987 to 2000? *Am J Epidemiol* 2007;166:880-8.

ANALISI DI MORTALITÀ IN UN SITO CON SORGENTI LOCALIZZATE: IL CASO DI TARANTO

Maria Angela Vigotti (a), Domenica Cavone (b), Antonella Bruni (c), Sante Minerba (c), Michele Conversano (d)

(a) *Dipartimento di Biologia, Università di Pisa e IFC-CNR, Pisa*

(b) *Renam-Cor Puglia, Dipartimento Medicina Interna e Medicina Pubblica Sezione Medicina del Lavoro Ramazzini, Università di Bari*

(c) *Unità di Statistica ed Epidemiologia, ASL di Taranto*

(d) *Dipartimento di Prevenzione, ASL di Taranto*

Introduzione

L'area di Taranto è stata oggetto di crescente attenzione per la peculiare organizzazione geografica, industriale e militare che coinvolge direttamente il capoluogo. I fattori di rischio ambientali sono riconducibili alla presenza di un'acciaieria a ciclo integrale, tra le più grandi d'Europa, una raffineria petrolchimica di grandi dimensioni, un cementificio di importanza nazionale, due centrali termoelettriche e ai rispettivi consistenti flussi di merci e materie prime che transitano nei bacini del porto. L'industria siderurgica caratterizza il tessuto industriale della zona, con una popolazione attiva di circa 45.000 occupati. Accanto a questi grandi impianti sono presenti stabilimenti di manufatti di gomma e materie plastiche, stabilimenti chimici che producono smalti sintetici, vernici e colle, stabilimenti che trattano e producono derivati del petrolio e del carbone, altri di metallurgia di seconda lavorazione, di costruzione e lavorazione di parti meccaniche, di elettrotecnica ed elettronica.

L'OMS ha effettuato due studi di mortalità (1, 2) sull'area di Taranto (Comuni di Taranto, Crispiano, Massafra, Statte, Montemesola), da cui è emerso un eccesso di mortalità riferita sia a tutte le cause sia alla mortalità per tumore. Con l'emanazione della Legge n. 349 dell'8 luglio 1986 i Comuni oggetto di studio dell'OMS sono stati ufficialmente definiti "Area ad elevato rischio ambientale" e successivamente inclusi tra i 14 siti ad interesse nazionale che richiedono interventi di bonifica (DPR 196/1998). Nel 1993 uno studio su soggetti fumatori evidenzia una maggior incidenza di tumore al polmone nei residenti a ridosso dell'area industriale, ex USL TA/4, rispetto ai residenti nell'area meno prossima alla zona industriale, ex USL TA/5 (3). Il Comune di Taranto ha partecipato allo studio MISA-2 (4) che ha analizzato gli effetti a breve termine dell'inquinamento atmosferico sulla salute dei residenti in 15 città italiane valutando la relazione tra livelli giornalieri degli inquinanti atmosferici ed eventi sanitari rilevanti quali: mortalità e ricoveri ospedalieri (totale, per cause cardiache e respiratorie). Dallo studio è emersa una associazione tra i livelli giornalieri degli inquinanti dell'aria e la mortalità per tutte le cause naturali, la mortalità e i ricoveri per cause respiratorie e cerebrovascolari. Attualmente gli stessi dati aggiornati al 2004 hanno permesso di far partecipare il Comune di Taranto allo Studio Italiano sui Suscettibili alla Temperatura e all'Inquinamento (SISTI) che ha l'obiettivo di valutare il ruolo giocato dai precedenti ricoveri ospedalieri nell'associazione tra mortalità ed esposizione a breve termine all'inquinamento atmosferico urbano (5).

Inoltre i ricoveri e i decessi per tumore alla pleura vengono segnalati al Centro Operativo Regionale (COR) del Registro Nazionale dei Mesoteliomi (<http://www.ispesl.it/ispesl/sitorenam>) istituito presso l'Università di Bari. Il COR a sua volta acquisisce i dati clinici e

ricostruisce la storia di esposizione, in modo da studiare l'incidenza della patologia, individuare le fonti di esposizione eventualmente ancora presenti, per le relative attività di bonifica oltre a fornire la possibilità di accesso alle statistiche della casistica regionale, la disponibilità di consulenza anatomo-patologica e la disponibilità di informazioni relative ai centri di terapia più avanzata, nonché la possibilità di acquisire documentazione valida ai fini medico-legali e assicurativi.

Presso il Dipartimento di Prevenzione della ASL 1 di Taranto con la coordinazione dell'Osservatorio Epidemiologico Regionale, è in corso la raccolta dettagliata dei dati sulla incidenza dei tumori dei residenti nelle città di Taranto e Brindisi per la creazione di un Registro Tumori per l'area Jonico-Salentina (RTJS)

Infine occorre citare che la Struttura Complessa di Statistica ed Epidemiologia dell'ASL TA/1 pubblica annualmente un Bollettino Epidemiologico relativo ai dati demografici e sanitari (andamento demografico; malattie infettive; salute mentale; ricoveri ospedalieri; mortalità generale e per neoplasie) della popolazione residente nei Comuni della Provincia di Taranto riportato, dal 2005, anche sul sito della ASL (6).

In questa sede presenteremo due studi sui residenti nella città di Taranto: una analisi della mortalità effettuata per gli anni 1970-2004 (7) e uno studio caso-controllo, attualmente in corso, che considera, nel periodo 2000-2002, i casi incidenti per alcune patologie tumorali e valuta la relazione tra residenza e distanza da fonti emmissive (8)

Analisi della mortalità dei residenti nel Comune di Taranto negli anni 1970-2004

Questa analisi si propone di fornire un quadro descrittivo della mortalità per le principali cause tra i residenti nel Comune di Taranto, lungo un arco di tempo che va dal 1970 al 2004, al fine di valutare l'evolvere del fenomeno. Queste analisi sono state realizzate unendo insieme diverse banche dati organizzate in occasione di diversi recenti studi. Parte ridotta di queste analisi sono state pubblicate sul sito web del progetto Agenda 21 (7).

Materiali

Le informazioni sui decessi provengono da due fonti: per gli anni 1970-2001 sono di fonte ISTAT. Per gli anni 1970-79 i dati ISTAT sono stati disaggregati a livello comunale con un metodo di accoppiamento (10) che ha permesso di disaggregare a livello comunale oltre il 97% della mortalità, e che ha richiesto un lavoro manuale di recupero, presso i Comuni di residenza di tutta la provincia, di informazioni anagrafiche per i residenti deceduti fuori del comune. Dal 1980 i dati ISTAT includono l'informazione sul Comune di residenza. È stato escluso l'anno 1980, primo anno di registrazione del Comune di residenza, informazione risultata molto carente e quindi di scarsa qualità. Per gli anni 1998-2004 sono stati analizzati i dati provenienti dal Registro Nominativo della Cause di Morte (ReNCaM) della ASL istituito a Taranto presso il Dipartimento di Prevenzione, nell'ambito del Registro di Mortalità Regionale gestito dall'Osservatorio Epidemiologico Regionale. Il registro di mortalità raccoglie, controlla e codifica le schede di decesso dei residenti deceduti nell'ASL mentre per i deceduti in altri Comuni, copia della scheda di morte viene inviata dalla ASL dove è avvenuto il decesso. Può accadere che tale specifico flusso informativo talora non si completi per si potrebbe verificare una lieve sottostima nel numero totale di decessi.

La popolazione presa in esame è quella dei residenti negli attuali Comuni di Taranto e Statte, che prima del 1995 costituivano un unico Comune. Per il periodo 1970-74 al denominatore dei tassi è stata usata la numerosità della popolazione rilevata al censimento 1971, mentre per gli altri periodi le popolazioni usate sono quelle annuali e definitive riportate sul sito web dell'ISTAT, nel giugno 2006 (11).

Metodi

Per ogni causa di morte e per ciascun sesso sono stati calcolati i tassi di mortalità grezzi e specifici per classi di età quinquennali: 0-4, ..., 85+. Sono stati calcolati i Tassi Standardizzati col metodo Diretto (TSD), e il relativo errore standard, usando come riferimento la popolazione teorica Europea che non cambia nel tempo ed è uguale per i due sessi per cui i TSD sono direttamente confrontabili tra loro. È stato calcolato anche il rapporto di mortalità, standardizzato per età, più comunemente noto nella sua dizione inglese come SMR (*Standardized Mortality Ratio*), ottenuto dal rapporto tra il numero totale dei decessi osservati nel Comune e di quelli attesi calcolati supponendo che per ciascuna età si verifichi lo stesso tasso di mortalità osservato nella Regione Puglia nello stesso periodo e per lo stesso sesso. Se i decessi osservati superano quelli attesi ciò indica che nel Comune la mortalità è maggiore, viceversa se la numerosità degli attesi risulta maggiore di quella degli osservati. È stata calcolata anche la significatività statistica e i limiti di confidenza al 95% che indicano il valore minimo e il valore massimo di SMR tra cui può variare il valore calcolato dell'SMR % per solo effetto del caso. Per i metodi di calcolo si rimanda alla bibliografia (12).

Cause e periodi esaminati

Negli anni 1970-1979 le cause di morte furono codificate in base alla versione VIII della Classificazione Internazionale delle Malattie (*8th. International Classification of Diseases=ICD.8*) mentre dal 1980 è stata usata la versione IX (ICD.9). Sono state esaminate 42 cause di morte e vengono di seguito commentate le cause che hanno presentato risultati di un certo rilievo, gli altri risultati sono disponibili su richiesta.

Le analisi sono state effettuate per i seguenti periodi: per i dati ISTAT: 1970-74, 1981-89, 1990-99; per i dati ASL: 1998-2004. I dati regionali erano disponibili solo fino al 2001 per cui i periodi considerati sono: 1970-74, 1981-89, 1990-99 e 1998-2001.

Risultati

Completezza e qualità - I dati di mortalità dell'ISTAT, a cui pervengono da tutti i Comuni dove è avvenuto il decesso, si possono considerare completi; per i provenienti dalla ASL, come indicato nel capitolo sulla Fonte dei dati si possono verificare lievi sottostime. La percentuale di cause di morte attribuite al gruppo di cause denominate "Sintomi e stati morbosi mal definiti" (ICD=780-799) viene di solito usata per dare una valutazione sulla qualità della codifica. Per i dati ISTAT 1970-2001 le cause mal definite sono in diminuzione e nel 1990-99 sono l'1% a Taranto e l'1,5% in Puglia, nell'ultimo periodo a Taranto i dati sono stati codificati localmente e le cause mal definite sono il 4,5%, mentre per la Regione sono l'1%. Ciò può contribuire ad una lieve sottostima della mortalità per causa.

I risultati che verranno commentati sono riportati nella Tabella 1 per gli uomini e nella Tabella 2 per le donne.

Tabella 1. Risultati delle analisi di mortalità nel Comune di Taranto, per causa e periodo (uomini, 1970-2004) §

| Anni | Confronto Taranto vs Puglia | | | Taranto | | | Puglia | | |
|--|-----------------------------|---------|---------------|---------|---------|---------|--------|---------|--------|
| | Oss | SMR% | (LC 95%) | TG | TSD-Eur | (e.s.) | TG | TSD-Eur | (e.s.) |
| Tutte le cause (ICD.9=1-999) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 847 | 102,4 | (99,3;105,5) | 755,3 | 1151,8 | (18,55) | 875,3 | 1124,6 | (4,13) |
| 1981-89 | 926 | 106,3 * | (104,0;108,6) | 771,6 | 938,8 | (10,53) | 797,2 | 884,9 | (2,39) |
| 1990-99 | 971 | 111,1 * | (108,9;113,4) | 877,4 | 888,2 | (6,47) | 832,6 | 821,2 | (2,05) |
| 1998-04 | 934 | 103,1 + | (100,6;105,6) | 889,3 | 769,6 | (9,65) | 847,9 | 748,8 | (2,93) |
| Tutti i tumori (ICD.9=140-239) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 182 | 126,8 * | (118,7;135,4) | 162,6 | 248,5 | (8,44) | 149,0 | 194,0 | (1,71) |
| 1981-89 | 261 | 118,2 * | (113,5;123,1) | 217,9 | 260,8 | (5,42) | 194,6 | 219,9 | (1,19) |
| 1990-99 | 303 | 115,5 * | (111,4;119,7) | 273,9 | 265,1 | (3,51) | 243,9 | 242,2 | (1,12) |
| 1998-04 | 317 | 109,9 * | (105,4;114,6) | 302,0 | 257,2 | (5,51) | 266,3 | 233,3 | (1,63) |
| Tumore maligno della trachea, bronchi e polmone (ICD.9=162) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 57 | 142,1 * | (126,0;159,6) | 50,6 | 76,6 | (4,63) | 40,8 | 53,1 | (0,89) |
| 1981-89 | 96 | 130,9 * | (122,4;140,0) | 80,1 | 95,8 | (3,27) | 63,7 | 73,3 | (0,69) |
| 1990-99 | 109 | 135,3 * | (127,4;143,6) | 98,4 | 102,2 | (2,18) | 74,0 | 74,0 | (0,62) |
| 1998-04 | 102 | 119,7 * | (111,1;128,9) | 96,8 | 82,3 | (3,11) | 78,2 | 68,0 | (0,88) |
| Tumore maligno della pleura (ICD.9=163) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 5 | 307,5 * | (202,6;447,4) | 4,8 | 7,6 | (1,49) | 1,8 | 2,3 | (0,18) |
| 1981-89 | 7 | 478,0 * | (369,7;608,1) | 6,1 | 7,3 | (0,90) | 1,3 | 1,5 | (0,10) |
| 1990-99 | 10 | 500,9 * | (405,3;612,4) | 8,6 | 6,7 | (0,55) | 1,7 | 1,8 | (0,10) |
| 1998-04 | 9 | 415,4 * | (319,2;531,5) | 8,6 | 7,1 | (0,90) | 2,0 | 1,8 | (0,14) |
| Tumore maligno della vescica (ICD.9=188) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 9 | 119,0 | (87,4;158,3) | 8,4 | 13,7 | (2,05) | 8,6 | 11,5 | (0,42) |
| 1981-89 | 17 | 124,2 + | (105,1;145,8) | 13,9 | 16,9 | (1,40) | 12,2 | 13,5 | (0,29) |
| 1990-99 | 17 | 109,8 | (93,8;127,8) | 15,1 | 15,2 | (0,85) | 14,5 | 14,0 | (0,27) |
| 1998-04 | 22 | 141,2 * | (119,8;165,2) | 21,1 | 17,4 | (1,41) | 14,6 | 12,5 | (0,37) |
| Linfoma Non Hodgkin (ICD.9=200,202) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 3 | 129,8 | (70,9;217,9) | 2,5 | 2,9 | (0,80) | 2,0 | 2,4 | (0,19) |
| 1981-89 | 5 | 135,0 | (98,8;180,0) | 4,3 | 4,8 | (0,72) | 3,2 | 3,6 | (0,15) |
| 1990-99 | 6 | 112,2 | (86,4;143,3) | 5,8 | 5,5 | (0,51) | 5,2 | 5,2 | (0,16) |
| 1998-04 | 9 | 114,6 | (87,5;147,6) | 8,2 | 7,1 | (0,93) | 6,9 | 6,3 | (0,27) |
| Mieloma Multiplo (ICD.9=203) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 3 | 280,0 * | (149,1;478,9) | 2,3 | 3,5 | (0,99) | 0,9 | 1,2 | (0,13) |
| 1981-89 | 3 | 135,0 | (88,9;196,4) | 2,5 | 3,0 | (0,57) | 2,0 | 2,2 | (0,12) |
| 1990-99 | 5 | 126,8 | (92,5;169,7) | 4,1 | 3,8 | (0,42) | 3,3 | 3,3 | (0,13) |
| 1998-04 | 7 | 158,9 * | (116,3;211,9) | 6,3 | 5,1 | (0,76) | 3,8 | 3,3 | (0,19) |
| Malattie dell'apparato circolatorio (ICD.9=390-459) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 304 | 96,5 | (91,7;101,4) | 271,2 | 471,7 | (12,38) | 357,0 | 491,6 | (2,79) |
| 1981-89 | 325 | 96,3 + | (92,8;99,9) | 271,1 | 338,6 | (6,43) | 317,7 | 351,7 | (1,51) |
| 1990-99 | 336 | 106,2 * | (102,6;109,8) | 303,9 | 306,7 | (3,81) | 308,2 | 301,9 | (1,24) |
| 1998-04 | 297 | 89,9 * | (86,1;93,9) | 282,7 | 243,2 | (5,40) | 310,9 | 272,1 | (1,75) |
| Ipertensione (ICD.9=401-405) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 15 | 87,1 | (68,5;109,1) | 13,4 | 23,6 | (2,78) | 19,8 | 27,4 | (0,66) |
| 1981-89 | 23 | 95,4 | (82,9;109,2) | 19,4 | 24,0 | (1,71) | 23,3 | 25,3 | (0,40) |
| 1990-99 | 31 | 105,2 | (93,7;117,6) | 27,8 | 23,3 | (1,04) | 28,9 | 28,1 | (0,38) |
| 1998-04 | 45 | 118,1 * | (105,4;132,0) | 42,4 | 36,6 | (2,10) | 35,8 | 31,2 | (0,59) |
| Malattie Ischemiche (ICD.9=410-414) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 115 | 103,3 | (95,0;112,1) | 102,7 | 170,8 | (7,28) | 123,3 | 168,7 | (1,63) |
| 1981-89 | 115 | 100,0 | (94,0;106,3) | 96,1 | 117,8 | (3,72) | 104,5 | 117,7 | (0,88) |
| 1990-99 | 138 | 128,6 * | (121,9;135,5) | 124,4 | 135,2 | (2,51) | 101,6 | 100,3 | (0,72) |
| 1998-04 | 93 | 85,7 * | (79,2;92,5) | 88,3 | 76,0 | (3,01) | 100,3 | 88,0 | (1,00) |

segue

continua

| Anni | Confronto Taranto vs Puglia | | | Taranto | | | Puglia | | |
|---|-----------------------------|---------|---------------|---------|---------|--------|--------|---------|--------|
| | Oss | SMR% | (LC 95%) | TG | TSD-Eur | (e.s.) | TG | TSD-Eur | (e.s.) |
| Malattie dell'apparato respiratorio (ICD.9=460-519) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 97 | 89,7 + | (81,9;98,1) | 86,3 | 134,6 | (6,47) | 115,9 | 147,7 | (1,49) |
| 1981-89 | 91 | 100,9 | (94,1;108,1) | 76,1 | 95,9 | (3,45) | 86,0 | 94,2 | (0,78) |
| 1990-99 | 84 | 106,8 | (99,7;114,3) | 75,9 | 74,3 | (1,89) | 77,4 | 75,0 | (0,62) |
| 1998-04 | 93 | 112,7 * | (104,2;121,7) | 88,4 | 75,1 | (2,99) | 78,0 | 67,7 | (0,87) |
| Polmoniti (ICD.9=480-486) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 33 | 109,9 | (93,7;128,0) | 29,2 | 38,2 | (3,30) | 30,4 | 35,3 | (0,71) |
| 1981-89 | 16 | 148,4 * | (125,4;174,3) | 13,7 | 17,8 | (1,53) | 10,8 | 12,0 | (0,28) |
| 1990-99 | 16 | 178,2 * | (151,4;208,5) | 14,1 | 16,3 | (0,92) | 8,9 | 8,8 | (0,22) |
| 1998-04 | 20 | 238,1 * | (200,3;281,0) | 19,0 | 16,3 | (1,40) | 8,0 | 7,1 | (0,29) |
| Cirrosi (ICD.9=571) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 36 | 121,1 + | (104,1;140,2) | 32,1 | 47,6 | (3,62) | 30,0 | 39,4 | (0,78) |
| 1981-89 | 51 | 112,2 + | (102,1;123,0) | 42,2 | 50,1 | (2,37) | 38,9 | 44,6 | (0,54) |
| 1990-99 | 40 | 110,1 | (99,7;121,4) | 36,5 | 41,2 | (1,39) | 33,6 | 33,9 | (0,42) |
| 1998-04 | 43 | 139,2 * | (123,9;156,0) | 40,7 | 35,4 | (2,06) | 28,1 | 25,0 | (0,54) |
| Altre malattie dell'apparato digerente(ICD.9=520-579 escl,571) | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 23 | 91,4 | (75,4;109,7) | 20,5 | 30,1 | (2,94) | 26,3 | 33,9 | (0,72) |
| 1981-89 | 23 | 117,3 + | (101,8;134,4) | 19,1 | 23,8 | (1,70) | 18,1 | 19,9 | (0,36) |
| 1990-99 | 24 | 129,3 * | (113,3;146,9) | 21,2 | 22,1 | (1,02) | 17,5 | 17,2 | (0,30) |
| 1998-04 | 20 | 108,1 | (90,9;127,6) | 19,0 | 16,0 | (1,37) | 17,2 | 15,0 | (0,41) |

[§] per la Legenda vedi testo paragrafo

In queste tabelle vengono riportati i valori medi annuali del numero di decessi Osservati (Oss), l'indice SMR% cioè il rapporto tra osservati e attesi, in base alla mortalità regionale nello stesso periodo, moltiplicato per 100, e i valori minimo e massimo entro cui, 95 volte su 100, può variare l'SMR% (Lim.Confid.95%), il Tasso Grezzo (TG) x 100.000 ab. e il Tasso Standardizzato col metodo Diretto x 100.000 ab. (TSD-Eur) e il suo errore standard (e.s.), usando come riferimento la popolazione Europea.

Tutte le cause (ICD.9= 0-999) - La mortalità generale è in diminuzione sia nel Comune che nella Regione, ma i valori riscontrati per gli uomini, sono, nel Comune di Taranto, superiori a quelli regionali già dal 1970 e negli anni recenti anche per le donne. Le variazioni percentuali dell'SMR indicano infatti più chiaramente come dall'inizio degli anni '70 nel Comune di Taranto la mortalità maschile sia superiore a quella regionale. Per le donne invece la mortalità per tutte le cause supera quella regionale dagli anni '90. Nell'ultimo periodo, gli eccessi di mortalità si riducono pur risultando ancora statisticamente significativi: nell'ultimo periodo i dati per la Puglia si riferiscono ad un periodo ridotto (1998-2001) è plausibile supporre che, disponendo dei dati completi, il valore dell'SMR% per la mortalità comunale potrebbe essere più elevato. Concludendo la mortalità per tutte le cause per i residenti nel Comune di Taranto si sta riducendo negli anni ma risulta sempre più elevata di quella regionale in tutto l'arco di tempo considerato, per entrambi i sessi.

Tutti i tumori (ICD.9= 140-239) - La mortalità per tutti i tumori risulta in aumento sia nella Regione che a Taranto e con valori doppi negli uomini rispetto alle donne. La mortalità per tumori a Taranto è sempre stata chiaramente più elevata che nella Regione, con uno scarto che negli ultimi anni si è ridotto ma che attualmente è ancora del 10% superiore, sia tra gli uomini che tra le donne. Mentre tra gli uomini lo scostamento dai valori regionali si sta riducendo per le donne tende ad aumentare. Tumore della trachea, bronchi e polmone (ICD.9= 162) - Come in molti paesi occidentali la mortalità per tumore al polmone è, dagli anni '90, in diminuzione tra gli uomini ma non tra le donne sia a Taranto che nella Regione. Questi andamenti vengono

generalmente attribuiti ad una diversa abitudine al fumo in riduzione tra gli uomini e in aumento tra le donne. A Taranto però la mortalità per tumore al polmone, che rappresenta circa il 30% delle morti per tutti i tumori tra gli uomini e il 7% tra le donne, risulta molto più elevata di quella regionale. Infatti il confronto tra dati locali e quelli attesi su base regionale mostra eccessi attualmente intorno al 20%-30% statisticamente significativi e in aumento tra le donne. Questi valori elevati sono verosimilmente attribuibili ad esposizione a fumi nocivi, tra cui prima di tutto il fumo di sigaretta, ma anche ad esposizioni ambientali interne o esterne quali il luogo di lavoro o la residenza in aree con aria inquinata.

Tabella 2. Risultati delle analisi di mortalità nel Comune di Taranto per causa e periodo (donne 1970-2004) [§]

| Anni | Confronto Taranto vs Puglia | | | Taranto | | | Puglia | | | |
|--|-----------------------------|-------|----------|---------------|---------|--------|---------|---------|--------|--------|
| | Oss | SMR% | (LC 95%) | TG | TSD-Eur | (e.s.) | TG | TSD-Eur | (e.s.) | |
| Tutte le cause (ICD.9=1-999) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 720 | 92,8 | * | (89,8;95,9) | 625,0 | 756,7 | (12,75) | 771,2 | 818,2 | (3,11) |
| 1981-89 | 785 | 99,2 | | (96,9;101,6) | 629,4 | 613,0 | (7,41) | 689,0 | 617,0 | (1,78) |
| 1990-99 | 848 | 105,1 | * | (102,8;107,3) | 720,0 | 551,2 | (4,49) | 717,8 | 539,3 | (1,45) |
| 1998-04 | 909 | 104,2 | * | (101,7;106,8) | 800,5 | 492,8 | (6,47) | 753,5 | 461,4 | (1,93) |
| Tutti i tumori (ICD.9=140-239) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 126 | 111,8 | * | (103,3;120,9) | 109,7 | 135,9 | (5,45) | 108,3 | 122,3 | (1,24) |
| 1981-89 | 159 | 104,5 | | (99,2;110,1) | 127,9 | 130,8 | (3,49) | 126,5 | 125,8 | (0,84) |
| 1990-99 | 195 | 109,6 | * | (104,7;114,5) | 165,9 | 137,4 | (2,33) | 152,6 | 129,4 | (0,75) |
| 1998-04 | 222 | 111,3 | * | (105,9;117,0) | 195,4 | 135,3 | (3,58) | 167,9 | 117,3 | (1,04) |
| Tumore maligno della trachea, bronchi e polmone (ICD.9=162) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 6 | 113,0 | | (76,3;161,4) | 5,2 | 6,5 | (1,19) | 5,1 | 5,8 | (0,27) |
| 1981-89 | 10 | 121,9 | | (97,5;150,5) | 7,7 | 7,7 | (0,84) | 6,5 | 6,5 | (0,19) |
| 1990-99 | 14 | 138,0 | * | (115,8;163,3) | 11,6 | 9,8 | (0,61) | 8,4 | 7,2 | (0,18) |
| 1998-04 | 16 | 133,2 | * | (110,0;159,9) | 14,5 | 10,3 | (1,00) | 10,3 | 7,3 | (0,26) |
| Tumore maligno della pleura (ICD.9=163) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 1 | 124,3 | | (33,9;318,2) | 0,7 | 0,9 | (0,44) | 0,6 | 0,7 | (0,09) |
| 1981-89 | 3 | 386,0 | * | (244,7;579,2) | 2,0 | 2,1 | (0,43) | 0,6 | 0,5 | (0,05) |
| 1990-99 | 2 | 230,9 | * | (132,0;374,9) | 1,4 | 1,3 | (0,22) | 0,6 | 0,5 | (0,05) |
| 1998-04 | 3 | 311,7 | * | (187,7;486,8) | 2,4 | 1,5 | (0,36) | 0,7 | 0,5 | (0,07) |
| Tumore maligno della mammella (ICD.9=174) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 23 | 114,7 | | (94,6;137,8) | 19,8 | 25,2 | (2,37) | 18,5 | 21,7 | (0,53) |
| 1981-89 | 31 | 101,7 | | (90,2;114,2) | 25,2 | 26,4 | (1,58) | 25,1 | 26,2 | (0,39) |
| 1990-99 | 38 | 112,9 | + | (101,9;124,8) | 32,6 | 30,8 | (1,12) | 28,6 | 26,2 | (0,35) |
| 1998-04 | 43 | 122,5 | * | (109,0;137,2) | 37,7 | 28,8 | (1,72) | 29,3 | 22,4 | (0,48) |
| Tumore maligno dell'utero (ICD.9=179-182) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 22 | 129,3 | + | (106,2;156,0) | 18,9 | 23,8 | (2,29) | 15,9 | 18,7 | (0,50) |
| 1981-89 | 17 | 113,6 | | (96,2;133,3) | 13,4 | 14,1 | (1,16) | 12,1 | 12,3 | (0,26) |
| 1990-99 | 11 | 97,8 | | (80,6;117,4) | 9,7 | 7,6 | (0,55) | 9,9 | 8,7 | (0,20) |
| 1998-04 | 14 | 123,4 | + | (100,0;150,5) | 12,2 | 8,6 | (0,91) | 9,4 | 6,9 | (0,26) |
| Tumore maligno dell'ovaio (ICD.9=183) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 5 | 175,6 | + | (112,6;261,3) | 4,2 | 5,3 | (1,09) | 2,5 | 3,0 | (0,20) |
| 1981-89 | 8 | 135,0 | + | (106,0;169,5) | 6,6 | 7,0 | (0,82) | 4,9 | 5,2 | (0,17) |
| 1990-99 | 9 | 108,1 | | (86,3;133,7) | 7,2 | 5,7 | (0,48) | 6,6 | 6,0 | (0,17) |
| 1998-04 | 12 | 134,5 | + | (107,0;167,0) | 10,3 | 7,6 | (0,87) | 7,2 | 5,4 | (0,23) |
| Tumore maligno della vescica (ICD.9=188) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 2 | 121,2 | | (58,2;222,9) | 1,7 | 2,2 | (0,69) | 1,7 | 1,8 | (0,15) |
| 1981-89 | 2 | 73,2 | | (41,0;120,7) | 1,3 | 1,3 | (0,34) | 2,0 | 1,8 | (0,09) |
| 1990-99 | 2 | 81,0 | | (51,3;121,5) | 2,0 | 1,1 | (0,19) | 2,5 | 1,9 | (0,08) |
| 1998-04 | 5 | 159,3 | + | (109,0;224,9) | 4,0 | 2,5 | (0,45) | 2,5 | 1,5 | (0,11) |

segue

continua

| Anni | Confronto Taranto vs Puglia | | | Taranto | | | Puglia | | | |
|--|-----------------------------|-------|----------|---------------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|
| | Oss | SMR% | (LC 95%) | TG | TSD-Eur | (e,s,) | TG | TSD-Eur | (e,s,) | |
| Linfoma Non Hodgkin (ICD.9=200,202) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 3 | 208,7 | + | (111,1;356,8) | 2,3 | 2,5 | (0,70) | 1,1 | 1,2 | (0,12) |
| 1981-89 | 3 | 103,4 | | (68,1;150,4) | 2,4 | 2,5 | (0,48) | 2,4 | 2,4 | (0,12) |
| 1990-99 | 7 | 146,1 | | (114,7;183,4) | 6,3 | 4,2 | (0,41) | 4,3 | 3,7 | (0,13) |
| 1998-04 | 7 | 108,6 | * | (80,4;143,6) | 6,2 | 4,1 | (0,61) | 5,4 | 4,1 | (0,20) |
| Mieloma Multiplo (ICD.9=203) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 1 | 107,0 | | (34,7;249,9) | 0,9 | 1,1 | (0,48) | 0,9 | 1,0 | (0,11) |
| 1981-89 | 4 | 159,6 | + | (109,9;224,2) | 2,9 | 3,0 | (0,52) | 1,9 | 1,9 | (0,10) |
| 1990-99 | 4 | 131,2 | | (94,6;177,4) | 3,6 | 2,9 | (0,33) | 2,7 | 2,2 | (0,10) |
| 1998-04 | 7 | 161,2 | * | (120,0;211,9) | 6,4 | 4,2 | (0,61) | 3,8 | 2,7 | (0,16) |
| Malattie dell'apparato circolatorio (ICD.9=390-459) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 332 | 86,0 | * | (81,9;90,2) | 288,6 | 367,5 | (9,03) | 399,5 | 427,1 | (2,24) |
| 1981-89 | 355 | 89,9 | * | (86,9;93,1) | 284,6 | 264,6 | (4,75) | 351,0 | 294,7 | (1,18) |
| 1990-99 | 373 | 97,8 | | (94,7;101,0) | 316,4 | 220,7 | (2,70) | 344,7 | 240,0 | (0,92) |
| 1998-04 | 372 | 91,5 | * | (88,0;95,1) | 327,6 | 186,8 | (3,75) | 354,5 | 199,0 | (1,19) |
| Ipertensione (ICD.9=401-405) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 26 | 83,1 | + | (69,5;98,6) | 22,7 | 28,9 | (2,53) | 32,5 | 34,9 | (0,64) |
| 1981-89 | 37 | 81,9 | * | (73,4;91,2) | 29,8 | 27,7 | (1,53) | 40,3 | 33,7 | (0,40) |
| 1990-99 | 59 | 107,1 | | (98,6;116,1) | 49,9 | 30,4 | (1,00) | 49,8 | 34,2 | (0,34) |
| 1998-04 | 75 | 111,9 | + | (102,5;121,9) | 66,2 | 37,0 | (1,65) | 58,8 | 32,3 | (0,47) |
| Malattie Ischemiche (ICD.9=410-414) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 86 | 82,9 | * | (75,2;91,1) | 74,7 | 94,9 | (4,58) | 107,9 | 114,9 | (1,16) |
| 1981-89 | 88 | 98,4 | | (91,7;105,5) | 70,7 | 66,8 | (2,40) | 79,0 | 67,8 | (0,57) |
| 1990-99 | 102 | 116,3 | * | (109,3;123,7) | 86,8 | 61,1 | (1,43) | 78,7 | 56,0 | (0,45) |
| 1998-04 | 80 | 82,3 | * | (75,6;89,4) | 70,6 | 40,9 | (1,77) | 83,6 | 49,0 | (0,60) |
| Malattie dell'apparato respiratorio (ICD.9=460-519) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 58 | 75,7 | * | (67,2;84,9) | 50,4 | 57,7 | (3,45) | 75,3 | 76,6 | (0,93) |
| 1981-89 | 48 | 95,6 | | (86,8;105,1) | 38,4 | 36,3 | (1,78) | 44,7 | 37,9 | (0,43) |
| 1990-99 | 53 | 122,4 | * | (112,1;133,3) | 44,8 | 33,6 | (1,08) | 39,1 | 27,4 | (0,31) |
| 1998-04 | 65 | 132,8 | * | (120,9;145,6) | 57,5 | 32,6 | (1,57) | 43,1 | 24,3 | (0,42) |
| Polmoniti (ICD.9=480-486) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 26 | 86,8 | | (72,6;103,0) | 22,7 | 24,8 | (2,22) | 28,8 | 28,4 | (0,56) |
| 1981-89 | 16 | 135,2 | * | (114,3;158,8) | 13,2 | 12,3 | (1,03) | 10,9 | 9,3 | (0,21) |
| 1990-99 | 15 | 166,7 | * | (140,9;195,9) | 12,6 | 10,0 | (0,59) | 8,2 | 5,7 | (0,14) |
| 1998-04 | 26 | 262,5 | * | (226,0;303,3) | 23,1 | 13,0 | (0,99) | 8,8 | 5,1 | (0,19) |
| Cirrosi (ICD.9=571) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 18 | 116,5 | | (93,4;143,6) | 15,3 | 19,2 | (2,06) | 14,6 | 16,6 | (0,46) |
| 1981-89 | 33 | 137,4 | * | (122,1;154,0) | 26,2 | 26,9 | (1,58) | 19,8 | 19,6 | (0,33) |
| 1990-99 | 33 | 137,5 | * | (123,1;153,2) | 28,2 | 23,1 | (0,94) | 20,6 | 17,2 | (0,27) |
| 1998-04 | 36 | 158,2 | * | (139,2;179,1) | 31,4 | 19,6 | (1,28) | 19,0 | 12,5 | (0,33) |
| Altre malattie del digerente (ICD.9=520-579 escl 571) | | | | | | | | | | |
| 1970-74 | 22 | 113,1 | | (92,8;136,6) | 18,8 | 23,3 | (2,26) | 18,9 | 20,3 | (0,49) |
| 1981-89 | 23 | 131,2 | * | (114,0;150,3) | 18,6 | 17,8 | (1,25) | 15,5 | 13,6 | (0,26) |
| 1990-99 | 26 | 140,5 | * | (123,9;158,8) | 21,9 | 13,7 | (0,69) | 16,4 | 11,9 | (0,21) |
| 1998-04 | 26 | 122,8 | * | (105,7;141,9) | 23,1 | 13,8 | (1,06) | 18,3 | 11,1 | (0,29) |

§ per la Legenda vedi testo paragrafo Risultati

Tumore della pleura (ICD.9= 163) - Si tratta di un tumore raro associato ad esposizione ad amianto. La mortalità, come noto, è molto elevata a Taranto rispetto alla Regione con TSD per 100.000 ab. di 7-8 decessi per gli uomini e di 1-2 per le donne. I valori, come altrove nel

mondo, tendono ad aumentare. Le variazioni % dell'SMR mostrano quindi notevoli eccessi del 100-400% per tutto l'arco di tempo, in entrambi i sessi.

Tumori femminili - L'andamento dei TSD per il tumore della Mammella (ICD.9= 174) mostra come la mortalità dagli anni '90 cominci a diminuire a livello regionale ma non per le donne residenti nel Comune di Taranto. Il rapporto tra il numero di decessi osservati localmente e quelli attesi su base regionale per il tumore alla mammella presenta valori in crescita, e negli anni recenti raggiunge un +20%. La mortalità per tumore all'utero (ICD.9= 179-182) si è invece ridotta notevolmente in questi trenta anni ma a Taranto i valori sono costantemente superiori a quelli regionali e nell'ultimo periodo del 20%. Per il tumore all'Ovaio (ICD.9= 183) invece la mortalità risulta in aumento anche nella Regione, ma presenta valori più elevati tra le donne residenti a Taranto, dell'ordine di +30% nell'ultimo periodo. Questi risultati mostrano la urgenza di attivare al più presto dei programmi diffusi di prevenzione o screenings di popolazione, per altro già previsti dal piano nazionale della prevenzione, 2005-2007 e dai conseguenti piani regionali.

Tumore della vescica (ICD.9= 188) - Sin dagli anni '70 tra gli uomini residenti nel Comune di Taranto la mortalità risulta più elevata rispetto ai valori medi regionali; tra le donne invece i valori risultano più elevati solo nell'ultimo periodo. Le variazioni % dell'SMR mostrano eccessi statisticamente significativi di +40-50% per entrambi i sessi negli anni più recenti, e tra gli uomini anche negli anni '80. In Italia il fumo da sigaretta spiega circa la metà dei tumori alla vescica osservabili nella popolazione generale, ma esposizioni professionali a sostanze tossiche hanno un ruolo importante nel determinare la patologia.

Tumori del sistema linfoemopoietico - Si riportano solo le due sedi tumorali che hanno evidenziato qualche criticità, pur presentando numeri piccoli. I livelli di mortalità per il linfoma non Hodgkin (ICD.9=200,202) sono ovunque in aumento. La mortalità nel Comune risulta di poco più elevata di quella regionale raggiungendo la significatività statistica tra le donne nell'ultimo periodo. Anche la mortalità attribuita a Mieloma Multiplo (ICD.9=230) risulta in crescita, e, per entrambi i sessi, i valori sono più alti per il Comune con eccessi, statisticamente significativi anche nell'ultimo periodo.

Malattie dell'apparato circolatorio (ICD.9= 360-459) - I valori sono in diminuzione ma diversamente dalla mortalità generale per i Tarantini sono inferiori a quelli regionali; unico eccesso tra gli uomini negli anni '90 che richiederà un approfondimento. La mortalità attribuita ad ipertensione (ICD.9=401-405) risulta in crescita e con eccessi significativi nell'ultimo periodo sia tra gli uomini che tra le donne, mentre la mortalità per malattie ischemiche nell'ultimo periodo è nettamente inferiore alla media regionale.

Malattie dell'Apparato Respiratorio (ICD.9= 460-519) - La mortalità attribuita a tutte le malattie respiratorie, sia tra gli uomini che tra le donne, sta sensibilmente diminuendo nel tempo nella Regione ma in misura minore nel Comune. Infatti le variazioni % dell'SMR indicano chiaramente che gli eccessi di mortalità, rispetto alla Regione, aumentano in modo costante e sono statisticamente significativi. Il fenomeno è simile in entrambi i sessi e, oltre che associato all'abitudine al fumo di sigaretta, potrebbe anche avere origini ambientali. La mortalità attribuita a polmonite (ICD.9= 480-486), negli anni '80, si è drasticamente ridotta in entrambi i sessi e i livelli sono in costante diminuzione nella Regione ma non nel Comune. Infatti il rapporto tra decessi osservati e attesi indica un eccesso in percentuale, rispetto ai valori regionali, in costante e preoccupante aumento negli anni, anche tra le donne.

Malattie dell'apparato digerente - La mortalità per cirrosi (ICD.9= 571), pur diminuendo negli anni, risulta per il Comune di Taranto costantemente più elevata di quella regionale in tutto l'arco di tempo considerato. Lo scarto dai valori regionali è in aumento specialmente tra le donne e, negli ultimi anni, anche tra gli uomini. Escludendo la cirrosi, anche la mortalità per

tutte le altre malattie del digerente (ICD.9=520-579 escl. 571) presenta valori chiaramente superiori alla media regionale che richiedono ulteriori approfondimenti.

Discussione

I risultati riportati in questa breve relazione sono quelli più rilevanti di una analisi più ampia in via di completamento. Pur avendo esaminato dati provenienti da due fonti diverse, l'andamento nel tempo indica una sostanziale concordanza e coerenza di risultati. Considerando la mortalità come indicatore approssimato dello stato di salute della popolazione generale emerge che la popolazione residente nella città di Taranto, incluso anche il Comune di Statte, mostrava già all'inizio degli anni settanta evidenti eccessi di mortalità per tutte le cause, per tutti i tumori e per specifiche patologie, verosimilmente associabili ad esposizioni lavorative, quali il tumore al polmone, alla pleura, alla vescica, o associabili a particolari stili di vita quali la cirrosi. La mortalità per patologie quali tutte le malattie dell'apparato respiratorio e la polmonite, associabili sia all'abitudine al fumo sia ai livelli elevati di inquinamento atmosferico, hanno subito un forte calo rispetto agli anni '70, verosimilmente per il miglioramento delle cure, ma tra i residenti nel Comune di Taranto sono più elevate che nella Regione con uno scarto in crescita anche tra le donne.

C'è infine da notare che anche a Taranto, come in altre realtà industriali italiane, nell'ultimo periodo e tra gli uomini, la mortalità per tutti i tumori (TSD=257 per 100.000 ab) ha superato quella per malattie cardiovascolari (=243 per 100.000 ab) mentre questo fenomeno non si osserva nella Regione Puglia nel suo insieme (TSD tumori= 233 vs TSD malattie cardiovascolari= 272 per 100.000 ab).

L'eccesso di mortalità per i tumori femminili costituisce un serio problema, essendo patologie che, con un adeguato programma di prevenzione, dovrebbero vedere una riduzione molto sensibile della mortalità, come già accaduto in altre regioni. Ci auguriamo pertanto che venga avviato al più presto il previsto programma di screening per cui si possa, entro breve, registrare un andamento inverso della mortalità.

Studio caso-controllo relativo a casi di tumore incidenti nel Comune di Taranto: risultati preliminari

Questo studio è attualmente ancora in corso e in questa sede si riporta un breve riassunto dei primi risultati presentati al Convegno Nazionale dell'Associazione Italiana di Epidemiologia tenutosi a Palermo nel novembre 2006 (8). Lo studio esplora il ruolo delle sorgenti di emissioni di tipo puntiforme nella eziologia delle patologie neoplastiche, ponendo il quesito sulla possibilità di associare un rischio di neoplasia alla residenza in prossimità di un sito industriale che emetta composti volatili o particolato.

Quali possibili fonti di inquinamento ambientale sono stati individuati sul territorio del Comune di Taranto: l'impianto di raffinazione IP, i depositi IP, il cementificio, il deposito minerario, le cokerie, le acciaierie, i cantieri navali e l'arsenale militare.

È stato disegnato uno studio di tipo caso-controllo che ha preso in esame i casi incidenti di alcuni tumori selezionati negli anni 2000-2002 nei residenti nel Comune di Taranto.

Le patologie scelte sono i tumori maligni di trachea, bronchi e polmone, della pleura, della vescica e del sistema linfoemopoietico.

Con un procedimento di estrazione randomizzata, che teneva conto della distribuzione per età e sesso dei casi (35-74 anni) è stato individuato un gruppo di controllo di individui residenti nel Comune di Taranto. Per tutti i soggetti è stata raccolta presso il Comune la storia residenziale ed è stata stimata la “residenza principale”, intesa come la residenza di maggiore durata con l’esclusione degli ultimi dieci anni.

Sono state quindi individuate sulla mappa di Taranto le residenze principali e sono state calcolate le distanze della residenza principale di tutti i soggetti nello studio da ognuno dei siti considerati quali possibili fonti di inquinamento ambientale.

Sulla base della distribuzione delle distanze da ogni sito delle residenze principali dei soli controlli, sono state costruite quattro aree, concentriche rispetto ad ogni sito, equivalenti in termini di numerosità della popolazione residente.

Ogni soggetto è stato codificato in base alla corona di appartenenza e sono state stimate le “odds ratio” per ogni patologia in rapporto ad ogni sito puntiforme

Risultati - Sono stati considerati 659 casi di tumori maligni: 260 tumori polmonari, 23 mesoteliomi pleurici, 183 tumori alla vescica e 193 tumori del sistema linfemopoietico. Ad essi sono stati associati 2091 soggetti risultati eligibili come controlli fra quelli estratti dalle liste degli assistiti della ASL1 di Taranto.

Per quanto riguarda il tumore polmonare si evidenzia un’associazione statisticamente significativa con la distanza della residenza principale dalle acciaierie e un’associazione statisticamente non significativa con la distanza della residenza principale dai cantieri navali

Il tumore maligno della pleura mostra un andamento statisticamente significativo in relazione alla vicinanza dei cantieri navali, anche se l’esiguo numero dei casi (23) si riflette sugli intervalli di confidenza delle ORs

I tumori vescicali e linfemopoietici non sembrano evidenziare alcuna associazione in rapporto alla distanza da alcuno dei siti puntiformi considerati.

I risultati conseguiti corroborano l’ipotesi di un ruolo eziologico delle esposizioni ambientali a cancerogeni inalabili sulle neoplasie dell’apparato respiratorio. Lo studio ora procede con l’acquisizione delle storie lavorative di casi e controlli, al fine di stimare il peso relativo delle componenti ambientali e occupazionali delle esposizioni in essere.

Conclusioni

Dai due studi presentati emerge il quadro di una città che già dal passato sostiene un notevole peso di patologie letali, e dove, nel corso dei trenta anni esaminati nel primo studio, i rischi per alcune patologie stanno chiaramente aumentando. Oltre alle patologie chiaramente legate ad esposizioni lavorative e quindi presenti maggiormente nella mortalità maschile emerge un aumento di patologie verosimilmente legate anche ad esposizioni residenziali e in aumento anche tra le donne, che nella realtà Tarantina sono verosimilmente meno coinvolte in lavori con esposizioni altamente nocive rispetto agli uomini.

Il secondo studio, se pur ancora non terminato si pone come naturale continuazione del primo e suggerisce un possibile ruolo della distanza della residenza dalle fonti di emissioni nocive. I risultati futuri, che prevedono l’aggiustamento per la storia lavorativa, potrebbe confermare un possibile ruolo della esposizione ambientale, già suggerito dalla analisi di mortalità su tutta la popolazione.

Ringraziamenti

Un particolare ringraziamento al Prof. Benedetto Terracini, dell'Università di Torino, per il suo sostegno e gli utili suggerimenti nella stesura della relazione. Un sentito ringraziamento va al Signor Giovanni Ciaccia, dell'ASL 1 di Taranto per la preziosa e precisa collaborazione nella preparazione del data set.

Bibliografia

1. OMS. *Ambiente e Salute in Italia*. Roma: Il pensiero Scientifico Editore; 1997.
2. OMS. *Ambiente e stato di salute nella popolazione delle aree ad elevato rischio di crisi ambientale in Italia*. Roma: OMS; 2001.
3. Minerba S, Annicchiarico L, Mancino N. Mortalità per Carcinoma del Polmone a Taranto. *Folia Oncol* 1993;16:143.
4. Biggeri A, Bellini P, Terracini B (Ed). *Metanalisi Italiana degli studi sugli effetti a breve termine dell'inquinamento atmosferico 1996-2002*. *Epidemiol Prev* 2004; Suppl.:1-94.
5. Forastiere F, Stafoggia M, Berti G, Bisanti L, Cadum E, Chiusolo M, De Lisio S, Miglio R, Pandolfi P, Picciotto S, Primerano R, Rognoni M, Russo A, Serinelli M, Simonato L, Tessari R, Vigotti M, Perucci CA. Acute medical conditions associated with PM₁₀ related mortality: a multi-city case-crossover analysis. *International Conference on Environmental Epidemiology & Exposure*. Parigi, 2-6 September 2006. p. 342.
6. Bollettino Epidemiologico dell'ASL-1 Taranto. Disponibile all'indirizzo: <http://www.auslta1.it>; ultima consultazione 30/10/2007
7. Vigotti MA, Bruni A, Minerba S, Cavone D, Conversano M. Mortality analysis in a city at high risk of environmental crisis, 1970-2004. *Poster: International Conference on Environmental Epidemiology & Exposure*. Parigi, 2- 6 September 2006. p. 171.
8. Belli S, Bruni A, Minerba S, Scarselli A, Marinaccio A, Comba P, Conversano M. Studio caso-controllo relativo a casi di tumore incidenti nel comune di Taranto. *Atti del XXX Convegno AIE. Epidemiologia: una disciplina tante applicazioni*. Palermo 4-6 ottobre 2006. p. 114.
9. Vigotti MA, Minerba S. "Salute"- *Relazione sullo stato dell'Ambiente/RSA2006*. Disponibile all'indirizzo: <http://www.taras2020.it/salute>; ultima consultazione 30/10/2007.
10. Cislaghi C, De Molli S, Pavanello E, Pianosi G. Confronto tra metodi differenti di ricostruzione della mortalità a livello comunale. *Epidemiol Prev* 1981;15-16:48-54.
11. ISTAT. *Ricostruzione della popolazione residente per età e sesso nei comuni italiani. Anni 1992-2001*. Roma: ISTAT; 2006. Disponibile all'indirizzo: http://www.istat.it/dati/catalogo/20060616_00/; ultima consultazione 30/10/2007.
12. Breslow N, Day N. *Statistical methods in cancer research. Vol II. The design and analysis of cohort study*. Lyon: IARC; 1987.

ANALISI DI CORRELAZIONE GEOGRAFICA TRA ESITI SANITARI ED ESPOSIZIONE A RIFIUTI IN UN'AREA CON SORGENTI DIFFUSE: IL CASO DELLE PROVINCE DI NAPOLI E CASERTA

Fabrizio Minichilli (a), Francesco Mitis (b)

(a) *Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto Fisiologia Clinica, Sezione di Epidemiologia, Pisa*

(b) *Organizzazione Mondiale della Sanità, Centro Europeo Ambiente e Salute, Roma*

Introduzione

La Regione Campania è commissariata dal Governo per l'emergenza rifiuti dal 1994. Una gestione pluriennale non sempre corretta dell'intero ciclo dei rifiuti, sia solidi urbani che pericolosi, e numerose pratiche illegali legate a tali attività hanno determinato sul territorio un'elevata crisi ambientale. Nel 2000, riconoscendo tale situazione, è stato istituito il sito di interesse nazionale per le bonifiche "Litorale Domitio-Flegreo e Agro Aversano" comprendente il territorio di 61 Comuni delle province di Napoli e Caserta, per la presenza diffusa di numerose discariche di rifiuti urbani e industriali. La situazione è progressivamente peggiorata e sono tuttora presenti sul territorio numerosi siti di smaltimento illegale di rifiuti, caratterizzati in taluni casi da pratiche di incenerimento incontrollato. Sono crescenti le preoccupazioni sui possibili effetti sanitari delle diverse pratiche di gestione dei rifiuti, che tra l'altro si aggiungono a quelli legati a pressioni ambientali di altra natura.

Nel 2004 è stato pubblicato un primo studio epidemiologico sulla mortalità in tre Comuni, caratterizzati da una forte concentrazione di siti di smaltimento legale e illegale di rifiuti, che ha evidenziato un eccesso di rischio rispetto al resto della Regione, per alcune patologie tumorali (1). Un reportage di Lancet Oncology pubblicato nel 2004 (2) aveva invece circoscritto il rischio per la salute in un "triangolo della morte", stabilito a priori sulla base di conoscenze e percezioni locali ottenute in modo non pianificato. Una successiva lettera a Lancet Oncology aveva segnalato la necessità di un diverso approccio metodologico e analitico (3) da applicare in aree in cui l'esposizione a rifiuti è dovuta alla presenza di sorgenti diffuse ed eterogenee, per pericolosità ed estensione. In seguito, il Dipartimento della Protezione Civile ha commissionato all'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) uno studio sull'impatto sanitario dei rifiuti nei Comuni delle province di Napoli e Caserta. Per l'esecuzione del lavoro è stato creato un gruppo di lavoro multidisciplinare che ha coinvolto, oltre all'OMS, istituti di ricerca nazionali quali l'ISS e il Consiglio Nazionale delle Ricerche di Pisa, e regionali, quali l'ARPA Campania e l'Osservatorio Epidemiologico della Regione Campania.

Studio pilota

In una prima fase di fattibilità (studio pilota, SP) sono stati analizzati i dati di mortalità (ISTAT, 1994-2001) e di incidenza delle malformazioni congenite (Registro Campano Difetti Congeniti, 1996-2002) nei 196 Comuni delle province di Napoli e Caserta; sono state considerate 20 cause tumorali e 13 raggruppamenti di malformazioni congenite (MC), per le

quali nella letteratura scientifica erano riportate segnalazioni di rischio associate alla presenza di discariche e inceneritori.

Metodi utilizzati

Sono stati calcolati, per entrambi i sessi, i rapporti standardizzati di mortalità/MC (SMR, IC 95%) e gli stimatori bayesiani gerarchici (BMR, ICr 95%). Questi ultimi, introdotti da Besag *et al.* (4) e perfezionati da Mollié (5), stimano i rischi basandosi su procedure iterative prendendo in considerazione anche i valori del rischio nei Comuni adiacenti e correggendo verso la loro media gli eccessi di rischio basati su pochi casi. Entrambi gli stimatori sono stati calcolati con riferimento all'atteso regionale e mappati.

Sono state effettuate alcune analisi riassuntive allo scopo di sintetizzare la mole di informazioni processata, evidenziando, per le due province separatamente, i Comuni con un maggior numero di cause in eccesso, così da identificare le situazioni sanitarie potenzialmente critiche. A tale scopo, le cause si sono considerate in eccesso nei casi seguenti: i) sia l'SMR che il BMR sono in eccesso statisticamente significativo; ii) l'SMR non è statisticamente significativo ma lo è il BMR, con un numero di casi superiore a 2 (6).

Risultati: mortalità e MC

I risultati dello SP (7) identificavano un'area nella quale la mortalità generale, i tassi specifici per diverse cause tumorali (fegato, stomaco, polmone) e per alcuni sottogruppi di MC (cardiovascolari, arti, urogenitali) erano particolarmente elevati. Questa zona comprendeva alcuni Comuni della parte Sud-Est della provincia di Caserta e alcuni ad essi limitrofi della parte Nord della provincia di Napoli e coincideva parzialmente con (i) il sito di interesse nazionale per la bonifica "Litorale Domitio-Flegreo e Agro Aversano" e (ii) l'area interessata dalla presenza di discariche e siti di abbandono incontrollato di rifiuti (Figura 1).

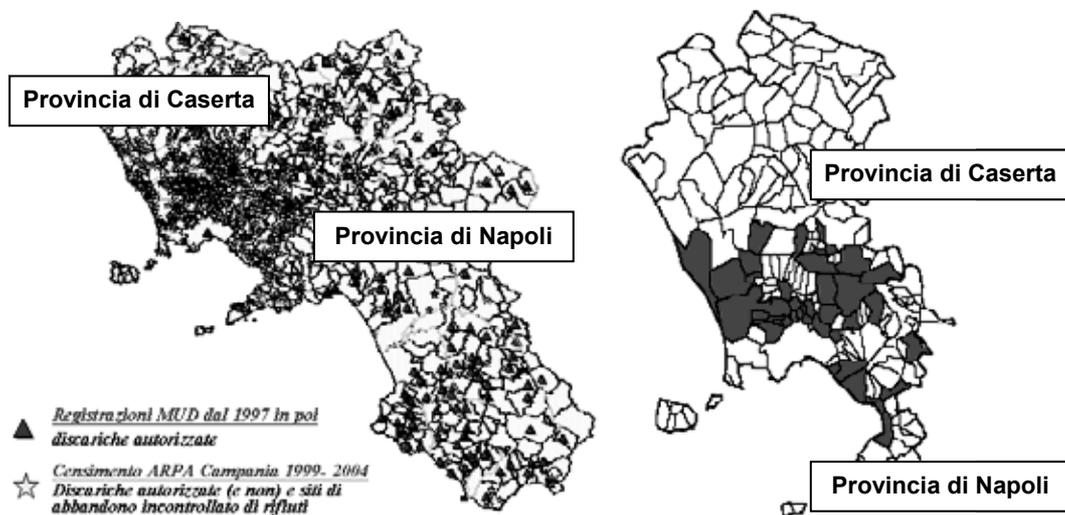


Figura 1. Risultati dello SP: dislocazione geografica dei siti di smaltimento rifiuti e Comuni con eccessi di rischio per mortalità e MC

Risultava difficile stabilire, sulle basi dei risultati di uno studio epidemiologico descrittivo, se la corrispondenza dei numerosi eccessi di rischio con la possibile occorrenza di esposizioni legate allo smaltimento dei rifiuti fosse di natura causale e, nel caso, stimare l'entità di tale impatto. L'area in questione, infatti, era caratterizzata da un'alta densità di popolazione e da numerose pressioni ambientali risultanti da intense attività industriali e agricole.

Analisi dei *cluster*

Lo SP ha permesso di visualizzare mediante mappe le macroaree a maggior rischio di eventi avversi, composte da Comuni adiacenti con eccessi di mortalità e MC. Per tali aree è stata aggiunta in questa fase dello studio l'informazione su una stima congiunta del rischio e la relativa significatività statistica. La ricerca di aggregati significativi è stata effettuata (i) sulle MC e cause di morte emerse dai risultati dello SP e (ii) sulle cause per le quali si avevano maggiori indicazioni a priori: la maggior parte dei gruppi di MC già esaminati nello SP e una serie di cause tumorali (tumore polmonare, epatico, gastrico, vescicale, del rene, sarcomi dei tessuti molli e linfomi non Hodgkin).

Le analisi effettuate a livello comunale sugli eventi osservati negli stessi periodi dello SP hanno permesso di identificare aggregati di Comuni (*cluster*) con un numero osservato di morti/MC in eccesso statisticamente significativo rispetto al numero di eventi attesi, calcolati sulla base del tasso di mortalità/MC sperimentato dal complesso delle due province (escluso il Comune di Napoli per i motivi citati di seguito).

Metodi utilizzati

L'analisi di *clustering*, effettuata mediante la tecnica *Spatial Scan Statistic* di Kulldorff (8) utilizzando il pacchetto SaTScan 3.0 (9), permette di identificare *cluster* spaziali in una determinata area senza la necessità di localizzare a priori le diverse fonti di esposizione presenti nel territorio.

Si ipotizza che gli eventi osservati a livello comunale abbiano una distribuzione poissoniana. Il metodo lavora utilizzando una finestra circolare con raggio variabile che si sposta su tutto il territorio in studio. La finestra viene centrata ad ogni *step* su ognuno dei possibili punti x,y (rappresentanti le coordinate geografiche del Comune di turno). Per ogni Comune la finestra varia il suo raggio da 0 ad un massimo fissato (10 km). Il metodo identifica per ogni Comune l'area circolare con SMR più elevato e tra queste seleziona quelle con SMR statisticamente significativo. In dettaglio, per ogni finestra identificata viene testata l'ipotesi nulla (H_0 : numero di casi osservati nel *cluster* uguale a quelli attesi) con il test del rapporto di verosimiglianza (LRT). Un *cluster* è statisticamente significativo quando $LRT > 7.16$ corrispondente a un $p < 0.05$. Per ogni *cluster* vengono forniti i numeri di casi osservati e attesi, il centroide e il raggio, l'SMR e il *p value*.

Gli SMR nelle analisi delle MC sono stati standardizzati per indice di deprivazione socioeconomica (ID), descritto dettagliatamente in seguito.

Le analisi di mortalità sono state effettuate negli uomini, nelle donne e sulla totalità dei soggetti. Gli SMR sono stati standardizzati per ID ed età, considerata come variabile discreta suddivisa in 16 classi di età (0-14 anni, 14 classi di età quinquennali da 15-19 fino a 80-84, 85+).

I risultati possono risentire (i) della dimensione demografica dei Comuni (questo limite ha portato all'esclusione del Comune di Napoli che rappresenta un terzo della popolazione

provinciale) e (ii) dell'esistenza o meno di discontinuità tra Comuni con eccesso di eventi. Inoltre, l'utilizzo della coordinata x,y del municipio dei Comuni come punto rappresentativo del Comune anziché di un centroide basato sulla effettiva distribuzione della popolazione può causare qualche cambiamento nell'identificazione dei *cluster* significativi.

Risultati mortalità e MC

L'analisi della mortalità ha evidenziato *cluster* per i tumori dello stomaco, fegato, polmone, dei reni e della vescica. I *cluster* sono localizzati in un'area che è sostanzialmente coincidente con quella in cui l'analisi precedente ha evidenziato un più alto numero di eccessi di rischio, rispetto all'intera Regione. L'analisi delle MC ha evidenziato *cluster* di Comuni con eccessi di malformazioni totali, degli arti, del sistema cardiovascolare e dell'apparato urogenitale, anch'essi in un'area sovrapponibile a quella emersa precedentemente.

Questi risultati, insieme a quelli dello SP, corroborano la nozione di un'anomalia nello stato di salute della popolazione residente nei Comuni dell'area Nord-Est della provincia di Napoli e Sud-Ovest della provincia di Caserta.

Studio di correlazione geografica

La seconda fase dello studio è stata dedicata all'analisi più dettagliata dello stesso sottoinsieme di cause già analizzato con l'analisi dei *cluster*, in relazione ad una migliore caratterizzazione territoriale riferibile al rischio rifiuti. Lo studio si è basato sull'analisi statistica effettuata con modelli di regressione multivariata, di tipo sia classico che bayesiano, utilizzati per stimare la correlazione tra esiti sanitari e livello di pressione ambientale, intesa come potenziale esposizione alle emissioni dei siti di smaltimento dei rifiuti.

Indicatore comunale di esposizione a rifiuti

Per caratterizzare meglio l'esposizione della popolazione al rischio rifiuti si è creato un database in cui si sono inseriti, dopo un processo di validazione e verifica della georeferenziazione, i dati del censimento dei siti di smaltimento rifiuti autorizzati e non (10, 11). Si sono così selezionati 140 siti nella provincia di Caserta e 86 nella provincia di Napoli, successivamente classificati in base alla loro pericolosità da un gruppo di esperti considerando la natura del sito (discariche e siti di stoccaggio autorizzati o non, cumuli, rifiuti sommersi, abbandoni incontrollati ecc.), i volumi, le tipologie di rifiuto e le modalità di rilascio di inquinanti (12).

Intorno ad ogni sito, si è considerato il cerchio di 1 km di raggio quale area di impatto. Ogni cerchio è stato classificato in base alla pericolosità del sito. In caso di parziale sovrapposizione di più cerchi, la pericolosità delle porzioni in comune è stata assegnata come combinazione delle pericolosità dei siti (Figura 2). I dati relativi alle aree di impatto, integrati dalla loro superficie e dalla popolazione residente potenzialmente esposta, derivata dalle sezioni di censimento ISTAT 2001, sono stati successivamente aggregati a livello comunale ed elaborati, per ogni Comune, in un indicatore comunale di esposizione a rifiuti (IR). Sulla base di questo indicatore, i Comuni delle due province sono stati ripartiti in 5 gruppi utilizzando il metodo dei *natural breaks* (13).

In tal modo si sono creati gruppi di diversa numerosità, molto diversi tra loro, ma omogenei al loro interno per il grado di pressione ambientale legata allo smaltimento dei rifiuti. Si è così identificato un gruppo di 8 Comuni a maggior rischio, un gruppo di un centinaio di Comuni a rischio minimo, usato come riferimento nelle analisi, e 3 gruppi caratterizzati da situazioni intermedie. Come visibile in Figura 2 i Comuni più a rischio (mappati in scuro) si trovano nella zona identificata durante lo SP.

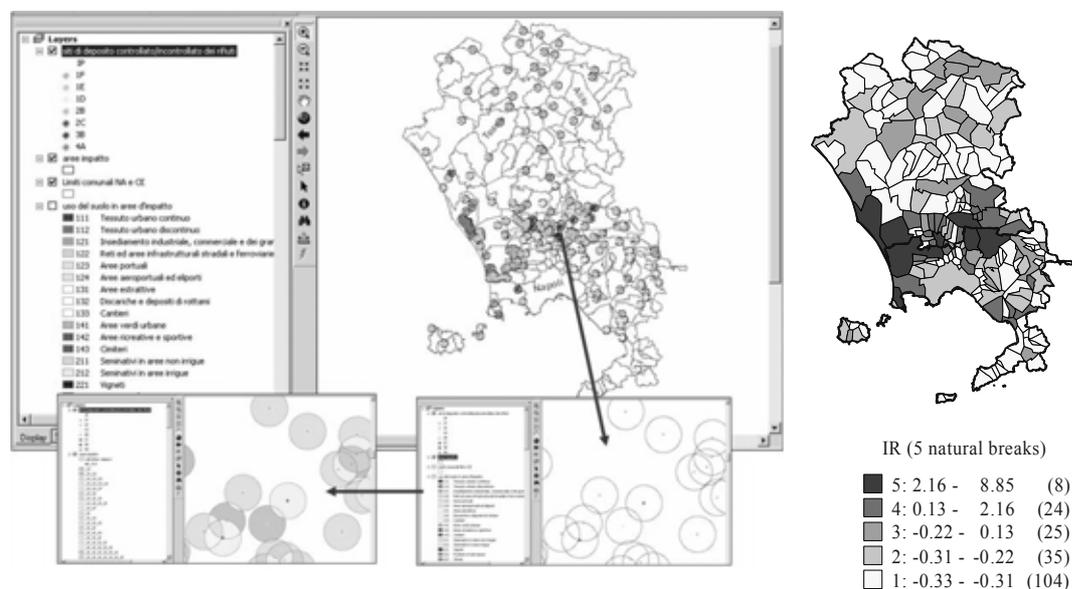


Figura 2. Costruzione dell'indicatore comunale di esposizione a rifiuti e sua discretizzazione

Indice di deprivazione socioeconomica

All'interno dei modelli di regressione è stato inserito, come indicatore di disagio materiale e sociale, un ID (14) utilizzato in precedenti studi di epidemiologia descrittiva (15). L'indice è basato su dati di censimento 1991 e fondato su cinque variabili riguardanti il dato di istruzione, la qualità abitativa, la disoccupazione e la struttura familiare (Figura 3). I dati del 2001 erano disponibili ma, soprattutto per le cause di morte tumorali, l'utilizzo di un indicatore costruito sui dati di censimento più recenti non sarebbe stato adeguato allo studio di patologie a media e lunga latenza. L'indice basato sui dati del 2001 è, in ogni caso, molto correlato con quello del 1991 ($r=0.85$): il loro utilizzo è quindi, pressoché equivalente. L'indice è stato inserito nei modelli come variabile discreta, suddivisa in quintili, ottenuti dalla distribuzione dell'indice nelle due province. La ripartizione dell'indice in base alla sua distribuzione regionale avrebbe comportato l'inclusione della maggior parte dei Comuni delle due province nella classe più deprivata e avrebbe reso inutile il suo inserimento come covariata nei modelli di regressione. I Comuni più deprivati sono riportati in Figura 3 e interessano la zona al confine delle due province già descritta in precedenza.

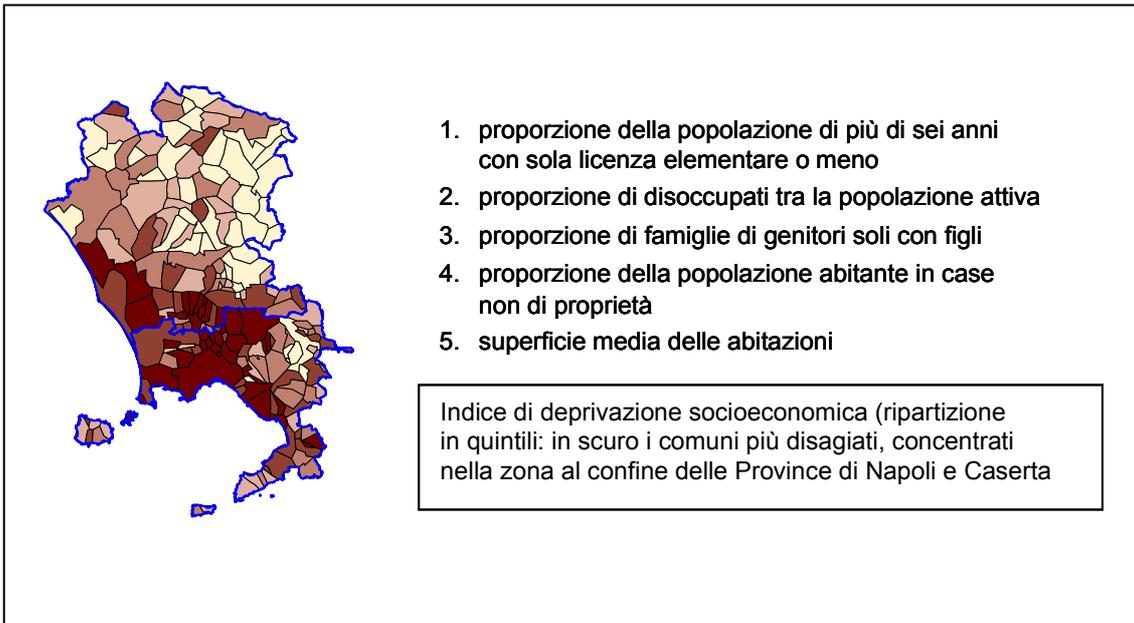


Figura 3. Indice di deprivazione socioeconomica (1991)

Regressione di Poisson

La stima del rischio di mortalità/MC nelle diverse classi degli indicatori IR e ID è stata effettuata con l'utilizzo di modelli di regressione lineare di Poisson (16).

Il rischio stimato nei diversi profili di esposizione dipende dalla combinazione lineare dei due indici in studio; il rischio R_{ij} per il gruppo di Comuni con IR di classe i e iD di classe j è dato dalla seguente formula:

$$R_{ij} = \frac{\mu_{ij}}{t_{ij}} = e^{\alpha + \beta_{IR} * IR_i + \beta_{ID} * ID_j},$$

dove:

- μ_{ij} è il valore atteso dei morti/malformati del gruppo di Comuni con IR= i e iD= j
- t_{ij} rappresenta il numero di residenti/nati residenti del gruppo di Comuni con IR= i e iD= j .

Il confronto dei rischi tra le diverse classi di ogni indice è stato effettuato utilizzando il rapporto tra i rischi cioè il Rischio Relativo (RR).

Il RR della classe di Comuni con indice rifiuti pari ad i è stato calcolato come rapporto tra R_{ij} e R_{1j} , dove R_{1j} rappresenta il rischio nella classe di riferimento cioè quella con IR=1 e iD costante pari a j . Per esempio se il RR della classe di Comuni con IR massimo (IR=5) è 1,10 allora significa che tale classe ha un rischio di mortalità/MC del 10% superiore al rischio della classe di riferimento.

A differenza dello studio sulle MC, nelle analisi di mortalità è stato introdotto anche l'effetto dell'età poiché fortemente associato al rischio di mortalità: le stime degli R_{ij} vanno interpretate al netto delle sue variazioni. Inoltre le analisi di mortalità sono state effettuate separatamente per i due sessi.

I RR sono stati considerati statisticamente significativi con due livelli di probabilità: 95% (p value < 0,05) e 90% (p value < 0,1). Le stime dei RR sono state ottenute mediante il comando

“poisson” del pacchetto statistico STATA 8 SE (17).

Il dato sul trend riportato nelle tabelle dei risultati descrive il rischio medio che si osserva nel passare da una categoria di rischio (ambientale o socioeconomico) alla successiva. Si ha una significatività statistica del trend, crescente o decrescente, con gli stessi livelli di probabilità utilizzati per i RR.

Metodi bayesiani

L'applicazione dei BMR aveva individuato nello SP pattern spaziali abbastanza marcati nella zona al confine delle sue province. L'applicazione di tale metodo su scala provinciale non aveva però consentito – è stato chiaro solamente a posteriori – di individuare una struttura spaziale unica che considerasse le due province simultaneamente.

I BMR sono stati così ricalcolati tenendo conto dell'intera struttura spaziale delle due province (come se non esistesse alcun confine amministrativo (in termini tecnici, utilizzando una sola matrice delle adiacenze) con l'aggiunta di due covariate: l'IR (discretizzata sui *natural breaks*) e l>ID a riferimento provinciale (discretizzato in quintili). I risultati così ottenuti forniscono preziose indicazioni supplementari e consentono, oltre a fornire indicazioni per i singoli Comuni e sulla loro aggregazione in zone a maggior o minor rischio, di individuare le variazioni del rischio che si possono osservare, rispetto alla prima classe dei due indici, nei Comuni appartenenti alle classi successive di “compromissione ambientale” e di “deprivazione socioeconomica”, consentendo un confronto tra classi di Comuni più e meno svantaggiati.

I BMR sono stati calcolati con ICr al 95% tramite metodi iterativi Monte Carlo noti con il nome di campionamento di Gibbs (18) applicati usando il software WinBUGS (19). Le stime dei BMR con covariate sono state ottenute usando lo stesso programma applicando il modello “*car.normal*” del modulo GeoBUGS (20). Il raggiungimento della convergenza è controllato con il test di Gelman Rubin (21), come modificato da Brooks e Gelman (22), ed esaminando le funzioni di densità di tutti i nodi stocastici stimati dal modello.

L'eterogeneità del rischio all'interno delle due province è stata divisa in una componente dovuta a fattori casuali e in una frazione attribuibile alla struttura spaziale dei rischi comunali e delle covariate. Nel commentare l'eterogeneità si è adottato il seguente criterio: se la cosiddetta frazione spaziale è elevata e corredata di ICr abbastanza stretto (di massima, limite inferiore dell'intervallo superiore al 50%) la componente spaziale ha un ruolo molto rilevante.

Risultati mortalità

Per la mortalità generale, nelle 5 categorie di Comuni il rischio cresce mediamente del 2%, in entrambi i sessi, da una categoria a minor pressione ambientale alla successiva a pressione più elevata, con un trend statisticamente significativo. Confrontando il gruppo dei Comuni a maggior rischio ambientale con quello di riferimento si osserva un eccesso di mortalità generale del 9% per gli uomini e del 12% per le donne. Gli incrementi osservati nelle 4 classi di Comuni rispetto alla prima sono riportati in Allegato (Tabelle A1-A4) e in Figura 4.

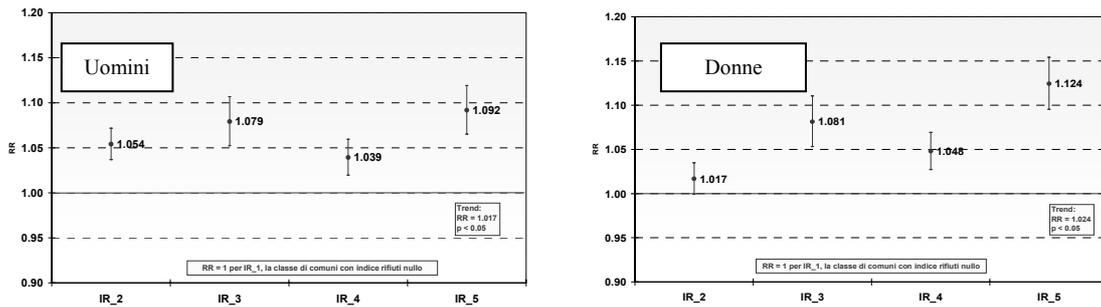


Figura 4. Regressione di Poisson: mortalità generale, 1994-2001

Per il tumore epatico si conferma quanto già evidenziato dallo SP: in entrambi i sessi, al crescere dell'IR si registra un trend crescente e statisticamente significativo del rischio di mortalità (4% negli uomini e 7% nelle donne). Più dettagliatamente, negli uomini (Tabella A1) in alcuni gruppi di Comuni si osservano eccessi di rischio elevati e statisticamente significativi: un eccesso di rischio del 21% nei Comuni del terzo gruppo rispetto a quelli del primo e del 19% negli otto Comuni con maggior rischio ambientale. Nelle donne, negli otto Comuni del quinto gruppo si osserva un eccesso di rischio statisticamente significativo del 29% (Tabella A2). A titolo di esempio si riportano i risultati dell'analisi bayesiana in Tabelle A3 e A4 e in Figura 5. Si può osservare come, soprattutto negli uomini, i Comuni con gli eccessi maggiori siano concentrati nella zona già individuata. Un'ampia porzione dell'eterogeneità della distribuzione del rischio è infatti spiegata da fattori spaziali (81,6%) (58,8-99,8).

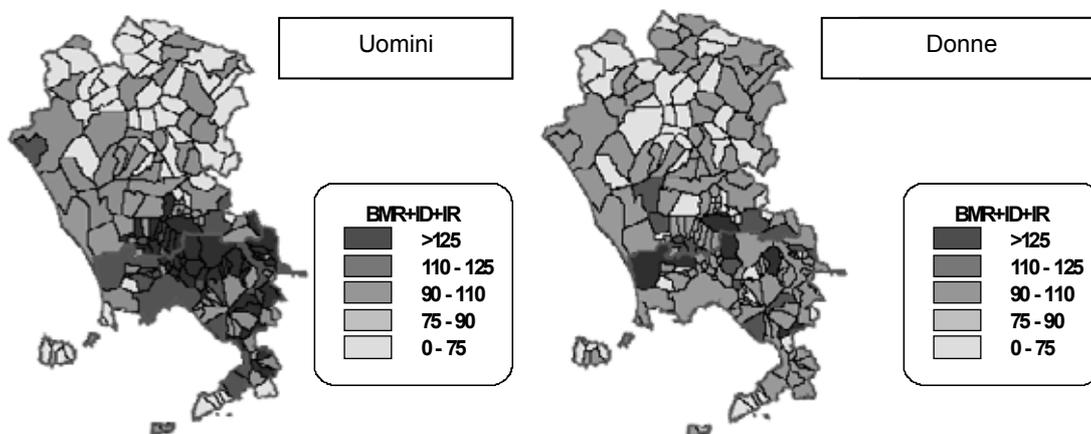


Figura 5. Analisi bayesiana: tumore del fegato e dei dotti biliari, 1994-2001

Risultati: MC

Dalla Tabella A5 si nota che i nati residenti nei Comuni a rischio medio (secondo e terzo gruppo) hanno un rischio di MC totali rispettivamente del 9% e del 14% significativamente più elevato rispetto a quello dei Comuni di riferimento.

Dalle analisi dei singoli gruppi di MC (Tabella A5 e Figura 6) si nota un eccesso di rischio di MC del sistema nervoso dell'84% significativamente superiore per il quinto gruppo rispetto al

riferimento. I risultati mostrano inoltre un trend lineare crescente dell'8%. Per le MC dell'apparato urogenitale si osservano eccessi di rischio nel quarto e nel quinto gruppo rispettivamente del 54% e dell'83% significativamente superiori rispetto al gruppo di riferimento. I risultati mostrano inoltre un trend del rischio di MC lineare e significativamente crescente con un aumento del 14% al crescere dell'IR.

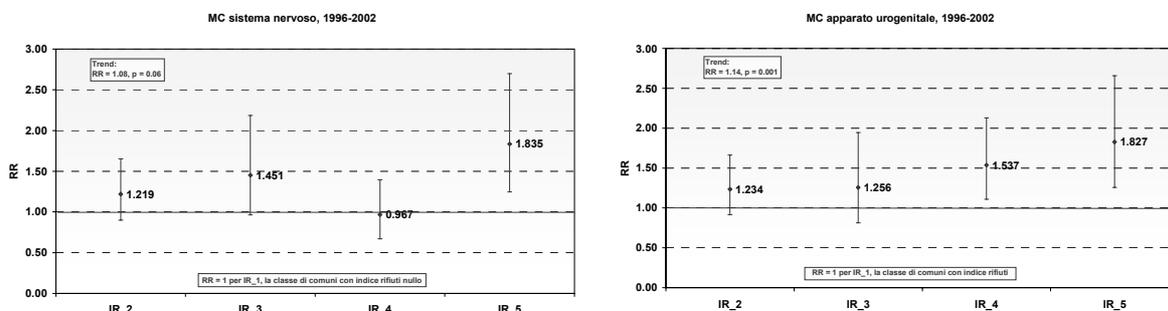


Figura 6. Regressione di Poisson: MC sistema nervoso e MC apparato urogenitale, 1996-2002

I risultati dei modelli bayesiani sul totale delle MC (Tabella A6) hanno mostrato un rischio del 29% significativamente superiore per la classe di Comuni con IR=5 rispetto al gruppo di riferimento. Inoltre, si osserva un trend lineare significativamente crescente del 5% di rischio di MC al crescere dell'IR. Le analisi bayesiane confermano i risultati dei modelli poissoniani classici per entrambi i gruppi di MC evidenziati, in particolare per i trend si notano rischi che aumentano ulteriormente del 2% al crescere dell'IR.

Dalle analisi della distribuzione geografica del rischio bayesiano (Figura 7) si evidenzia che diversi eccessi di MC del sistema nervoso e la maggior parte degli eccessi di MC dell'apparato urogenitale sono risultati in Comuni al confine tra le due province.

Tutti i risultati evidenziati, sia classici che bayesiani, confermano e rafforzano le evidenze risultanti sia dallo SP sia dall'analisi di *clustering*.

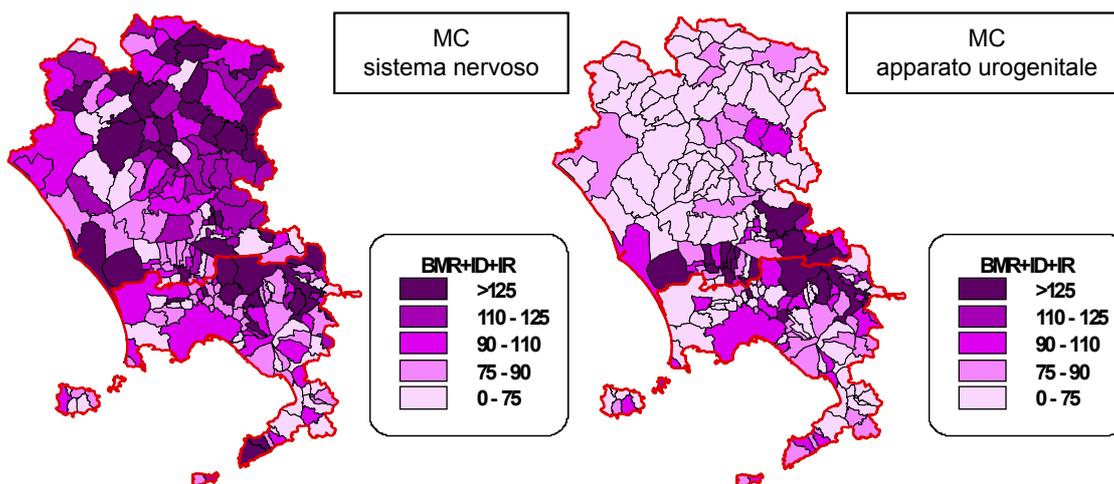


Figura 7. Analisi bayesiana: MC sistema nervoso e MC apparato urogenitale, 1996-2002

Discussione

Lo studio di correlazione conferma l'ipotesi che eccessi statisticamente significativi di mortalità e di malformazioni tendano a concentrarsi nelle zone dove è più intensa la presenza di siti conosciuti di smaltimento dei rifiuti.

Lo studio di correlazione geografica a livello comunale presenta comunque diversi limiti:

- l'esposizione ai rifiuti non è misurata utilizzando misure biologiche sui singoli soggetti ma è riferita ad un aggregato di soggetti residenti nella stessa area. Tale misura surrogata dell'esposizione individuale può portare alla misclassificazione dei soggetti;
- l'esposizione è misurata tramite una misura surrogata ordinale (IR categorico) e non come valore individuale per ogni unità di osservazione;
- i dati relativi alla pratica illegale dell'incenerimento dei rifiuti non sono considerati nella costruzione dell'IR in quanto non censiti: ciò non permette di avere una stima approssimativa dei livelli di diossina; tale elemento insieme all'esclusione di un numero consistente di siti di piccole dimensioni e di siti ignoti contribuisce a sottostimare il valore dell'IR;
- le stime di rischio non sono aggiustate per i principali fattori di confondimento o di modificazione d'effetto come l'occupazione, la migrazione dei soggetti, l'abitudine al fumo e all'alcol, l'alimentazione e la familiarità, la presenza di impianti industriali localizzati nelle aree a rischio, a causa della loro mancata disponibilità nelle rilevazioni routinarie: l'ID raccoglie solo una parte di questo confondimento;
- i dati sugli *outcome* sono aggregati a livello di area e non verificabili sul singolo soggetto;
- la suscettibilità alla cosiddetta *fallacia ecologica*, cioè gli errori che si possono commettere nel trasportare a livello individuale i risultati trovati a livello di popolazione aggregata.

I limiti dello studio non consentono di indagare la relazione causa-effetto, con la conseguenza di non poter utilizzare gli indicatori di rischio stimati a livello geografico in indicatori di rischio attribuibile alla presenza di sostanze nocive presenti in discariche. Tuttavia, la facile reperibilità di buoni dati a livello aggregato, e la costante richiesta di informazione su ambiente e salute hanno permesso di utilizzare questo metodo come analisi per la verifica dello stato di salute di popolazione e per evidenziare potenziali disomogeneità dello stato di salute sulle aree oggetto di studio. Si ritiene, inoltre, che il metodo, che non caratterizza l'esposizione basandosi esclusivamente sulla distanza ma anche sulla pericolosità dei siti, possa essere applicato in aree italiane caratterizzate da situazioni ambientali simili.

Le informazioni tratte da uno studio descrittivo geografico sono da utilizzare in sanità pubblica come generatore di ipotesi da valutare in studi analitici: per questo motivo oltre allo scopo descrittivo non sono da trascurare le potenzialità esplorative. I risultati ottenuti con questa tipologia di studi devono essere confermati da studi più analitici che misurino la forza dell'associazione utilizzando dati di risoluzione più fine (sub comunali, individuali) e quindi risultino in grado di fornire una precisa definizione spazio-temporale del fenomeno.

Da questo punto di vista, il potenziale dei metodi sviluppati è notevole. L'IR è disponibile a livello sub comunale, grazie alla georeferenziazione dei siti e alla stima della popolazione esposta ottenuta tramite i GIS: l'eventuale disponibilità di dati sanitari a livello sub comunale consentirebbe studi di correlazione più approfonditi e la verifica più puntuale di precise ipotesi eziologiche.

Bibliografia

1. Altavista P, Belli S, Bianchi F, Binazzi A, Comba P, Del Giudice R, Fazzo L, Felli A, Mastrantonio M, Musmeci L, Pizzuti R, Savarese A, Trinca S, Uccelli R. Mortalità per causa in un'area della Campania con numerose discariche di rifiuti. *Epidemiologia e Prevenzione* 2004;28(6):311-21.
2. Senior K, Mazza A. Italian "Triangle of death" linked to waste crisis. *The Lancet Oncology* 2004 September 2004;5(9):525-7.
3. Bianchi F, Comba P, Martuzzi M, Palombino R, Pizzuti R. Italian "Triangle of death". *The Lancet Oncology* 2004 Dec;5(12):710.
4. Besag J, York J, Mollie A. Bayesian image restoration, with two applications in spatial statistics. *Annals of the Institute of Statistical Mathematics* 1991;43(1):1-59.
5. Mollié A. Bayesian mapping of Hodgkin's disease in France. In: Elliott P, Wakefield JC, Best NG, Briggs DJ (Ed.). *Spatial epidemiology Methods and applications*. Oxford: Oxford University Press; 2000. p. 267-85.
6. World Health Organization Regional Office for Europe, Istituto Superiore di Sanità, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Osservatorio Epidemiologico Regione Campania. *Trattamento dei rifiuti in Campania: impatto sulla salute umana. Studio Pilota. Mortalità per tumori nelle province di Napoli e Caserta (1994-2001): analisi descrittiva e struttura spaziale del rischio*. Disponibile all'indirizzo: http://www.protezionecivile.it/minisite/index.php?dir_pk=253&cms_pk=1734&n_page=4; ultima consultazione 1/10/07.
7. Comba P, Bianchi F, Fazzo L, Martina L, Menegozzo M, Minichilli F, Mitis F, Musmeci L, Pizzuti R, Santoro M, Trinca S, Martuzzi M, "Health Impact of waste management Campania" Working Group. Cancer Mortality in an Area of Campania (Italy) Characterized by Multiple Toxic Dumping Sites. *Annals New York Academy of Sciences* 2006;1076:449-61.
8. Kulldorff M, Nagarwalla N. Spatial disease clusters: detection and inference. *Statistics in Medicine* 1995 Apr 30;14(8):799-810.
9. Kulldorff M, Information Management Services Inc. *SaTScan 3.0, software for the spatial and space-time scan statistics*. Bethesda, MD: National Cancer Institute 2002.
10. Andrisani MG, Bianco P, Belluomo R, Cobuccio M, Panarese O, Scoppa G, Felli A. *Emergenza rifiuti Regione Campania, Aggiornamento sul censimento dei siti inquinati- Litorale Domitio Flegreo ed Agro Aversano*. Napoli: ARPA Campania; 2003.
11. ARPA Campania - Ingegneria Ambientale. *Valutazione delle pressioni ambientali legate allo smaltimento illegale di rifiuti*. 2004.
12. Leonardi M, Madeo L, Martini MG, M. M, Trinca T, Cossa L, Carboni C, Comba P, Musmeci L, Bellino M, Falleni F, Piccardi A, ARPA Campania. *Trattamento dei rifiuti in Campania: Impatto sulla salute umana. Messa a punto di indicatori sintetici di pericolosità e di esposizione a rifiuti*. Roma, in stampa.
13. Jenks GF, Caspall FC. Error on choroplethic maps: Definition, measurement, reduction. *Annals of the Association of American Geographers* 1971;61:217-44.
14. Cadum E, Costa G, Biggeri A, Martuzzi M. Deprivazione e mortalità: un indice di deprivazione per l'analisi delle disuguaglianze su base geografica. *Epidemiologia e Prevenzione* 1999;23(3):175-87.
15. Martuzzi M, Mitis F, Biggeri A, Terracini B, Bertollini R. Ambiente e stato di salute nella popolazione delle aree ad alto rischio di crisi ambientale in Italia. *Epidemiologia e Prevenzione* 2002;26(6 Suppl):1-53.
16. Hardin J, Hilbe J. *Generalized Linear Models and Extensions*. Stata Press; 2007.
17. STATA Corporation. *STATA Reference Manual Release 8*. Volume 1-5. College Station, Texas: STATA press 2003.

18. Gelfand AE, Hills SE, Racine-Poon A. Illustration of Bayesian inference in normal data models using Gibbs sampling. *Journal of the American Statistical Association* 1990;85:972-85.
19. Spiegelhalter DJ, Thomas A, Best NG. *WinBUGS Version 1.2 User Manual*. Cambridge: MRC Biostatistics Unit; 1999.
20. Thomas A, Best NG, Lunn D, Arnold R, Spiegelhalter DJ. *GeoBUGS User Manual. Version 1.2*, September 2004. London and MRC Biostatistics Unit, Cambridge: Imperial College; 2004.
21. Gelman A, Rubin DB. Inference from iterative simulations using multiple sequences. *Statistical Science* 1992;7:457-511.
22. Brooks SP, Gelman A. Alternative methods for monitoring convergence of iterative simulations. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 1998;7:434-55.

Allegato - Mortalità e malformazioni congenite nei comuni delle province di Napoli e Caserta

Tabella A1. Regressione di Poisson - mortalità (1994-2001): eccessi di rischio per i gruppi di Comuni classificati in base all'indicatore comunale di esposizione a rifiuti, uomini ^(§)

| Cause di morte | I gruppo | II gruppo | III gruppo | IV gruppo | V gruppo | Trend |
|---|-------------|--------------|---------------|--------------|-------------|-------------|
| Mortalità generale | 1 | 1,05 | 1,08 | 1,04 | 1,09 | 1,02 |
| Tutti i tumori | 1 | 1,04 | 1,06 | 1,05 | <i>1,04</i> | 1,01 |
| Tumore della trachea, bronchi e polmoni | 1 | 1,05 | 1,06 | <i>1,06</i> | 1,07 | 1,02 |
| Tumore del fegato e dei dotti biliari | 1 | 0,91 | 1,21 | 1,01 | 1,19 | 1,04 |
| Tumore dello stomaco | 1 | 1,03 | 1,03 | 1,19 | 1,16 | 1,05 |
| Tumore della vescica | 1 | 1,12 | 0,94 | 1,07 | 0,96 | 0,99 |
| Tumore del rene | 1 | 0,97 | 0,99 | 0,85 | 0,83 | 0,96 |
| Sarcomi dei tessuti molli | 1 | 0,90 | 0,80 | 0,69 | 1,25 | 0,96 |
| Linfoma non Hodgkin | 1 | 1,09 | 1,25 | 1,07 | 0,96 | 1,01 |

Tabella A2. Regressione di Poisson - mortalità (1994-2001): eccessi di rischio per i gruppi di Comuni classificati in base all'indicatore comunale di esposizione a rifiuti, donne ^(§)

| Cause di morte | I gruppo | II gruppo | III gruppo | IV gruppo | V gruppo | Trend |
|---|-------------|--------------|---------------|--------------|-------------|-------------|
| Mortalità generale | 1 | <i>1,02</i> | 1,08 | 1,05 | 1,12 | 1,02 |
| Tutti i tumori | 1 | 1,05 | 1,02 | 1,04 | 1,07 | 1,01 |
| Tumore della trachea, bronchi e polmoni | 1 | 1,45 | 1,14 | 1,06 | 1,09 | 0,98 |
| Tumore del fegato e dei dotti biliari | 1 | 0,91 | 1,09 | 1,10 | 1,29 | 1,07 |
| Tumore dello stomaco | 1 | 0,92 | 0,94 | 1,02 | 1,17 | 1,03 |
| Tumore della vescica | 1 | 1,08 | 0,87 | 0,97 | 0,83 | 0,97 |
| Tumore del rene | 1 | 1,07 | 1,11 | 1,03 | 1,19 | 1,02 |
| Sarcomi dei tessuti molli | 1 | 1,08 | 1,84 | 1,34 | 1,00 | 1,08 |
| Linfoma non Hodgkin | 1 | 1,10 | 1,04 | 1,20 | 1,00 | 1,02 |

Tabella A3. Analisi bayesiana - mortalità (1994-2001): eccessi di rischio per i gruppi di Comuni classificati in base all'indicatore comunale di esposizione a rifiuti, uomini ^(§§)

| Cause di morte | I gruppo | II gruppo | III gruppo | IV gruppo | V gruppo | Fraz spaz |
|---|-------------|--------------|---------------|--------------|-------------|--------------|
| Mortalità generale | 1 | 1,01 | 1,01 | 1,04 | 1,11 | 93,56 |
| Tutti i tumori | 1 | 1,01 | 0,98 | 1,05 | 0,99 | 89,43 |
| Tumore della trachea, bronchi e polmoni | 1 | 1,01 | 0,98 | 1,06 | 1,03 | 96,90 |
| Tumore del fegato e dei dotti biliari | 1 | 0,96 | 1,17 | 1,02 | 1,14 | 81,57 |
| Tumore dello stomaco | 1 | 1,04 | 0,94 | 1,18 | 1,05 | 98,18 |
| Tumore della vescica | 1 | 1,07 | 0,92 | 1,05 | 0,92 | 95,01 |
| Tumore del rene | 1 | 0,92 | 0,95 | 0,83 | 0,76 | 95,88 |
| Sarcomi dei tessuti molli | 1 | 0,90 | 0,75 | 0,68 | 1,20 | 93,16 |
| Linfoma non Hodgkin | 1 | 1,08 | 1,26 | 1,07 | 0,98 | 89,77 |

(§) La tabella riporta RR; valori superiori a 1 indicano eccessi di rischio. In grassetto sono riportati i rischi statisticamente significativi con un livello di probabilità pari al 95%, in corsivo quelli con un livello di probabilità pari al 90%.

(§§) La tabella riporta BMR; valori superiori a 1 indicano eccessi di rischio. In grassetto i rischi statisticamente significativi, in corsivo quelli al limite della significatività statistica. Nell'ultima colonna è riportata la frazione di l'eterogeneità del rischio spiegata da fattori spaziali.

Tabella A4. Analisi bayesiana - mortalità (1994-2001): eccessi di rischio per i gruppi di Comuni classificati in base all'indicatore comunale di esposizione a rifiuti, donne ^(a)

| Cause di morte | I gruppo | II gruppo | III gruppo | IV gruppo | V gruppo | Fraz spaz |
|---|----------|-------------|------------|-----------|-------------|--------------|
| Mortalità generale | 1 | 1,03 | 1,03 | 1,03 | 1,12 | 90,72 |
| Tutti i tumori | 1 | 0,97 | 0,97 | 1,08 | 1,08 | 40,45 |
| Tumore della trachea, bronchi e polmoni | 1 | 1,26 | 1,15 | 1,11 | 1,13 | 74,99 |
| Tumore del fegato e dei dotti biliari | 1 | 0,87 | 1,00 | 1,07 | 1,18 | 59,01 |
| Tumore dello stomaco | 1 | 0,90 | 0,87 | 1,00 | 1,11 | 97,75 |
| Tumore della vescica | 1 | 1,05 | 0,85 | 0,96 | 0,82 | 93,09 |
| Tumore del rene | 1 | 1,09 | 1,09 | 1,03 | 1,21 | 93,21 |
| Sarcomi dei tessuti molli | 1 | 1,08 | 1,79 | 1,33 | 0,96 | 91,43 |
| Linfoma non Hodgkin | 1 | 1,12 | 1,04 | 1,21 | 1,03 | 93,75 |

(a) La tabella riporta BMR; valori superiori a 1 indicano eccessi di rischio. In grassetto i rischi statisticamente significativi, in corsivo quelli al limite della significatività statistica. Nell'ultima colonna è riportata la frazione di eterogeneità del rischio spiegata da fattori spaziali.

Tabella A5. Regressione di Poisson – MC (1996-2002): eccessi di rischio per i gruppi di Comuni classificati in base all'indicatore comunale di esposizione a rifiuti ^(b)

| Malformazioni congenite (MC) | I gruppo | II gruppo | III gruppo | IV gruppo | V gruppo | Trend |
|-------------------------------|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| MC totali | 1 | 1,09 | 1,14 | 0,93 | 1,05 | 0,99 |
| MC del sistema nervoso | 1 | 1,22 | 1,45 | 0,97 | 1,83 | <i>1,08</i> |
| Difetti del tubo neurale | 1 | 1,09 | 1,22 | 0,90 | 1,45 | 1,02 |
| Malformazioni cardiovascolari | 1 | 1,04 | 1,16 | 0,83 | 0,86 | 0,95 |
| MC palatolabbro | 1 | 1,18 | 0,97 | 1,19 | 0,98 | 1,02 |
| MC dell'apparato digerente | 1 | 0,91 | 0,77 | 0,86 | 0,58 | 0,93 |
| MC dei genitali esterni | 1 | 1,04 | 1,40 | 0,83 | 0,91 | 0,97 |
| Ispadia | 1 | 1,16 | 1,37 | 0,94 | 0,94 | 0,97 |
| MC dell'apparato urogenitale | 1 | 1,23 | 1,26 | 1,54 | 1,83 | 1,14 |
| MC muscolo-scheletriche | 1 | 1,25 | 0,90 | 1,00 | 1,42 | 1,01 |
| MC degli arti | 1 | 0,92 | 0,99 | 0,90 | 0,89 | 0,98 |
| MC cromosomiche | 1 | 1,52 | 1,39 | 0,89 | 0,97 | 0,94 |

(b) La tabella riporta RR; valori superiori a 1 indicano eccessi di rischio. In grassetto sono riportati i rischi statisticamente significativi con un livello di probabilità pari al 95%, in corsivo quelli con un livello di probabilità pari al 90%.

Tabella A6. Analisi bayesiana – MC (1996-2002): eccessi di rischio per i gruppi di Comuni classificati in base all'indicatore comunale di esposizione a rifiuti ^(c)

| Malformazioni congenite (MC) | I gruppo | II gruppo | III gruppo | IV gruppo | V gruppo | Trend | Fraz spaz |
|-------------------------------|----------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| MC totali | 1 | 1,11 | 1,11 | 1,10 | <i>1,29</i> | <i>1,05</i> | 71,81 |
| MC del sistema nervoso | 1 | 1,20 | 1,38 | 0,97 | 1,89 | <i>1,10</i> | 68,54 |
| Difetti del tubo neurale | 1 | 1,08 | 1,14 | 0,91 | 1,53 | 1,04 | 73,66 |
| Malformazioni cardiovascolari | 1 | 1,16 | 1,29 | 1,17 | 1,25 | 1,05 | 94,93 |
| MC palatolabbro | 1 | 1,18 | 0,95 | 1,20 | 0,98 | 1,03 | 81,15 |
| MC dell'apparato digerente | 1 | 0,88 | 0,72 | 0,87 | 0,58 | 0,94 | 68,64 |
| MC dei genitali esterni | 1 | 1,10 | 1,36 | 0,84 | 0,93 | 0,98 | 77,92 |
| Ispadia | 1 | 1,22 | 1,33 | 0,95 | 0,96 | 0,98 | 85,85 |
| MC dell'apparato urogenitale | 1 | 1,22 | 1,36 | 1,63 | 1,80 | 1,16 | 47,79 |
| MC muscolo-scheletriche | 1 | 1,19 | 0,85 | 1,14 | 1,59 | 0,94 | 32,08 |
| MC degli arti | 1 | 0,99 | 0,96 | 0,88 | 0,96 | 0,98 | 82,21 |
| MC cromosomiche | 1 | 1,47 | 1,39 | 0,91 | 0,99 | 0,97 | 81,19 |

(c) La tabella riporta BMR; valori superiori a 1 indicano eccessi di rischio. In grassetto sono riportati i rischi statisticamente significativi con un livello di probabilità pari al 95%, in corsivo quelli con un livello di probabilità pari al 90%. Nell'ultima colonna è riportata la frazione di eterogeneità del rischio spiegata da fattori spaziali.

SEZIONE 4

Basi scientifiche per indagini mirate

EFFETTI SUL SISTEMA NERVOSO DELL'ESPOSIZIONE AMBIENTALE A NEUROTOSSINE

Nicola Vanacore, Francesca Galeotti
*Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Introduzione

Negli ultimi tre decenni la ricerca scientifica nel campo delle neuroscienze ha prodotto una notevole mole di dati sia dal punto di vista sperimentale, per quanto riguarda l'individuazione delle sostanze neurotossiche, sia dal punto di vista clinico-epidemiologico, per ciò che implica il rapporto tra l'esposizione ad una tossina ambientale e l'insorgenza di una patologia neurologica o di un deficit neuropsicologico.

Il sistema nervoso centrale nelle interazioni con le sostanze ambientali presenta due principali caratteristiche che lo distinguono dagli altri organi: la plasticità, che gli consente di ritardare gli eventuali effetti di un'azione neurotossica, e la non rigenerazione dei neuroni coinvolti nell'azione delle neurotossine.

La presenza nell'ambiente di numerose sostanze neurotossiche (solventi, metalli, pesticidi) induce ad analizzare quali siano i possibili effetti soprattutto a lungo termine sul sistema nervoso. In questo processo conoscitivo, che richiede la partecipazione di diverse professionalità (clinici, epidemiologi, sperimentatori, medici del lavoro, igienisti), si possono individuare tre fasi: a) definizione della "storia degli agenti neuroinquinanti" dalla fonte alla diffusione fino al momento del monitoraggio ambientale; b) caratterizzazione dell'incontro tra sostanza neurotossica e organismo nel percorso che va dall'interazione con cute e mucose all'assorbimento e alla eliminazione dell'agente tossico; c) comprensione e proposta di modelli esplicativi su come l'omeostasi di un sistema complesso come quello nervoso venga alterata a tal punto da creare una situazione patologica.

Indubbiamente le ricerche sperimentali, la medicina del lavoro e l'epidemiologia contribuiscono a chiarire il complesso rapporto tra uomo e ambiente, perché da un lato studi su colture cellulari e animali da laboratorio evidenziano meccanismi biochimici, dall'altro la valutazione dello stato di salute di alcune categorie di lavoratori e sottogruppi di individui della popolazione generale esposti a sostanze neurotossiche è estremamente utile per affrontare il problema in termini di sanità pubblica.

Inoltre negli ultimi anni si è assistito ad una sovrapposizione tra gli ambienti di lavoro e di vita sia per la presenza di categorie di lavoratori che esercitano la loro attività nel tessuto urbano (benzinai, vigili urbani, netturbini, meccanici, ecc.) sia per il peggioramento delle condizioni ambientali in generale che comportano ad esempio la residenza in prossimità di fonti di agenti inquinanti (discarica, sito industriale, corsi d'acqua, ecc.).

Nei paesi occidentali esistono limiti ambientali e biologici che tutelano la salute dei lavoratori e della popolazione generale, nei paesi in via di sviluppo la situazione probabilmente è molto diversa e le differenze sul piano normativo dovrebbero essere analizzate in maggior dettaglio per comprenderne le possibili conseguenze sanitarie.

I metalli, i solventi e i pesticidi sono sostanze comunemente considerate neurotossiche anche se in ambito neurotossicologico non esiste un sistema classificativo analogo a quello proposto

dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) per le sostanze cancerogene. Solo recentemente un gruppo scandinavo ha avviato tale classificazione utilizzando una metodologia molto simile a quella della IARC e classificando le sostanze in quattro gruppi: sostanza neurotossica per l'uomo, probabilmente neurotossica, possibilmente neurotossica, non neurotossica. Sono state finora classificate cinque sostanze come neurotossiche per l'uomo (alluminio, manganese, n-esano, tricloroetilene, triortocresilfosfato)(1).

Schematicamente i seguenti quattro aspetti hanno una importanza clinico-epidemiologica nelle interazioni tra fattori ambientali e sistema nervoso:

- frequenza e caratteristiche cliniche di una intossicazione acuta da neurotossina;
- frequenza e caratteristiche cliniche delle sequele croniche ad una intossicazione acuta da neurotossine;
- rapporto tra l'esposizione cronica a neurotossine a basse concentrazioni e l'insorgenza di una patologia neurologica;
- rapporto tra l'esposizione cronica a neurotossine e deficit delle funzioni nervose superiori.

Appare evidente che nei paesi in via di sviluppo la rilevanza dei problemi in termini socio-sanitari si riferisca prevalentemente agli aspetti descritti a punti a) e b), perlomeno in valutazioni di sanità pubblica a breve termine considerando anche il drammatico problema del lavoro minorile (2), mentre nei paesi con una maggiore tutela della salute dei lavoratori e della popolazione generale prevalgono gli aspetti riassunti ai punti c) e d).

In questo contributo verranno considerati tre aspetti relativi ai possibili effetti sul sistema nervoso dall'esposizione ambientale a neurotossine che riguardano la costituzione di un sistema di sorveglianza, per la descrizione e la caratterizzazione di un fenomeno, l'azione del piombo sullo sviluppo cognitivo dei bambini e il ruolo degli agenti ambientali nell'eziopatogenesi dei parkinsonismi.

Sistema di sorveglianza sulle intossicazioni acute

La costituzione e il mantenimento di un sistema di sorveglianza sanitario rappresenta il primo approccio in sanità pubblica per la comprensione di un fenomeno. L'acquisizione di dati sulla frequenza e le caratteristiche cliniche delle intossicazioni acute possono essere utili sia per classificare le segnalazioni in cinque categorie (intossicazione certa, probabile, possibile, sospetta, non confermata) che per definire un livello di severità del disturbo.

Inoltre queste informazioni possono contribuire ad individuare strategie preventive e a definire coorti di soggetti da seguire poi nel tempo per valutare un possibile incremento di rischio di patologie croniche associate all'esposizione di agenti inquinanti.

In una prima fase un sistema di sorveglianza potrebbe anche fornire consulenze sulle terapie d'emergenza da intraprendere a seconda dell'agente coinvolto nell'intossicazione.

In una Regione agricola dell'Ecuador si stima che le intossicazioni acute da fitofarmaci negli anni 1991-92 abbiano raggiunto un tasso di 171 casi per 100.000 ab., dovute soprattutto ad esposizioni occupazionali da organofosfati e carbamati. Lo stesso sistema di sorveglianza ha rilevato un tasso di suicidi (17,1 per 100.000 ab.) e di mortalità (20,5 per 100.000 ab.) tra i più elevati al mondo (3).

Nel periodo 1995-98 il maggiore Centro Antiveleni d'Italia, quello di Milano, ha preso in esame 7594 casi di intossicazione da antiparassitari sospetta o accertata. Circa il 59% dei casi (n. 4483) sono stati posti in relazione all'uso domestico o civile. Gli esposti a questi agenti hanno presentato nel 48% dei casi un'età compresa tra 0 e 4 anni (4).

Sarebbe auspicabile che, nel momento in cui nei paesi occidentali si tenta di ottimizzare questi sistemi di monitoraggio e le modalità terapeutiche delle intossicazioni acute, queste esperienze potessero essere condivise con quelle dei paesi che stanno cercando di affrontare probabilmente, per la prima volta, questo fenomeno (5, 6).

Esposizione a piombo e deficit cognitivi nei bambini

Il piombo agisce sul sistema nervoso a vari livelli: sostituisce il calcio nel legame con la calmodulina, provoca un aumento della permeabilità al potassio, induce modificazioni dei recettori dei neurotrasmettitori, danneggia a bassi livelli d'esposizione la molecola N-CAM (*Neural-Cell-Adhesion Molecule*) legata allo sviluppo del sistema nervoso (7).

Da uno studio condotto negli Stati Uniti emerge che circa 3-4 milioni di bambini in età prescolare hanno un aumentato assorbimento di piombo (8).

Su 375 bambini australiani nati nelle vicinanze di una industria metallurgica è stato effettuato un dosaggio della piombemia dalla nascita fino ai 7 anni di età. I risultati di questo studio mostrano che il quoziente di intelligenza a 13 anni si riduce mediamente di 3 punti per un incremento medio di piombemia nel corso della vita da 10 a 20 mcg/100 mL (9).

Altri studi mostrano che il livello di Pb contenuto nei denti (indicatore di pregressa esposizione) ($6,84 \pm 3,47$ mcg/g) influenza alcune funzioni nervose superiori (capacità visuo-motoria e attentiva) dei bambini con una età compresa tra 7 e i 9 anni (10).

La valutazione dell'esposizione al piombo associata allo sviluppo cognitivo dei bambini resta comunque un tema difficile da analizzare se si pensa che l'esposizione al piombo è in relazione con le basse condizioni socio-economiche e la malnutrizione.

Sulla base della letteratura disponibile si è stabilito un limite di sicurezza per piombemia nei bambini pari a 10 mcg/100 mL (11). Il piombo agisce anche sul sistema nervoso periferico e induce una neuropatia prevalentemente motoria a livelli di piombemia compresi tra 30 e 60 mcg/100 mL (12).

Recentemente è stato documentato un deficit motorio e di apprendimento anche in bambini esposti durante la loro infanzia a insetticidi organo fosforici (13).

Parkinsonismi e tossine ambientali

La malattia di Parkinson è la più frequente forma di parkinsonismo ed è caratterizzata dalla perdita dei neuroni della sostanza nera del mesencefalo e da quattro segni clinici cardinali: tremore a riposo, rigidità, bradicinesia e instabilità posturale. I tassi di prevalenza oscillano tra 67 e 250 casi per 100.000 ab., mentre il tasso di incidenza annuale è compreso tra 4 e 23 casi per 100.000 ab. La teoria ambientale viene formulata in seguito all'epidemia dei parkinsonismi osservata agli inizi degli anni ottanta in una comunità di tossicodipendenti californiani. Questa epidemia ha permesso di identificare la più potente tossina parkinsonigena attualmente conosciuta, l'MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina). Questa sostanza, prodotta in laboratorio, era presente come contaminante nelle dosi di eroina vendute per alcuni mesi in California, ed ha una somiglianza strutturale con uno dei più diffusi erbicidi, il paraquat. Questa osservazione ha spinto la comunità scientifica ad indagare il ruolo dell'esposizione occupazionale a pesticidi nell'eziopatogenesi della malattia di Parkinson. Oggi, dopo venti anni di osservazioni epidemiologiche, si può stimare che un soggetto professionalmente esposto a

pesticidi ha un rischio all'incirca doppio di presentare in età avanzata la malattia di Parkinson rispetto a chi non è stato esposto a queste sostanze (OR = 1,85, 95% CI 1,31-2,60) (14). I pesticidi che sembrano avere una maggiore azione sul sistema dopaminergico sono il dietilditiocarbamato, il rotenone, il dieldrin e il paraquat.

Ad un livello inferiore di evidenze epidemiologiche si segnala come anche l'esposizione occupazionale a solventi è stata associata di un rischio di insorgenza di Malattia di Parkinson. In particolare esistono segnalazioni di soggetti parkinsoniani esposti ad elevate concentrazioni di n-esano e alcuni studi caso-controllo che mostrano un maggior rischio pari a circa due volte, di insorgenza della malattia in soggetti con esposizione lavorativa a solventi (15-17).

Anche per i metalli in particolare manganese, rame, ferro e piombo è stato osservato in uno studio caso-controllo condotto su 144 casi e 464 controlli un maggior rischio di insorgenza della malattia di Parkinson per chi è stato esposto per più di venti anni ad uno o più dei seguenti metalli: manganese (OR=10,61, 95% CI 1,06 -105,8), rame (OR = 2,49, 95% CI = 1,06- 5,89), piombo-rame (OR = 5,24, 95% CI 1,59-17,21), piombo-ferro (OR = 2,83, 95% CI 1,07-7,50) e ferro-rame (OR = 3,69, 95% CI 1,40-9,71)(18).

Recentemente vengono segnalati anche casi di parkinsonismi in esposti professionalmente a vapori di metanolo (19).

Tra le forme secondarie dei parkinsonismi va segnalato il gruppo dei parkinsonismi da tossici ambientali (manganese, monossido di carbonio, cianuro di potassio, solfuro di carbonio, derivati organici del mercurio, MPTP e derivati piridinici) che non sempre si distinguono clinicamente dalla malattia di Parkinson.

In una fabbrica metal meccanica otto lavoratori sono stati esposti a causa di una rottura del sistema di ventilazione a concentrazioni di manganese > 28.8 mcg/mc per 30 minuti al giorno per diversi mesi. Le diagnosi di parkinsonismo sono state eseguite in un intervallo di tempo che va dagli 8 ai 17 mesi dopo la rottura del sistema di ventilazione per 6 degli 8 lavoratori. Il quadro clinico dei sei pazienti (età media di 40,1 ± 4,2 aa.) era caratterizzato da bradicinesia, andatura anormale, rigidità, tremore e micrografia. Soltanto un paziente mostrava cambiamenti di personalità. La concentrazione media di manganese era di 14.6 ± 15.5 mcg/100 mL, elevatissima era anche la presenza del metallo nei capelli (156,6 ppm in media, range di riferimento 0,1-2,2) e peli pubici (592,8 ppm in media, range di riferimento 0,3-9,8). Dal punto di vista neuropsicologico si rilevava una presenza di un deficit di riconoscimento visuo-spaziale. La PET eseguita su 4 dei 6 pazienti suggeriva un danno a livello postsinaptico del sistema nigrostriale che probabilmente coinvolge neuroni striatali e pallidali (20).

Conclusioni

La valutazione dei possibili effetti sul sistema nervoso dall'esposizione ambientale a neurotossine presenti sia in ambiente di lavoro che di vita si configura per l'intera comunità scientifica come una sfida, iniziata circa trenta anni fa, sia per le difficoltà nell'individuare una metodologia di studio affidabile dal punto di vista epidemiologico, per le perplessità ad esempio di utilizzare i flussi informativi correnti degli indicatori sanitari (21, 22), sia perché i possibili effetti sullo stato di salute spaziano dalle malformazioni del tubo neurale (23, 24) ai deficit motori e neuropsicologici nell'età dell'apprendimento (13) e poi in quella adulta (25-27).

In linea con le moderne tendenze dell'epidemiologia ambientale anche per quanto riguarda i possibili effetti delle neurotossine è necessario definire il rapporto che queste hanno con i fattori genetici (28, 29).

Inoltre sarebbe opportuno sviluppare specifiche attività di ricerca sia nel valutare il contributo che tecniche di neuroimaging possono fornire per individuare precoci alterazioni del sistema nervoso (30) sia nel considerare i possibili effetti delle neurotossine sul sistema nervoso sensitivo (31).

Bibliografia

1. Simonsen L, Johnsen H, Lund SP, Matikainen E, Midtgard U, Wennberg A. Methodological approach to evaluation of neurotoxicity data and the classification of neurotoxic chemicals. *Scand J Work Environ Health* 1994;20:1-12.
2. Harari R, Forastiere F, Axelson O. Unacceptable "occupational" exposure to toxic agents among children in Ecuador. *Am J Ind Med* 1997;32:185-9
3. Cole DC, Carpio F, Leon N. Economic burden of illness from pesticide poisonings in highland Ecuador. *Rev Panam Salud Publica* 2000;8:196-201
4. Davanzo F, Travaglia A, Chiericozzi M, Dimasi V, Sesana F, Faraoni L, Settimi L, Ballard TJ. Intossicazioni da prodotti antiparassitari rilevate dal Centro Antiveleni di Milano nel periodo 1995-1998. *Ann Ist Super Sanità* 2001;37:127-31.
5. Ballard TJ, Calvert GM. Surveillance of acute occupational pesticide-related illness and injury: the US experience. *Ann Ist Super Sanità* 2001;37:175-9.
6. Settimi L, Davanzo F, Miceli G, Minnielli S, Vanacore N, Ballard TJ, Maiozzi P, Faraoni L, Cecere E. Piano di sorveglianza nazionale per la rilevazione delle intossicazioni acute da antiparassitari. *Ann Ist Super Sanità* 2001;37:181-5.
7. Gidlow DA. Lead toxicity. *Occup Med (Lond)* 2004;54:76-81.
8. Perrotta DM. Surveillance of children's blood lead levels - United States, 1991. *JAMA* 1992;268:1654.
9. Tong S, Baghurst P, McMichael A, Sawyer M, Mudge J. Lifetime exposure to environmental lead and children's intelligence at 11-13 years: the Port Pirie cohort study. *BMJ* 1996;312:1569-75.
10. Borella P, Sturloni N, Rovesti S, Vivoli R, Bargellini A, Vivoli G. Valutazione del rischio di danno neuropsicologico per esposizione al piombo nell'infanzia. *Ann Ist Super Sanità* 1998;34:97-104.
11. World Health Organization. *Inorganic Lead*. Geneva; WHO (Environmental Health Criteria, 165); 1995.
12. Ehal AL. Lead neuropathy and electrophysiological studies in low level lead exposure: a critical review. *Neurotoxicology* 1986;7:203-216.
13. Kofman O, Berger A, Massarwa A, Friedman A, Jaffar AA. Motor inhibition and learning impairments in school-aged children following exposure to organophosphate pesticides in infancy. *Pediatr Res*. 2006;60:88-92.
14. Priyadarshi A, Khuder SA, Schaub EA, Priyadarshi SS. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. *Environ Res* 2001;86:122-7
15. Vanacore N, Gasparini M, Brusa L, Meco G. A possible association between exposure to n-hexane and parkinsonism. *Neurol Sci* 2000;21:49-52.
16. Hageman G, van der Hoek J, van Hout M, van der Laan G, Steur EJ, de Bruin W, Herholz K. Parkinsonism, pyramidal signs, polyneuropathy, and cognitive decline after long-term occupational solvent exposure. *J Neurol* 1999;246:198-206.

17. Seidler A, Hellenbrand W, Robra BP, Vieregge P, Nigshan P, Joerg J, Oertel WH, Ulm G. Possible environmental, occupational and other etiologic factors for Parkinson's disease: a case-control study in Germany. *Neurology* 1996;46:1275-84.
18. Gorell JM, Johnson CC, Rybicki BA, Peterson EL, Kortsha GX, Brown GG, Richardson RJ. Occupational exposure to manganese, copper, lead, iron, mercury and zinc and the risk of Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 1999;20:239-47.
19. Finkelstein Y, Vardi J. Progressive parkinsonism in a young experimental physicist following long-term exposure to methanol. *Neurotoxicology* 2002;23:521-5.
20. Wang JD, Huang CC, Hwang YH *et al.* Manganese induced parkinsonism: an outbreak due to an unrepaired ventilation. *Br J Ind Med* 1989;46:856-9.
21. Paulson GW. Environmental effects on the central nervous system. *Environ Health Perspect* 1977;20:75-96.
22. Ritz B. Environmental toxins and neurodegenerative diseases: a challenge for epidemiologists. *Epidemiology* 2006;17:2-3.
23. Rull RP, Ritz B, Shaw GM. Neural tube defects and maternal residential proximity to agricultural pesticide applications. *Am J Epidemiol* 2006;163:743-53.
24. Lanphear BP, Vorhees CV, Bellinger DC. Protecting children from environmental toxins. *PLoS Med.* 2005;2(3):e61.
25. Ihrig A, Dietz MC, Bader M, Triebig G. Longitudinal study to explore chronic neuropsychologic effects on solvent exposed workers. *Ind Health* 2005;43:588-96.
26. Salvi RM, Lara DR, Ghisolfi ES, Portela LV, Dias RD, Souza DO. Neuropsychiatric evaluation in subjects chronically exposed to organophosphate pesticides. *Toxicol Sci* 2003;72:267-71.
27. Roldan-Tapia L, Nieto-Escamez FA, del Aguila EM, Laynez F, Parron T, Sanchez-Santed F. Neuropsychological sequelae from acute poisoning and long-term exposure to carbamate and organophosphate pesticides. *Neurotoxicol Teratol* 2006;28:694-703.
28. Schmechel DE, Browndyke J, Ghio A. Strategies for dissecting genetic-environmental interactions in neurodegenerative disorders. *Neurotoxicology* 2006;27:637-57.
29. Sun F, Kanthasamy A, Anantharam V, Kanthasamy AG. Environmental neurotoxic chemicals-induced ubiquitin proteasome system dysfunction in the pathogenesis and progression of Parkinson's disease. *Pharmacol Ther* 2007;114:327-44.
30. Alphas HH, Schwartz BS, Stewart WF, Yousem DM. Findings on brain MRI from research studies of occupational exposure to known neurotoxicants. *AJR Am J Roentgenol* 2006;187:1043-7.
31. Gobba F. Occupational exposure to chemicals and sensory organs: a neglected research field. *Neurotoxicology* 2003;24:675-91.

RESIDENZA IN PROSSIMITÀ DI INDUSTRIE PETROLCHIMICHE: COMPONENTE AMBIENTALE E OCCUPAZIONALE DEL RISCHIO CANCEROGENO

Roberta Pirastu (a), Alessandro Marinaccio (b), Roberto Pasetto (c)

(a) *La Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo*

(b) *Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro, Dipartimento di Medicina del Lavoro*

(c) *Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria*

Introduzione

Nella maggior parte dei 54 SIN (Siti di Interesse Nazionale per le Bonifiche) l'inclusione del sito si basa sulla presenza di stabilimenti petrolchimici e/o chimici, talora in presenza anche di altre fonti di inquinamento del suolo, quali altre attività industriali e discariche di rifiuti urbani o speciali (DM 471/1999 e successive integrazioni).

Obiettivo del presente contributo è l'esame dell'evidenza epidemiologica della componente del rischio cancerogeno, occupazionale e ambientale, associato alla presenza di stabilimenti petrolchimici e/o chimici; verranno inoltre proposte delle modalità per considerare il possibile ruolo di confondenti di tali esposizioni in studi condotti in Italia.

Breve rassegna dell'evidenza epidemiologica: componente occupazionale e ambientale

Viene di seguito presentata l'evidenza epidemiologica del rischio cancerogeno derivante da esposizione occupazionale e ambientale legato agli impianti petrolchimici, con specifico riferimento al tumore del polmone e del tessuto linfomatopoietico, sedi per le quali sono stati condotti la maggior parte degli studi caratterizzati da buona qualità e coerenza dei risultati.

Nel 1989 l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro classifica come probabilmente cancerogene per l'uomo (Gruppo 2A) le esposizioni professionali presenti nella raffinazione del petrolio (1), tale valutazione si basa su evidenza limitata per tumore della cute e leucemia nell'uomo; per una lista di successivi studi occupazionali, che nel loro insieme confermano tale valutazione e segnalano un aumentato rischio per il tumore del polmone, si rimanda a una recente pubblicazione (2). Nelle industrie chimiche di sintesi, formulazione, estrazione e uso di prodotti chimici, una metanalisi del 2001, ha segnalato, tra i soggetti professionalmente esposti, un eccesso da debole a moderato per il tumore del polmone e un incremento pari al 10-15% per i tumori del tessuto linfomatopoietico (3).

In Gran Bretagna, a partire dalla metà degli anni '90, sono stati pubblicati studi di mortalità e incidenza per tumori del tessuto linfomatopoietico tra i residenti nelle vicinanze dello stabilimento petrolchimico di Baglan Bay. Tra coloro di età inferiore a 25 anni, residenti entro 1,5 e 3 km, l'incidenza di leucemia e linfoma (1974-91) non mostra incrementi significativi (4). Nel cerchio di 7,5 km intorno allo stabilimento l'andamento del rischio per mortalità (1974-84) e incidenza (1981-91) di leucemia non mostra, nei bambini e in tutte le età, una diminuzione all'aumentare della distanza; per il linfoma non Hodgkin si osserva un significativo decremento

del rischio al crescere della distanza (5). I risultati dell'analoga analisi di incidenza (1974-91) estesa intorno a tutte le undici raffinerie del paese, mostrano una debole associazione positiva per il linfoma non Hodgkin (6).

L'analisi 1953-80, per l'intera Gran Bretagna, della mortalità per leucemia fino a 15 anni di età, analizzata per gradiente di distanza da siti industriali, ha misurato un eccesso relativo di leucemia in prossimità di stabilimenti di raffinazione e di stoccaggio di petrolio e industrie chimiche (7). In Finlandia non è stata osservata una associazione significativa tra l'incidenza per leucemia (1983-83) e la distanza da uno stabilimento di raffinazione petrolifera (8).

La mortalità (1981-91) dei residenti nel Teesside, Regione della Gran Bretagna dove è presente una molteplicità di industrie (9), ha mostrato, nell'area in cui è prevalente l'industria petrolchimica, un significativo aumento per il tumore del polmone tra le donne di tutte le età (rapporto standardizzato tra tassi, DSRR 175; IC 95% 127-218) e di età 0-64 anni (DSRR 229; IC 95% 136-322). Il successivo studio caso-controllo per il tumore del polmone tra le donne (2000-2004) ha confermato nell'area con prevalenza di attività petrolchimica, un rischio aumentato (OR 1,16; 95% CI 0,95-1,40), aggiustando per età, fumo, probabile/possibile esposizione ad amianto, tipo di lavoro (manuale/non manuale) e stato civile (10).

Studi caso-controllo relativi a tumori del tessuto linfoematopoietico e del polmone e residenza in prossimità di industrie petrolchimiche e/o chimiche sono stati condotti negli Stati Uniti, in Canada, a Taiwan e in Italia.

In Iowa e Minnesota per i casi incidenti di leucemia e linfoma non Hodgkin (1980-83) tra gli uomini di età fino a 65 anni, è stata osservata un'associazione con la residenza vicino a un'industria chimica e del petrolio, tenendo conto di possibili confondenti di tipo lavorativo e di abitudini voluttuarie (11). Per la residenza auto-riferita entro 3,2 km dall'industria chimica e petrolifera il RR per leucemia è rispettivamente pari a 1,7 (IC 95% 1,0-3,0) e 2,0 (IC 95% 1,0-4,2), i rispettivi valori per linfoma non Hodgkin sono 1,0 (IC 95% 0,6-1,9) e 1,5 (IC 95% 0,7-3,2). Lo studio caso-controllo per linfoma non Hodgkin in uomini e donne condotto in 8 province canadesi nel periodo aprile 1994-dicembre 1996 ha ricostruito la storia residenziale dei soggetti ed ha calcolato, dal 1960 all'inizio degli anni '90, la distanza da diversi tipi di impianti industriali sulla base di un database nazionale. Per gli impianti di raffinazione del petrolio il rischio aumenta al diminuire della distanza: i valori dell'OR per distanza $\leq 3,2$ km, 0,8-3,2 km, $< 0,8$ km, aggiustati per i principali confondenti, incluso l'eventuale impiego nell'industria petrolifera, sono pari a 1,11 (IC 95% 0,90-1,36), 1,11 (IC 95% 0,90-1,37), 1,24 (IC 95% 0,68-2,27). Tra coloro che hanno risieduto entro 3,2 km il rischio aumenta al crescere della durata della residenza (12). I risultati dello studio caso-controllo che ha incluso i casi di leucemia acuta diagnosticati negli ospedali di Stati Uniti e Canada aderenti al gruppo CALGB (*Cancer and leukemia group B*) nel periodo 1986-89 mostrano, aggiustando per i principali confondenti, un rischio aumentato per leucemia acuta mieloide (OR 1,4; IC 95% 0,6-3,0) e linfoide (OR 1,7; IC 95% 0,5-4,9) tra i residenti entro 5 miglia da industrie chimiche (13).

Lo studio caso-controllo dei soggetti, uomini e donne, deceduti per tumore del polmone in Louisiana (1960-75), ha riguardato soggetti per i quali era disponibile l'informazione sull'occupazione dal certificato di morte, stessa fonte dell'informazione sulla residenza per la quale è stata ricostruita anche la durata (14). Il RR tra coloro che hanno avuto sia esposizione professionale che residenza vicino a impianto petrolifero è pari a 2,27 (IC 95% 1,04-4,92), tra coloro con solo rischio residenziale il RR è 1,07 (IC 95% 0,48-2,39) e tra coloro con sola esposizione professionale il RR è 2,52 (IC 95% 1,12-5,66). Per l'industria chimica i rispettivi RR sono pari a 2,56 (IC 95% 1,27-5,16), 1,65 (IC 95% 0,89-3,07) e 2,72 (IC 95% 1,27-5,81).

A Taiwan, uno studio caso-controllo di popolazione ha analizzato l'associazione tra la residenza in prossimità di industrie petrolchimiche e il rischio di leucemia in soggetti di età fino a 29 anni (15). Ad ogni soggetto sulla base della georeferenziazione delle residenze e degli

stabilimenti è stato assegnato un *exposure opportunity score*, misura integrata di esposizione che tiene conto di mobilità, durata di ogni residenza, distanza dallo stabilimento, direzione prevalente dei venti e fonti di emissione. Per i soggetti fino a 19 anni di età l'OR che misura l'incremento unitario dell'*exposure opportunity score* per leucemia linfoide acuta è 1,21 (IC 95% 0,89-1,65), l'OR per la leucemia è 1,54 (IC 95% 1,14-2,09) per i soggetti di 20-29 anni.

Sempre a Taiwan uno studio caso-controllo sulle decedute per tumore del polmone (1990-94) ha osservato che il rischio è significativamente più alto tra coloro residenti in municipalità caratterizzate da livelli più elevati di inquinamento "petrolchimico" rispetto alle residenti in municipalità con il livello più basso di tale inquinamento (16).

L'associazione tra la residenza nelle vicinanze di uno stabilimento petrolchimico e il rischio per tumori del tessuto linfoematopoietico e del polmone è stata oggetto di uno studio caso-controllo di mortalità di uomini e donne deceduti (1996-97) residenti a Brindisi (17). La residenza principale è stata definita come quella più lunga con l'esclusione dei 10 anni prima del decesso. L'OR entro 2 km, aggiustato per età, genere, fumo e istruzione per i tumori del tessuto linfoematopoietico è pari a 2,7 (IC 95% 0,45-17) e per il tumore del polmone 3,1 (95% CI 0,83-12).

Le evidenze derivanti sia da studi analitici occupazionali che da indagini analitiche e descrittive *ambientali* mostrano ripetutamente l'esistenza di un rischio aumentato per i tumori del tessuto linfoematopoietico e del polmone.

La valutazione della componente ambientale: il caso di Gela

Gli studi di epidemiologia analitica effettuati nei SIN, possono contribuire alla verifica di ipotesi e, se condotti rispettando i requisiti di validità (18) concorrono alla definizione del "framework epidemiologico" e al raggiungimento degli obiettivi propri dell'epidemiologia ambientale in tali contesti (vedi Pasetto *et al.* Impatto di salute nei siti inquinati: il ruolo delle ipotesi *a priori* nel presente Rapporto ISTISAN). Il singolo studio si arricchisce qualora siano disponibili, anche in una fase successiva alla pianificazione dell'indagine, informazioni sull'inquinamento ambientale e sulle caratteristiche sociali dell'area. Un esempio in merito è fornito dallo studio di coorte dei lavoratori del petrolchimico di Gela.

L'area del Comune di Gela e quella dei due Comuni limitrofi di Niscemi e Butera, è stata inclusa tra le aree ad elevato rischio di crisi ambientale nel 1990 (Legge n. 349/1986), nel 1998, un'estesa area del Comune di Gela è stata dichiarata Sito di interesse nazionale per le bonifiche dei suoli (Legge n. 426/1998, DM 10/1/2000).

Studi di epidemiologia descrittiva sulla mortalità e sui ricoveri ospedalieri relativi all'area a rischio di Gela, indicavano l'opportunità di effettuare uno studio di coorte dei lavoratori del petrolchimico localizzato nelle immediate vicinanze del centro abitato (19, 20). Le conclusioni delle indagini suggerivano una possibile componente professionale come causa del trend di mortalità in crescita per alcune cause tumorali, in modo particolare per il tumore al polmone, nelle generazioni più giovani degli uomini. Seguendo tale indicazione, per conto della magistratura, è stato eseguito lo studio retrospettivo della mortalità dei lavoratori del petrolchimico di Gela.

Sono stati inclusi nello studio i lavoratori assunti nelle società che hanno operato all'interno del complesso industriale dal 1960 (anno della sua apertura), al 2002. È stato eseguito il *follow-up* per la verifica dello stato in vita nel periodo 1960-2002. Dalla letteratura internazionale

relativa a valutazioni del rischio nei lavoratori del settore petrolchimico (21) sono state individuate le cause di decesso di maggiore interesse *a priori* (vedi paragrafo precedente)

Nel suddetto studio preliminare, vista l'esiguità delle informazioni disponibili riguardo alle esposizioni e l'impossibilità di ricostruire la durata lavorativa, l'analisi è stata condotta per la coorte nel suo complesso in termini di RSM (Rapporto Standardizzato di Mortalità). Gli attesi sono stati calcolati utilizzando i tassi di mortalità della Regione Sicilia, specifici per sesso, età e calendario (classi quinquennali). Per le analisi la coorte è stata ristretta agli assunti nel periodo 1960-1993, adottando il criterio di assicurare una durata di *follow-up* di almeno 10 anni (latenza minima dall'assunzione) (per ulteriori dettagli si veda cit. 2).

La coorte degli uomini assunti dal 1960 al 1993 è risultata composta da 6458 soggetti. La mortalità risulta inferiore all'atteso per tutte le cause (RSM 0,7; 662 osservati, oss; IC 90% 0,66-0,74) e per tutti i tumori (RSM 0,71; 210 oss; IC 90% 0,63-0,79). Le cause tumorali di maggiore interesse *a priori* che mostrano incrementi, pur non supportati dall'incertezza delle stime, sono la pleura (RSM 1,73; 4 oss; IC 90% 0,78-3,95), e la leucemia mieloide (RSM 1,25; 6 oss; IC 90% 0,64-2,45). Per il tumore polmonare il RSM è 0,68 (IC 90% 0,56-0,83).

L'analisi con il calcolo degli RSM per la coorte professionale ha mostrato diminuzioni rispetto all'atteso per i grandi gruppi di cause e per alcune cause di maggiore interesse *a priori*, come il tumore del polmone.

Successivamente, sono state considerate informazioni sul contesto sociale della cittadina di Gela, risultato di una ricerca sociologica risalente ai primi anni di apertura del petrolchimico (22) che valutava i diversi risvolti sociali del processo di industrializzazione a Gela; tra gli altri, veniva evidenziato che i lavoratori assunti nei primi anni di apertura dello stabilimento erano in buona parte non gelesi. L'analisi della provenienza dei lavoratori della coorte del petrolchimico, effettuata in base alle informazioni sul luogo di nascita, ha permesso di confermare che i lavoratori assunti nei primi due anni dall'apertura dello stabilimento erano principalmente di origine non gelese con le seguenti proporzioni per luogo di nascita: 19 % Gela, 61% Comuni siciliani diversi da Gela, 18 % Comuni non siciliani (per il 2% dei soggetti non risultava disponibile l'informazione sul Comune di nascita).

In base a tali caratteristiche della coorte, si è voluta esplorare la possibilità di analizzare la componente del rischio residenziale/ambientale per il tumore polmonare. Si è scelto di verificare negli uomini (la coorte includeva solo 186 donne) l'ipotesi di un aumento di rischio per tumore al polmone in relazione alle condizioni residenziali nel Comune di Gela. La condizione residenziale è stata valutata indirettamente sulla base delle seguenti assunzioni relative alla residenza a Gela nel periodo successivo all'apertura del petrolchimico: a) chi è nato a Gela e lavora al petrolchimico di Gela, dovrebbe aver risieduto a Gela nel periodo lavorativo; b) chi è nato in un Comune non siciliano e lavora al petrolchimico di Gela, con elevata probabilità, si è trasferito a Gela e lì ha risieduto almeno durante il periodo lavorativo; c) chi invece è nato in altro Comune siciliano, può aver risieduto a Gela durante il periodo lavorativo o può essere stato un pendolare (per approfondimenti si veda cit. 21). Sulla base del Comune di nascita si sono determinate due categorie: i *probabili residenti* (a + b), e i *possibili pendolari* (c). L'analisi è stata eseguita per tutte le cause di decesso, tutti i tumori, il tumore polmonare, tramite un modello di regressione di Poisson, inserendo quali variabili predittive del rischio oltre al determinante (pendolarismo i.e. a,b,c), l'età, il periodo di calendario, la qualifica.

Il Rischio Relativo (RR) di mortalità per tumore del polmone confrontando i probabili residenti con i possibili pendolari è di 1,66 (IC 90% 1,07-2,58).

Sulla base dei risultati delle valutazioni del contesto occupazionale e residenziale sono state fatte le seguenti considerazioni. L'analisi dei lavoratori del petrolchimico che ha utilizzato le categorie di *probabili residenti* e *possibili pendolari* indica, pur con i limiti della scarsità di informazioni lavorative e dell'assenza di dati ambientali di qualità adeguata, un possibile

“rischio ambientale”. In particolare per il tumore del polmone, sembra essere presente una componente di rischio residenziale/ambientale piuttosto che occupazionale. L'aumentata mortalità per tumore polmonare nei lavoratori *probabili residenti*, rispetto ai *possibili pendolari*, è in accordo con le indagini descrittive della mortalità e della morbosità (19, 20). Gli studi nell'area a rischio di Gela, sia descrittivi che analitici, esemplificano l'opportunità e le potenzialità di indagini descrittive e analitiche; esse documentano l'importanza di una loro lettura integrata per distinguere e/o dimensionare la componente occupazionale e ambientale di un incremento di rischio.

La valutazione della componente occupazionale: una ipotesi di *linkage* con dati correnti

Nell'analisi dei rischi per la salute indotti dalla residenza in prossimità di fonti di inquinamento, particolarmente di impianti industriali, l'analisi di un'eventuale presenza di rischio occupazionale è essenziale. Generalmente questo aspetto di confondimento è trattato in sede di disegno dello studio, prevedendo l'anamnesi lavorativa dei soggetti coinvolti (casi e controlli o membri della coorte per i due studi analitici più frequenti) tramite questionario. In fase di analisi dei dati, la stima dei coefficienti di rischio è aggiustata per un variabile qualitativa di esposizione.

Recentemente è stato discusso l'utilizzo di procedure automatizzate di *linkage* fra banche dati disponibili non solo per le attività di sorveglianza epidemiologica, ma anche nell'ambito di studi di epidemiologia analitica. La disponibilità di archivi nominativi di mortalità a partire dall'anno 1999, nell'ambito del Sistema Statistico Nazionale (SISTAN) coordinato dall'ISTAT, apre ampie prospettive sul versante delle analisi di mortalità di coorte agevolando, nelle procedure di *follow-up*, sia la verifica dell'esistenza in vita che l'identificazione della causa del decesso. È stato infatti dimostrato che la qualità dell'informazione è del tutto soddisfacente e approssima quella ottenuta dalle anagrafi e dai registri regionali di mortalità compensando ampiamente il ritardo nel rilascio degli archivi (intorno a 2,5-3 anni) (23).

D'altra parte è da tempo attivo in Italia un sistema (*Occupational Cancer Monitoring - OCCAM*) di stima dei rischi per tumore e settore produttivo che utilizza, per l'analisi delle esposizioni, i dati sulla storia lavorativa disponibili in forma elettronica presso l'Istituto Nazionale della Previdenza Sociale (INPS) convenzionato a questo scopo con l'ISPESL (Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro). Gli archivi dell'Istituto di Previdenza registrano a partire dal 1974 tutti i periodi di lavoro svolti nel settore privato codificando il settore produttivo di attività. Il disegno dello studio è di tipo caso-controllo di popolazione; i casi sono ottenuti dai registri tumore di popolazione, dagli archivi di mortalità regionale e dalle schede di dimissione ospedaliera mentre i controlli sono un campione casuale delle anagrafi dei residenti della popolazione sorgente dei casi (24, 25). In questo quadro è quindi possibile discutere come utilizzare le procedure disponibili per trattare l'informazione relativa ad eventuali esposizioni professionali nell'ambito di studi analitici del rischio ambientale, sia di coorte che caso-controllo, qualora non fossero disponibili dati anamnestici raccolti *ad hoc*. In particolare, nel caso di studi di coorte su campioni numerosi e senza la possibilità di somministrare questionari analitici sulle storie lavorative dei soggetti arruolati, è possibile recuperare la storia lavorativa secondo le accennate procedure di *linkage* INPS e utilizzare queste informazioni per definire una variabile di possibile/probabile/certa esposizione professionale che può essere trattata nell'analisi statistica.

Per i lavoratori del settore petrolchimico, eccessi di rischio di tumore sono stati documentati per mesotelioma, tumori del sistema linfoematopoietico, polmone, vescica, rene, encefalo e fegato (2). La valutazione della storia professionale dei soggetti sotto osservazione deve fare riferimento a periodi di lavoro in settori per i quali è stata documentata l'associazione con neoplasie di interesse. Nell'ambito dell'attività del progetto OCCAM è disponibile online¹ una matrice della letteratura scientifica che riguarda i tumori di origine occupazionale. Si tratta dei riferimenti (e delle sintesi) di circa 700 lavori pubblicati (studi di coorte, caso-controllo, *cross-sectional*) in ambito occupazionale a partire dalla documentazione reperibile nelle Monografie IARC (vol. 1-55) e nelle banche dati online dell' *US National Library of Medicine*. Per ciascun lavoro sono stati recensiti gli indicatori di rischio significativi per l'associazione settore di attività economica-sede della neoplasia (RR, OR, SMR,...) per un totale di quasi 2000 citazioni (26).

L'utilizzo congiunto di tale matrice e delle storie professionali ottenute attraverso le procedure di *linkage* con gli archivi INPS può contribuire a definire le possibili esposizioni professionali da includere nei modelli di analisi statistica di rischi ambientali per residenza in prossimità di impianti petrolchimici (o siti inquinanti di altra natura).

Tuttavia sono numerosi gli elementi di accortezza da tenere in considerazione e ai quali in questa sede si può solo accennare. Le informazioni reperibili presso gli archivi previdenziali dispongono di dati che si riferiscono al solo settore privato e (almeno in formato elettronico) non precedenti al 1974, non è disponibile la mansione svolta dal soggetto ma solo il settore di attività e con un taglio informativo di tipo amministrativo e non certo epidemiologico. Per quanto riguarda la matrice degli studi occupazionali si tratta di uno strumento che necessita aggiornamento continuo ed è anch'essa, allo stato, organizzata per settore di attività e non per agente. L'insieme di questi aspetti deve suggerire un utilizzo ragionato che risulta particolarmente prezioso in studi analitici su popolazioni molto numerose e per le quali non è ipotizzabile una ricostruzione individuale delle esposizioni professionali tramite questionario.

Considerazioni conclusive

Indagini epidemiologiche analitiche del rischio occupazionale e studi descrittivi del rischio ambientale hanno ripetutamente osservato aumenti di mortalità e incidenza per i tumori del tessuto linfoematopoietico e del polmone in associazione con l'impiego o la residenza in prossimità di impianti petrolchimici. Al fine di definire tale esposizione in termini qualitativi e/o quantitativi per poter attuare interventi di prevenzione sono necessari studi che utilizzino, fin dalla fase del disegno, dati relativi all'esposizione sia occupazionale che ambientale; è inoltre opportuno che tali nuove indagini considerino esiti di incidenza oltre che di mortalità, come è anche auspicabile in esse l'utilizzo di metodi di analisi descrittiva, geografica e degli andamenti temporali che consentano una lettura integrata e coerente dei risultati.

Nei paragrafi precedenti sono state esemplificate applicazioni e fonti di dati che in studi epidemiologici da condurre in Italia possono contribuire alla descrizione della componente occupazionale e ambientale del rischio cancerogeno associato alle industrie petrolchimiche. In particolare in studi di grandi dimensioni è auspicabile prevedere il ricorso a strumenti di record *linkage* fra archivi disponibili come già sperimentato recentemente in situazioni analoghe. Una prima occasione nella quale tenere conto di potenzialità e limiti mostrati dalle indagini epidemiologiche analitiche e descrittive del rischio occupazionali e ambientale, è rappresentato

¹ <http://www.occam.it/matrix/index.php>

dai SIN, nella maggior parte dei quali l'inclusione del sito si basa sulla presenza di stabilimenti petrolchimici e/o chimici.

Bibliografia

1. International Agency for Research on Cancer. *Occupational exposures in petroleum refining*. IARC Monographs 1989;25:68-9.
2. Pasetto R, Biggeri A, Comba P, Pirastu R. Mortalità nei lavoratori della coorte del petrolchimico di Gela 1960-2002. *Epidemiol Prev* 2007;31(1):39-45.
3. Greenberg RS, Mandel JS, Pastides H, Britton NL, Rudenko L, Starr TB. A Meta-Analysis of Cohort Studies Describing Mortality and Cancer Incidence among Chemical Workers in the United States and Western Europe. *Epidemiology* 2001;12:727-40.
4. Lyons RA, Monaghan SP, Heaven M, Littlepage BN, Vincent TJ, Draper GJ. Incidence of leukaemia and lymphoma in young people in the vicinity of the petrochemical plant at Baglan Bay, South Wales, 1974 to 1991. *Occup Environ Med* 1995;52:225-8.
5. Sans S, Elliott P, Kleinschmidt I, Shaddick G, Pattenden S, Walls P, Grundy C, Dolk H. Cancer incidence and mortality near the Baglan Bay petrochemical works, South Wales. *Occup Environ Med*. 1995;52:217-24.
6. Wilkinson P, Thakrar B, Walls P, Landon M, Falconer S, Grundy C, Elliott P. Lymphohaematopoietic malignancy around industrial complexes that include major oil refineries in Great Britain. *Occup Environ Med* 1999;56:577-80.
7. Knox EG, Gilman EA. Hazard proximities of childhood cancers in Great Britain from 1953-80. *J Epidemiol Comm Health* 1977;51:151-9.
8. Pekkanen J, Pukkala E, Vahteristo M, Vartiainen T. Cancer incidence around an oil refinery as an example of a small area study based on map coordinates. *Environ Res* 1995;71:128-34.
9. Bhopal RS, Moffatt S, Pless-Mulloli T, Phillimore PR, Foy C, Dunn CE, Tate JA. Does living near a constellation of petrochemical, steel, and other industries impair health? *Occup Environ Med* 1998;55:812-22.
10. Edwards R, Pless-Mulloli T, Howel D, Chadwick T, Bhopal R, Harrison R, Gribbin H. Does living near heavy industry cause lung cancer in women? A case-control study using life grid interviews. *Thorax* 2006;61:1076-82.
11. Linos A, Blair A, Gibson RW, Everett G, Van Lier S, Cantor KP, Schuman I, Burmeister L. Leukemia and non-Hodgkin lymphoma and residential proximity to industrial plants. *Archiv Environ Health* 1991;46:70-4.
12. Johnson KC, Pan S, Fry R, Mao Y. Residential Proximity to Industrial Plants and Non-Hodgkin Lymphoma. *Epidemiology* 2003;14:687-93.
13. Shore D, Sandler DP, Davey FR, McIntyre OR, Bloomfield CD. Acute leukemia and residential proximity to potential sources of environmental pollutants. *Archiv Environ Health* 1993;48:414-20.
14. Gottlieb MS, Shear CL, Seale DB. Lung cancer mortality and residential proximity to industry. *Environ Health Perspect* 1982;45:157-64.
15. Yu CL, Wang SF, Pan PC, Wu MT, Ho CK, Smith TJ, Li J, Pothier L, Christiani DC. Residential Exposure to Petrochemicals and the Risk of Leukemia: Using Geographic Information System Tools to Estimate Individual-Level Residential Exposure. *Am J Epidemiol* 2006;164:200-7.
16. Yang CY, Cheng MF, Chiu JF, Tsai SS. Female lung cancer and petrochemical air pollution in Taiwan. *Archiv Environ Health* 1999;54:180-5.

17. Belli S, Benedetti M, Comba P, Lagravinese D, Martucci V, Martuzzi M, Morleo D, Trinca S, Viviano G. Case-control study on cancer risk associated to residence in the neighbourhood of a petrochemical plant. *Eur J Epidemiol* 2004;19:49-54.
18. Comba P, Fazzo L. Disegno dello studio epidemiologico nei siti inquinati: aspetti di validità e fattibilità. In Bianchi F, Comba P (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti inquinati: basi scientifiche, procedure metodologiche e gestionali, prospettive di equità*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/19). p. 104-8.
19. Martuzzi M, Mitis F, Biggeri A, Terracini B, Bertollini R. Ambiente e stato di salute nella popolazione delle aree ad alto rischio di crisi ambientale in Italia. *Epidemiol Prev* 2002;26(suppl 1):1-53.
20. Fano V, Cernigliaro A, Scondotto S, et al. Analisi della mortalità (1995-2000) e dei ricoveri ospedalieri (2001-2003) nell'area industriale di Gela. *Epidemiol Prev* 2006;30:27-32.
21. Pasetto R. Studio della mortalità dei lavoratori del petrolchimico di Gela: uno studio di coorte occupazionale in un sito inquinato. Tesi di Master di II livello in Epidemiologia. Università di Torino, 2007. Disponibile all'indirizzo: http://www.iss.it/binary/epam/cont/Pasetto_TESI%20MASTER%20_short.1170764750.pdf; ultima consultazione 23/10/07.
22. Hytten E, Marchioni M. *Industrializzazione senza sviluppo. Gela: una storia meridionale*. Milano, Franco Angeli; 1970.
23. Demaria M, Migliardi A, Gnani R, Dalmaso M, Costa G. Use of ISTAT mortality records for follow up study and local mortality data base *Epidemiol Prev* 2005;29(5-6):278-83.
24. Crosignani P, Nesti M, Audisio R, Amendola P, Cavuto S, Scaburri A, Zambon P, Nedoclan G, Stracci F, Pannelli F, Miligi L, Vercelli M. A monitoring system for occupational cancer. *Med Lav* 2005;96(1):33-41.
25. Crosignani P, Massari S, Audisio R, Amendola P, Cavuto S, Scaburri A, Zambon P, Nedoclan G, Stracci F, Pannelli F, Vercelli M, Miligi L, Imbriani M, Berrino F. The Italian surveillance system for occupational cancers: characteristics, initial results, and future prospects. *Am J Ind Med* 2006;49(9):791-8.
26. Audisio R, Amendola P, Imbriani M, Marinaccio A, Scarselli A, Scaburri A, Crosignani P. Matrice in progress per la consultazione dei dati bibliografici relativi alle neoplasie di sospetta origine professionale. *Med Lav* (sottoposto per pubblicazione).

SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA E SANITARIA IN SITI INQUINATI DA AMIANTO

Amerigo Zona, Caterina Bruno

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Per le definizioni di sito, sito inquinato e sito di interesse nazionale si rimanda agli articoli 2 e 15 del Decreto Ministeriale 25 ottobre 1999, n. 471 (1).

La Legge 9 dicembre 1998, n. 426 e successive modifiche e integrazioni, identifica ad oggi 54 siti inquinati di interesse nazionale nel nostro Paese (2).

Dall'esame dei fattori di rischio identificati nei siti inquinati è possibile enucleare una lista di aree nelle quali è accertata o possibile la presenza di amianto o fibre amianto-simile:

- *Presenza di amianto accertata*
 - Casale Monferrato (AL)
 - Balangero (TO)
 - Emares (AO)
 - Broni (PV)
 - Terni - Papigno (TN)
 - Massa e Carrara
 - Napoli - Bagnoli - Coroglio (NA)
 - Litorale vesuviano (NA)
 - Taranto (TA)
 - Bari - Fibronit (BA)
 - Tito (PZ)
 - Val Basento (MT)
 - Priolo (SR)
 - Biancavilla (CT)
 - Porto Torres (SS)
 - Gela (CL)
- *Presenza di amianto possibile* *
 - Basse di Stura (TO): rifiuti da attività siderurgiche
 - Pitelli (SP): rifiuti da demolizioni navali
 - Sesto S. Giovanni (MI): attività siderurgiche
 - Laghi di Mantova: attività metallurgica, petrolchimico, raffineria
 - Venezia Porto Marghera: cantieri navali, metallurgia, discariche abusive
 - Trieste: area portuale
 - Piombino (LI): siderurgia, centrali termoelettriche, area portuale
 - Livorno: area portuale

* Siti per i quali a tutt'oggi la presenza di amianto non è stata espressamente segnalata ma si ritiene che tale contaminazione non possa essere esclusa

- Bacino idrografico del Fiume Sacco (RM - FR): cemento-amianto nel Comune di Ferentino (FR)
- Napoli orientale: polo petrolifero
- Brindisi: area portuale, petrolchimico, metallurgico.

Nella maggior parte dei casi, i siti della precedente lista sono stati sede di insediamenti produttivi per l'estrazione o per la lavorazione dell'amianto, o di attività che hanno comportato l'uso di amianto in grado più o meno marcato (cantieristica navale, produzione di materiale ferroviario, centrali termoelettriche). Nel caso di Biancavilla (CT) si è verificato un fenomeno di contaminazione ambientale da fluoro-edenite, un minerale asbestiforme con effetti mesoteliomatogeni prima sconosciuto, identificato inizialmente in una cava utilizzata per la produzione di materiali per l'edilizia (3), e successivamente rinvenuto nel suolo in varie zone del territorio di questo Comune (4).

In linea generale possono essere ipotizzate esposizioni pregresse di carattere professionale, domestiche (familiari conviventi, ad esempio nel caso di abitudine al lavaggio in casa di indumenti da lavoro) (5), esposizioni nella popolazione generale residente nei pressi delle attività produttive (6), o che abbia utilizzato materiali di scarto provenienti da tali insediamenti (7) o comunque contaminati (8).

Effetti dell'amianto sulla salute dell'uomo

Gli effetti sono caratterizzati da una lunga latenza clinica, rendendosi evidenti a distanza di molti anni dall'inizio dell'esposizione. È possibile distinguere patologie non neoplastiche (asbestosi, versamento pleurico, placche pleuriche e ispessimento pleurico diffuso) (9) e patologie tumorali (tumore polmonare, mesotelioma maligno) (10).

L'asbestosi è una fibrosi polmonare diffusa, determinata dall'inalazione di fibre di amianto. Tale fibrosi può determinare la comparsa di un quadro funzionale respiratorio di tipo restrittivo; l'esposizione ad amianto può indurre un quadro ostruttivo, direttamente o per concomitante esposizione ad altri fattori nocivi (polveri, fumo di sigaretta). La policitemia, il cor pulmonale, l'ipertensione polmonare, e altre manifestazioni di insufficienza polmonare, sono complicanze comuni. La polmonite viene riportata come una delle principali cause di morte negli asbestosici (11).

Sulla pleura gli effetti dell'amianto sono molteplici: versamento pleurico acuto, ispessimento pleurico circoscritto (placche), o diffuso. La prevalenza delle placche è correlata al tempo dalla prima esposizione (latenza), e l'insorgenza è rara prima di venti anni dalla prima esposizione. In genere sono bilaterali, e interessano essenzialmente la pleura parietale. Tendono a localizzarsi lungo le coste nella parte inferiore della parete toracica posteriore; generalmente risparmiano gli angoli costo-diaframmatici e gli apici. Le placche pleuriche bilaterali sono attribuibili nell'80-90% dei casi all'esposizione ad asbesto (12). La maggior parte appare dopo i trenta anni dall'inizio dell'esposizione. Ispessimenti pleurici si osservano anche in altre patologie: ad esempio un ispessimento della pleura apicale può essere dovuto a tubercolosi. L'obliterazione del seno costo-frenico può essere determinata da traumi, emotorace, pregresse pleuriti.

Le placche hanno un carattere lentamente progressivo. Circa l'85% dei soggetti con elevata esposizione professionale ad amianto mostra alterazioni pleuriche, soprattutto placche, a più di quaranta anni dall'inizio dell'esposizione. A parità di storia di esposizione ad amianto, i soggetti che presentano placche pleuriche hanno un rischio maggiore di contrarre una neoplasia polmonare o pleurica maligna: questo si ritiene dovuto alla presenza di un maggior carico di fibre di amianto, o ad un'esposizione più elevata (9). La presenza di lesioni pleuriche, anche in

assenza radiografica di asbestosi, può associarsi ad un quadro respiratorio funzionale di tipo restrittivo, e ad una riduzione della capacità di diffusione polmonare per il monossido di carbonio. L'ispessimento pleurico diffuso colpisce la pleura viscerale. La frequenza di questa manifestazione aumenta con l'aumentare del tempo dalla prima esposizione, e si ritiene correlata alla dose. Può anche essere determinata dall'estendersi alla pleura viscerale della fibrosi interstiziale. Si tratta di un quadro meno specifico rispetto alle placche pleuriche bilaterali, poiché può essere indotto da diverse altre patologie che coinvolgono la pleura (ad esempio connettivopatie). Rispetto alle placche pleuriche l'ispessimento pleurico diffuso può avere un impatto maggiore sulla funzionalità respiratoria.

Il rischio di tumore polmonare in soggetti esposti ad amianto è da due a cinque volte maggiore che nei non esposti, nei soggetti asbestosici varia a seconda dei diversi Autori, ma sembrerebbe compreso tra il 18 e il 40%. La comparsa di una neoplasia polmonare attribuibile all'esposizione ad amianto sembra indipendente dalla presenza di asbestosi (13).

Il mesotelioma maligno, neoplasia a partenza da tessuti mesoteliali, ha nella maggior parte dei casi sede pleurica, ma può presentarsi anche nel peritoneo, nel pericardio, nella tunica vaginale del testicolo. È una neoplasia specificatamente legata all'esposizione ad amianto, caratterizzata da un'incidenza molto bassa nella popolazione generale, tranne che in aree fortemente contaminate con amianto, e non è correlata all'abitudine al fumo.

Strumenti diagnostici radiologici

La radiografia del torace è uno strumento utile per la diagnosi delle patologie asbesto-correlate. L'Ufficio Internazionale del Lavoro (ILO) ha elaborato un sistema standardizzato per l'esecuzione e la classificazione delle radiografie effettuate per lo studio delle pneumoconiosi, rivista di recente (14). In caso di asbestosi lieve la radiografia tradizionale ha sensibilità e specificità limitate: soggetti affetti da asbestosi confermata istologicamente mostravano una positività radiologica nell'80-85% dei casi (15). È rilevante osservare che, data la sensibilità della radiografia tradizionale nell'identificare un'asbestosi lieve intorno al 90%, e la specificità intorno al 93%, applicando tali parametri a popolazioni con diversa prevalenza, il valore predittivo positivo della radiografia per la diagnosi di asbestosi può scendere, se utilizzata da sola, al di sotto del 30%, nei casi in cui l'esposizione all'asbesto sia stata poco frequente: di questo va tenuto conto nei casi in cui si voglia pianificare uno screening radiologico.

La Tomografia Computerizzata (TC) identifica con una maggiore sensibilità lesioni parenchimali e placche pleuriche. La tomografia computerizzata ad alta risoluzione è utile nei casi dubbi, nei casi in cui ad un quadro radiologico normale si accompagni un quadro funzionale respiratorio compromesso, nei casi in cui l'interessamento pleurico impedisca una valutazione del parenchima polmonare.

Strumenti terapeutici

Non esistono trattamenti che prevengano l'insorgenza o la progressione dell'asbestosi e delle altre patologie asbesto-correlate una volta che l'esposizione abbia avuto luogo. L'*American Thoracic Society* (ATS) ha sottolineato che per i soggetti con malattie amianto-correlate vada perseguita la possibilità di un miglioramento clinico e funzionale (9). La presenza di asbestosi non esime il clinico dall'indagare o trattare le altre condizioni coesistenti che possono

rispondere ai trattamenti clinici, ad esempio l'ipertensione polmonare, l'asma bronchiale e la Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) (11).

L'ATS suggerisce che i pazienti con patologie da amianto dovrebbero ricevere il vaccino antipneumococcico e la vaccinazione annuale per l'influenza (9).

Alcuni pazienti manifestano un dolore pleurico intenso: dopo attenta diagnosi differenziale per escludere eventuali neoplasie, il dolore da placche pleuriche richiede trattamenti con analgesici e, in casi selezionati, il riferimento ad una clinica specializzata nella terapia del dolore.

Dato che l'aumento dell'incidenza di tumori del colon in soggetti con pregressa esposizione ad amianto è controversa (16), non si ritiene di dover raccomandare alcuno screening per tale patologia nei soggetti esposti.

Attualmente per il mesotelioma pleurico la chemioterapia standard è rappresentata dal cisplatino con il pemetrexed. Il trattamento chirurgico, la radioterapia hanno un ruolo molto limitato. Nel complesso i trattamenti disponibili non danno comunque risultati soddisfacenti, e la sopravvivenza mediana è di circa un anno (17).

Esperienze di sorveglianza epidemiologica e sanitaria

Per l'ampiezza e la varietà degli strumenti utilizzati si ritiene particolarmente rilevante la vicenda di Libby, Montana, USA (7). A Libby era presente un'attività estrattiva di vermiculite, un minerale fibroso largamente utilizzato, risultata poi contaminata con asbesto.

L'Agenzia federale statunitense per le Sostanze Tossiche e il Registro delle Patologie (ATSDR, *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*) ha effettuato studi sulla mortalità nella popolazione di Libby, screening radiologici per valutare la presenza di anomalie radiologiche nella popolazione generale e in soggetti con pregressa esposizione ad amianto, revisione di statistiche sanitarie di morbosità e mortalità in comunità nel cui territorio erano presenti insediamenti industriali che utilizzavano la vermiculite, sorveglianza epidemiologica per il mesotelioma in diversi Stati nei quali era stata utilizzata la vermiculite.

A Minneapolis, NE, dove aveva sede la Western Minerals/W. R. Grace, sono state intraprese diverse iniziative per gli ex-lavoratori, come per i residenti e gli ex-residenti della comunità locale (18). L'azienda aveva operato per più di 50 anni (1938-1989) all'interno di una zona urbanizzata, avendo utilizzato più di 100.000 tonnellate di materiale. Uno scarto di lavorazione (*stoner rock*) contenente circa il 10% di anfibolo d'amianto, in particolare tremolite e actinolite, veniva offerto gratuitamente a chi volesse farne uso a scopo edilizio; i bambini giocavano sui mucchi dei residui di lavorazione della vermiculite. Sono state identificate, e bonificate, 259 proprietà immobiliari contaminate con amianto di Libby. Il MDH (*Minnesota Health Department*) ha condotto un'indagine con l'obiettivo di caratterizzare l'entità e le varie forme di esposizione nella comunità, nei lavoratori e nelle loro famiglie (conviventi al momento del loro lavoro nell'azienda), e fornire raccomandazioni per futuri studi sullo stato di salute. Sono state intervistate 6714 persone.

Più del 10% della popolazione aveva avuto contatto diretto con materie di scarto proveniente da Libby, altri soggetti vivevano alla distanza di meno un isolato dall'azienda dove un modello di dispersione delle fibre stimava un'importante esposizione pregressa. Le esposizioni dei familiari si erano verificate con il lavaggio degli abiti da lavoro e la visita o l'aiuto al familiare sul posto di lavoro, con la pulizia casalinga di suoli contaminati e per la presenza di polveri nell'abitazione.

L'esame dei certificati di morte disponibili dei lavoratori ha mostrato che su 46 decessi, 18 erano dovuti a tumori dell'apparato respiratorio o a malattie non neoplastiche dello stesso apparato.

È stata effettuata una revisione dei casi incidenti di tumori (1988-2002) nell'area in oggetto, riscontrando 322 casi maschili di tumore del polmone (250 attesi), e 14 casi totali di mesotelioma, 6 nelle donne (2 gli attesi per il sesso femminile).

È stato organizzato un piano integrato di comunicazione per fornire appropriate informazioni, e di educazione sanitaria sul rischio ambientale e sulla promozione della salute rivolto con modalità distinte ai soggetti interessati dell'area come individui, ai gruppi di aggregazione sociale e alle organizzazioni, agli operatori sanitari presenti sul territorio.

Nell'ambito di questo intervento sono state previste delle collaborazioni strutturate con la municipalità di Minneapolis, l'EPA e il MDH. Si è approntato un piano per la gestione del risanamento delle proprietà contaminate che fossero identificate in futuro, per fornire informazioni e collaborazione nelle indagini sugli altri siti contaminati e addestrare ispettori e altri tecnici per gli altri impianti di trattamento del minerale di Libby. Infine a causa dell'ampia contaminazione dei suoli nell'area in studio rintracciabile nelle case, i livelli elevati di contaminazione presenti nel passato e l'uso della vermiculite per coibentazioni domestiche, l'MDH ha proposto uno studio sulla presenza e quantità di amianto nella polvere delle abitazioni nella comunità di Minneapolis.

In futuro saranno avviati studi sugli effetti dell'esposizione domestica sulla salute femminile, uno studio di coorte per la mortalità causa specifica e l'incidenza di tumori, uno screening per la prevalenza di anomalie radiologiche pleuriche e polmonari in un sottogruppo della coorte, esposto da almeno 20 anni prima.

In Italia è stato compiuto di recente uno studio ecologico, mirato alla valutazione della mortalità e della morbosità dei residenti nella città di Biancavilla (CT). Attraverso il calcolo dei Rapporti Standardizzati di Mortalità (SMR, periodo 1995-2000), e dei Rapporti Standardizzati di Ospedalizzazione (SHR, periodo 2001-2003), per età, causa e genere, avendo come riferimento la popolazione dei Comuni limitrofi, sono stati osservati eccessi significativi di mortalità e ricoveri ospedalieri in entrambi i sessi, per tumore maligno della pleura, malattie cardiovascolari e malattie respiratorie (8). Nell'area di Biancavilla è stata osservata un'associazione significativa tra mortalità per patologie polmonari di tipo cronico-ostruttivo e mesotelioma pleurico (19).

In Basilicata sono stati descritti tre casi di mesotelioma insorti nella popolazione di una circoscritta area rurale: in due casi è considerata possibile, ma non dimostrata, un'esposizione professionale ad amianto, in un caso è dimostrata l'esposizione ambientale a tremolite, fibra presente nella zona, nelle cosiddette rocce verdi (20,21). È interessante lo strumento scelto dall'ISS, dalla Regione Basilicata e dall'Università di Bari per identificare le modalità più corrette e adeguate alla gestione del problema sanitario in senso lato, una *Consensus Conference* all'interno della quale si sono confrontate realtà scientifiche, sanitarie, politiche locali, regionali e nazionali (22).

Uno studio caso-controllo di popolazione multicentrico (Italia, Spagna e Svizzera) ha calcolato il rischio dell'insorgenza di mesotelioma pleurico dovuto ad esposizione ambientale diffusa, di basso livello; in Italia sono stati studiati Torino, i Comuni nell'area dell'ASL di Casale Monferrato (dove ha operato dal 1905 al 1985 la più grande azienda italiana del comparto cemento-amianto, distante 1500 metri dal centro cittadino, e 250 metri dalle aree residenziali più prossime, e i materiali prodotti sono stati largamente utilizzati a livello locale), le Province di Firenze e Prato (23). Dei 215 casi identificati, 53 non avevano una pregressa esposizione professionale: per questi la probabilità moderata o elevata di esposizione domestica (lavaggio a casa di indumenti da lavoro contaminati, manipolazione di amianto, presenza di

amianto suscettibile di danno) o ambientale era associata con un incremento del rischio. Tale rischio aumentava maggiormente con la probabilità e intensità dell'esposizione ambientale (OR 11,5 per soggetti con elevata probabilità di esposizione ambientale, ad esempio per aver vissuto a meno di 2000 metri da un insediamento produttivo che utilizzava amianto, o che ne effettuava l'estrazione).

Utilizzando altri dati, è stato condotto uno studio caso-controllo esclusivamente nell'area di Casale Monferrato (6). Sono stati inclusi i casi di mesotelioma pleurico maligno registrati nel periodo 1/1/1987-30/6/1993. Sono stati intervistati 102 casi e 273 controlli (23 casi e 20 controlli presentavano un'esposizione domestica dovuta alla convivenza con dipendenti dell'azienda). Il rischio più elevato apparteneva ai soggetti che avevano uno dei genitori dipendente della struttura produttiva. Escludendo i lavoratori, vivere a Casale Monferrato era associato ad un rischio molto elevato, con un trend spaziale correlato all'aumentare della distanza dall'azienda. Gli Autori hanno suggerito che l'esposizione ambientale abbia causato un rischio maggiore dell'esposizione domestica. Nello studio viene rimarcata l'importanza della corretta esclusione dell'esposizione professionale se viene studiata la componente ambientale.

L'importanza della componente ambientale è ben rappresentata anche nel Secondo Rapporto Registro Nazionale dei Mesoteliomi (ReNaM): la Tabella 1 riporta il numero di casi totali di mesotelioma incidenti in Italia nel periodo 1993-2001. Come si può osservare, i casi dovuti ad un'esposizione ambientale rappresentano il 4,2% del totale (150 casi, 73 negli uomini, 77 nelle donne) (24).

Tabella 1. Casi mesotelioma incidenti nel periodo 1993-2001*

| Esposizione | Uomini - casi (%) | | Donne - casi (%) | | Totale -casi (%) | |
|----------------------|-------------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|
| Ambientale | 73 | (2,7) | 77 | (9,1) | 150 | (4,2) |
| Totale casi definiti | 2.702 | (100) | 850 | (100) | 3.552 | (100) |

* modificata da Marinaccio A, *et al.* (24)

Nello stesso Rapporto, nella sezione che presenta i dati del Centro Operativo Puglia (COR) sono 32 i casi di mesotelioma attribuiti all'esposizione ambientale nella città di Bari, tutti residenti entro un chilometro da uno stabilimento per la produzione di cemento-amianto.

Nell'area cinese di Da-yao, caratterizzata dalla presenza nel suolo di aree contenenti crocidolite, con una rilevante quota di soggetti portatori di placche pleuriche, e un eccesso di casi di mesotelioma pleurico, è stato condotto uno studio trasversale basato su controlli medici. Sono stati arruolati gli abitanti di due dei tre paesi interessati, per un totale di 2175 adulti, di età pari o superiore ai 20 anni, sottoposti ad una visita medica e ad un esame fluoroscopico del torace (nei casi sospetti Rx torace): alla stessa procedura sono stati sottoposti soggetti scelti come popolazione di controllo, di sovrapponibile distribuzione di età, con simili condizioni di vita, ma senza una condizione di esposizione a fibre di amianto. È stata osservata una prevalenza di placche pleuriche pari all'11% (232 casi su 2175), quasi doppia nei soggetti di età superiore ai 40 anni, e 16 casi di asbestosi (1,4%) tra i soggetti di età superiore ai 40 anni: nessun caso è stato osservato nella popolazione di controllo (25).

Nella città di Matsubase, Giappone, nella quale in precedenza era presente un'attività estrattiva di amianto, e di produzione di manufatti, è stata valutata attraverso la radiografia del torace la prevalenza di placche pleuriche nella popolazione generale, nei soggetti di età pari o superiore ai 20 anni, risultata pari al 9,5% su 9832 soggetti esaminati (81% della popolazione) (26).

Invece nell'area nord-est della Corsica, che presenta un fenomeno di inquinamento ambientale naturale da crisotilo e tremolite, è stata effettuata una valutazione di radiografie del

torace presenti nell'archivio dell'ospedale di Tattone, di soggetti per i quali era stata esclusa una qualsivoglia esposizione professionale ad amianto, confrontandoli con radiogrammi di soggetti residenti nell'area nord-occidentale, meno contaminata. Lo studio ha evidenziato una prevalenza di placche pleuriche bilaterali rispettivamente pari al 3,7% e all'1,1%, su un totale di 1721 radiogrammi (1393 dell'area nord-est, 261 dell'area nord-ovest) (27).

Sorveglianza sanitaria: alcune indicazioni generali

Qualora si ritenesse di avviare in un sito contaminato da amianto un programma di sorveglianza basato su accertamenti sanitari, andranno rese esplicite tutte le finalità del programma, anche per comprendere se il protocollo sarà in grado di dare risposte adeguate e coerenti. Andranno cioè resi espliciti, se presenti, obiettivi ulteriori rispetto a quello iniziale di risposta ad un problema emergente di sanità pubblica: diagnosi precoce, tutela medico-legale, informazione, modifica dello stile di vita (abitudine al fumo).

Andranno resi espliciti i criteri di scelta degli esami diagnostici, valutando differenziazioni a seconda dei soggetti indagati (ex-lavoratore, familiari, popolazione generale), la loro appropriatezza e coerenza con gli obiettivi del programma, prevedendo percorsi di approfondimento diagnostico (esami di secondo livello).

Il protocollo operativo dovrà chiaramente contenere gli elementi da utilizzare per identificare i soggetti, definendo criteri di inclusione ed esclusione; le procedure che si vorranno adottare per stabilire un contatto con i soggetti; dare definizioni operative e caratteristiche degli eventi sanitari di interesse. La comunicazione andrà curata in tutte le sue sfaccettature (scopi e contenuti del programma, scansione temporale, durata delle attività, risultati a livello individuale e collettivo, rischi, informazioni generali alla comunità); il consenso informato dovrà essere preventivamente acquisito.

Andrà definita la durata delle attività, se ogni soggetto sarà esaminato una o più volte nel tempo, se per alcuni accertamenti, o alcune situazioni siano previsti percorsi e tempi diversi, e quali siano.

Non sono secondari i criteri per la scelta delle strutture sanitarie per i diversi accertamenti (di base e di secondo livello), come pure l'identificazione di requisiti minimi per identificare gli operatori sanitari necessari. Altrettanto rilevante la definizione dei requisiti minimi della strumentazione diagnostica, in particolare per la radiologia e la fisiopatologia respiratoria, e l'utilizzo di criteri standardizzati per l'esecuzione e l'interpretazione dei risultati radiologici e di funzionalità respiratoria.

Andranno identificate le modalità di archiviazione e gestione dei dati via via raccolti, il piano di analisi e di presentazione dell'elaborazione delle informazioni.

Molta cura andrà posta nell'attivazione di una serie di rapporti tra strutture e figure professionali: strutture che gestiscono la sorveglianza sanitaria, medici curanti, strutture sanitarie di secondo livello per approfondimenti diagnostici e percorsi terapeutici, l'INAIL (nel caso di valutazioni di soggetti con pregressa esposizione professionale) per i risvolti medico-legali.

La qualità delle attività andrà garantita in tutti i passaggi, dalla raccolta dati, alle modalità di registrazione delle informazioni, dall'assunzione di criteri di standardizzazione nell'effettuazione degli esami, alle definizioni diagnostiche, e ciò al fine di rendere confrontabili con analoghe iniziative metodologie e risultati ottenuti.

Sarà essenziale una corretta documentazione e archiviazione di tutta l'attività, incluse decisioni assunte anche in corso d'opera, per facilitare una lettura del lavoro anche a distanza di tempo.

Si potrebbe immaginare un percorso così articolato:

- A) In un contesto di esposizione ambientale il primo obiettivo da porsi è quello di evitare ulteriori esposizioni. Per questo motivo in un sito inquinato da amianto andranno identificate le modalità dell'esposizione (18), e se la possibilità di esposizione fosse ancora in opera l'obiettivo primario è quello di bonificare o mettere in sicurezza le fonti di esposizione.
- B) L'esposizione andrà caratterizzata (continua / sporadica, di livello alto / medio / basso, per inizio e durata), al fine di suddividere la popolazione per livelli di esposizione. Qualora vi siano soggetti che abbiano lavorato presso l'insediamento produttivo del sito in studio, e i loro familiari conviventi, sarà opportuno raccogliere dai primi informazioni relative alla storia lavorativa, per documentare e valutare l'entità della possibile esposizione: mansione, attività effettivamente svolte, tempi di impiego, presenza o assenza di dispositivi di protezione ambientale e individuale e loro effettivo utilizzo, storia del ciclo produttivo e rilevanti modifiche strutturali. Non dovranno mancare dati relativi a comportamenti, consuetudini capaci di creare fenomeni di esposizione per i familiari conviventi durante il periodo di lavoro (18). Andrà ovviamente posta molta attenzione agli aspetti temporali, per valutare e documentare l'esistenza di periodi di latenza adeguati. Anche per i familiari conviventi e i residenti vanno identificati i periodi e le modalità della pregressa con l'intento di una valutazione semiquantitativa.
- C) La storia clinica dei soggetti andrà indagata con cura, ed esaminata ogni documentazione clinica in possesso degli interessati, sia per venire a conoscenza di eventuali episodi di malattia sospetti (ad esempio pregresse pleuriti), sia per evitare inutili duplicazioni. Acquisiti gli accertamenti, andranno valutati per pertinenza e affidabilità i risultati: se qualitativamente adeguati, verranno utilizzati come base di una descrizione dello stato di salute dei soggetti esposti.
- D) Nel caso in cui si giunga alla conclusione che vi siano soggetti con una esposizione pregressa importante, per i quali non siano già stati svolti accertamenti sanitari adatti ad inquadrare lo stato di salute individuale, è opportuna una valutazione clinica e strumentale, per raccogliere informazioni su eventuali sintomi soggettivi, evidenziare segni fisici anomali, studiare la funzionalità respiratoria (spirometria e diffusione polmonare per il monossido di carbonio) ed effettuare una radiografia del torace. Dovranno essere preliminarmente identificate le strutture sanitarie per eventuali approfondimenti diagnostici, e decisi i percorsi per indirizzare i soggetti in tal senso. Andrà specificatamente valutata la presenza di patologie professionali già accertate, o sospette. L'identificazione di sospetti quadri tecnopatici non identificati in precedenza consentirà l'avvio dell'iter assicurativo previsto per le malattie professionali negli ex lavoratori. Qualora dal quadro fornito da questi ultimi risultasse che non possano essere escluse esposizioni per i familiari, sarà opportuno procedere alla raccolta anamnestica per identificare sintomi o patologie pregresse sospette. In casi selezionati, nei quali sia ipotizzabile un'esposizione elevata, andrà valutata la funzionalità respiratoria e l'opportunità di un esame radiografico del torace.
- E) Per i residenti andrà valutata accuratamente l'entità della pregressa esposizione ipotizzabile e l'intervento nei loro confronti modulato a seconda dell'entità, dal semplice inserimento in un elenco di esposti in via ambientale ad un esame radiografico del torace e ad una prova di funzionalità respiratoria.
- F) In coloro i quali viene diagnosticata un'asbestosi verranno offerte vaccinazioni antinfluenzali e antipneumococciche per evitare che una situazione respiratoria già in parte compromessa venga peggiorata da patologie respiratorie intercorrenti.

G) Sarà molto utile organizzare incontri di formazione / informazione per gli operatori sanitari delle strutture competenti per territorio per un aggiornamento sulla diagnosi e la gestione delle patologie asbesto-correlate.

In presenza di un'esposizione significativa, una latenza (tempo dall'inizio dell'esposizione) adeguata, e di accertamenti funzionali e radiologici negativi per asbestosi e malattie asbesto-correlate, l'ATS suggerisce un monitoraggio (funzionalità polmonare, radiografia del torace) con una cadenza di 3-5 anni.

Ad oggi vanno esclusi screening per il tumore polmonare e per il mesotelioma pleurico, poiché non vi sono ancora strategie preventive di cui sia stata dimostrata l'efficacia in termini di riduzione della mortalità (28, 29).

Un'attività di questo tipo potrebbe facilitare un incremento della consapevolezza da parte delle strutture locali in termini di gestione di un intervento di sanità pubblica e di medicina di comunità, come pure un miglioramento del livello di comunicazione tra operatori ASL, medici di base, INAIL, strutture sanitarie di secondo livello, e utenti del servizio sanitario.

Sorveglianza epidemiologica

Nella valutazione dell'impatto sulla salute dei residenti in siti inquinati, si hanno a disposizione diversi strumenti epidemiologici che possono essere adoperati, a seconda delle circostanze e delle finalità: studi basati sui dati di mortalità, studi che utilizzano le Schede di Dimissioni Ospedaliere (SDO), studi che utilizzano le informazioni ricavabili dai Registri tumori. In tutti i casi, è rilevante la qualità dei dati disponibili: completezza, veridicità, accuratezza sono essenziali per produrre risultati affidabili.

Un punto essenziale è rappresentato dalla scelta della popolazione di riferimento, diversa a seconda della tipologia dello studio, dell'ampiezza dell'area esaminata, e condizionata dalla disponibilità di dati utilizzabili (30)¹.

Gli studi ecologici possono consentire la valutazione dello stato di salute di una determinata popolazione, che risiede in un'area di interesse, ottenendo un'indicazione sul profilo generale di mortalità, o della mortalità relativa ad alcune patologie, ad esempio di quelle associate ai fattori di rischio in studio. Il vantaggio risiede nell'elaborazione di statistiche sanitarie basate su dati correnti già disponibili. Le indicazioni che emergono possono rappresentare il punto di partenza di studi analitici, come pure fornire elementi per definire possibili interventi di sanità pubblica e ambientale (31). Per un esempio di applicazione di studi ecologici su residenti esposti a fibre asbestiformi si rimanda ai riferimenti bibliografici 8 e 19.

L'utilizzo dei dati di dimissione ospedaliera in epidemiologia ambientale è relativamente recente: la copertura nazionale delle SDO è avvenuta dalla seconda metà degli anni '90, anche se al momento attuale non in tutte le Regioni possono essere utilizzate per finalità di ricerca epidemiologica. L'utilità di questi dati si ha negli studi che tentano di formulare ipotesi eziologiche da saggiare con studi analitici caso - controllo o di coorte. La patologia dovrà essere caratterizzata da bassa mortalità, e indurre frequenti ricoveri (32). Le SDO hanno trovato applicazione ad esempio nel lavoro di Cernigliaro *et al.* (8).

I Registri Tumori in Italia non sono presenti omogeneamente su tutto il territorio nazionale, e coprono una popolazione di circa 13.300.000 utenti. Ne deriva che solo in alcuni casi chi risiede in sito di interesse nazionale è anche servito da un Registro Tumori (33).

¹ Si veda anche il capitolo del prof. Benedetto Terracini nel presente Rapporto.

Gli studi caso-controllo sono adatti allo studio eziologico di malattia a bassa incidenza con esposizione al fattore considerato relativamente diffusa: consentono di effettuare un confronto tra i casi e i controlli per determinare i fattori che possono essere associati all'evento sanitario di interesse. Di rilievo in ambito italiano due studi su Casale Monferrato (6, 23).

Gli studi di coorte osservano un ampio gruppo di soggetti per un lungo e definito periodo di tempo, e consentono di calcolare tassi di morbosità o mortalità nei soggetti con diversi livelli di esposizione. Le informazioni relative all'esposizione dei soggetti vengono prese in considerazione prima di quelle relative all'insorgenza della malattia studiata. Si tratta di un disegno adatto allo studio dell'associazione tra un'esposizione rara nella popolazione generale e una malattia relativamente frequente. L'identificazione dei soggetti da inserire in una coorte di tipo residenziale presuppone un lavoro preliminare di notevole portata: si veda a tale proposito quanto intrapreso dalle autorità sanitarie nel caso di Minneapolis, NE con l'intento di definire la coorte dei residenti esposti al minerale proveniente da Libby (18).

Comunicazione con la popolazione

La comunicazione con la popolazione residente in un sito inquinato è particolarmente rilevante. La nozione che la presenza di fattori di rischio per la salute possa generare patologie negli abitanti di una certa area crea comprensibilmente uno stato di allarme e la necessità di ricevere risposte adeguate e coerenti sul tema dello stato di salute, della possibilità di azioni preventive, di controllo, come pure di suggerimenti di tipo comportamentale. La costituzione di un gruppo di lavoro multidisciplinare, con esperti provenienti da Istituzioni scientifiche, rappresentanti delle Strutture e Amministrazioni regionali e/o comunali, facilita il coordinamento del processo di comunicazione, promuovendo la circolazione delle informazioni e la collaborazione tra i diversi soggetti interessati. È importante tener conto che i contenuti dovrebbero essere basati sulle evidenze acquisite più di recente, separandole da opinioni e giudizi, per non incrinare la credibilità delle Istituzioni scientifiche e la fiducia verso le figure istituzionali (22).

Bibliografia

1. Italia. Decreto Ministeriale 25 ottobre 1999, n. 471. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n. 293, 15 dicembre 1999.
2. Italia. Legge 9 dicembre 1998, n. 426. Nuovi interventi in campo ambientale. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n. 291, 14 dicembre 1998.
3. Paoletti L, Batisti D, Bruno C, Di Paola M, Gianfagna A, Mastrantonio M, Nesti M, Comba P. Unusually high incidence of malignant pleural mesothelioma in a town of eastern Sicily: an epidemiological and environmental study. *Arch Environ Health* 2000;55:392-8.
4. Bruno C, Comba P, Zona A. Adverse health effects of fluoro-edenitic fibers: epidemiological evidence and public health priorities. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1076:778-83.
5. Ferrante D, Bertolotti M, Todesco A, Mirabelli D, Terracini B, Magnani C. Cancer mortality and incidence in a cohort of wives of asbestos workers in Casale Monferrato, Italy. *Environ Health Perspect* 2007;115:1401-5.
6. Magnani C, Dalmasso P, Biggeri A, Ivaldi C, Mirabelli D, Terracini B. Increased risk of malignant mesothelioma of the pleura after residential or domestic exposure to asbestos: a case-control study in Casale Monferrato, Italy. *Environ Health Perspect* 2001;109:915-9.

7. Horton K, Kapil V, Larson T, Muravov O, Melnikova N, Anderson B. A review of the federal government's health activities in response to asbestos-contaminated ore found in Libby, Montana. *Inhal Toxicol* 2006;18(12):925-40.
8. Cernigliaro A, Fano V, Pollina Addario S, Caruso S, Pennisi P, Forastiere F, Perucci CA, Comba P, Scondotto S. Mortalità e ricoveri ospedalieri nella popolazione di Biancavilla (CT) con esposizione cronica a fibre naturali. *Epid Prev* 2006;30:227-31.
9. ATS. Diagnosis and initial management of non-malignant diseases related to asbestos. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170(6):691-715.
10. O'Reilly KMA, McLaughlin AM, Beckett WS, Sime PJ. Asbestos-related lung disease. *Am Fam Physician* 2007;75:683-8.
11. Harbut MR. Treatment of non-malignant-asbestos-related diseases. *Am J Ind Med* 2007;50:71-2.
12. Hillerdal G. Radiological criteria: pleural changes. In: Tossavainen A, Huuskonen MS, Rantanen J (Eds). *Proceedings of an international expert meeting on asbestos, asbestosis and cancer*. Helsinki: Finnish Institute of Occupational Health; 1997. (People and Work Research Reports 14). p. 41-5.
13. Finkelstein MM. Radiographic asbestosis is not a prerequisite for asbestos-associated lung cancer in Ontario asbestos-cement workers. *Am J Ind Med* 1997;32:341-8.
14. ILO. *International classification of radiographs of pneumoconioses*. Geneva, Switzerland: International Labour Organization; 2003.
15. Kipen HM, Lilis R, Suzuki Y, Valciukas JA, Selikoff IJ. Pulmonary fibrosis in asbestos insulation workers with lung cancer: a radiological and histopathological evaluation. *Br J Ind Med* 1987;44:96-100.
16. Goodman M, Morgan RW, Ray R, Malloy CD, Zhao K. Cancer in asbestos-exposed occupational cohorts: a meta-analysis. *Cancer Causes Control* 1999;10:453-65.
17. Zucali PA, Giaccone G. Biology and management of malignant pleural mesothelioma. *Eur J Cancer* 2006;42:2706-14. Review.
18. US Department of Health and Human Services – Agency for Toxic Substances and Disease Registry – Atlanta, Georgia. Final Report of the Northeast Minneapolis Community Vermiculite Investigation (NMCVI) and Worker/Household Study: Cohort Identification and Characterization. November 2005 Minnesota Department of Health In Cooperative Agreement with Agency for Toxic Substances and Disease Registry U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service. Disponibile all'indirizzo: <http://www.health.state.mn.us/divs/eh/hazardous/sites/hennepin/western/nmevicohort.txt.pdf>; ultima consultazione 17/08/07.
19. Biggeri A, Pasetto R, Belli S *et al.* Mortality from chronic obstructive pulmonary disease and pleural mesothelioma in an area contaminated by natural fiber (fluoro-edenite). *Scand J Work Environ Health* 2004;30(3):249-52.
20. Bernardini P, Schettino B, Sperduto B, Giannandrea F, Burragato F, Castellino N. Tre casi di mesotelioma pleurico ed inquinamento ambientale da rocce affioranti di tremolite in Lucania. *G Ital Med Lav Ergon* 2003;25(3):408-11.
21. Pasetto R, Bruni B, Bruno C, Cauzillo G, Cavone D, Convertini L, De Mei B, Marconi A, Montagano G, Musti M, Paoletti L, Comba P. Mesotelioma pleurico ed esposizione ambientale a fibre minerali: il caso di un'area rurale in Basilicata. *Ann Ist Super Sanità* 2004;40:251-65.
22. Musti M, Bruno C, Cassano F, Caputo A, Cauzillo G, Cavone D, Convertini L, De Blasio A, De Mei B, Marra M, Montagano G, Schettino B, Zona A, Comba P. Consensus Conference Sorveglianza sanitaria delle popolazioni esposte a fibre di tremolite nel territorio della ASL 3 - Lagonegro (PZ). *Ann Ist Super Sanità* 2006;42(4):469-76.
23. Magnani C, Agudo A, González CA, Andrion A, Calleja A, Chellini E, Dalmaso P, Escolar A, Hernandez S, Ivaldi C, Mirabelli D, Ramirez J, Turuguet D, Usel M, Terracini B. Multicentric study

- on malignant pleural mesothelioma and non-occupational exposure to asbestos. *Br J Cancer* 2000;83:104-11.
24. Marinaccio A, et al. *Il Registro Nazionale dei Mesoteliomi: secondo rapporto*. Roma: ISPESL; 2006. Disponibile all'indirizzo: http://www.ispesl.it/renam/download/Pagine_1_340_secondo_rapp_interno.pdf; ultima consultazione 23/08/07.
 25. Luo S, Liu X, Mu S, Tsai SP, Wen CP. Asbestos related diseases from environmental exposure to crocidolite in Da-yao, China. I. Review of exposure and epidemiological data. *Occup Environ Med* 2003; 60: 35-42.
 26. Hiraoka T, Ohkura M, Morinaga K, Kohyama N, Shimazu K, Ando M. Antophyllite exposure and endemic pleural plaques in Kunamoto, Japan. *Scand J Work Environ Health* 1998;24(5):392-7.
 27. Boutin G, Viallat JR, Steinbauer J, Dufour G, Gaudichet A. Bilateral pleural plaques in Corsica: a marker of non-occupational asbestos exposure. *IARC Sci Publ* 1989;(90):406-10.
 28. U.S. Preventive Services Task Force. Lung cancer screening: recommendation statement. *Ann Intern Med* 2004;140:738-9.
 29. Humphrey LL, Teutsch S, Johnson M. Lung cancer screening with sputum cytologic examination, chest radiography, and computed tomography: an update for the US Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2004;140:740-53.
 30. Terracini B. Aree oggetto di bonifica: inquadramento teorico e metodologico. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/01). p. 53-67.
 31. Martuzzi M, Mitis F. Metodi e strumenti per studi epidemiologici di mortalità su base geografica in Italia. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/01). p. 68-74.
 32. Fano V, Forastiere F, Perucci CA. Utilizzo dei dati delle schede di dimissione ospedaliera per le analisi geografiche in epidemiologia ambientale. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/01). p. 104-10.
 33. Terracini B. Registri tumori in Italia e loro pertinenza alle aree ad alto rischio ambientale. In: Cori L, Cocchi M, Comba P (Ed.). *Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/01). p. 111-4.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

IL RUOLO DELL'EPIDEMIOLOGIA NELLA VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DI SALUTE NEI SITI INQUINATI

Benedetto Terracini
Università di Torino

Premessa

Il titolo che mi è stato assegnato mi sta stretto. In primo luogo, per una questione generazionale, i lettori di questo rapporto ISTISAN hanno una percezione della missione dell'epidemiologia ambientale ben più articolata della mia. Inoltre, in un paese come il nostro ad alto sviluppo metodologico, oltre che sul ruolo dell'epidemiologia penso che si debba riflettere sul modo come essa si cala nel contesto della popolazione che risiede in quelle aree che vengono considerate – sulla base di indizi più o meno convincenti – “a rischio ambientale”.

In questo contributo, in primo luogo, richiamo alcuni standard della ricerca epidemiologica riguardante i residenti in siti inquinati. Successivamente, introduco alcuni argomenti meta-epidemiologici: la condivisione di un modo di lavorare con gli utenti della ricerca epidemiologica, la *peer review*, la ricerca qualitativa, l'importanza dei fattori di rischio diversi dall'inquinamento e quella di *outcome* diversi da quelli considerati dalle statistiche correnti, gli studi sui biomarcatori.

Gli standard della ricerca epidemiologica nei siti inquinati

Mi capita quasi tutti i giorni di leggere descrizioni di analisi epidemiologiche in aree inquinate. Spesso si tratta di studi ecologici: le analisi spremono intelligentemente le statistiche correnti (mortalità, ricoveri ospedalieri, ricoverati, registri di patologia) per ricavarne valutazioni complessive sullo stato di salute delle popolazioni. Altre volte si tratta di analisi in cui l'ubicazione della residenza individuale viene posta a confronto con indicatori di rischio ambientale.

Le une e le altre analisi esitano nella stima di tassi, o – più comunemente – di rapporti standardizzati di mortalità o incidenza (SMR e SIR rispettivamente). Gli indicatori di esposizione sono scelti con rigore: la gamma è ampia (dalla distanza geometrica tra residenza e presunta sorgente di inquinamento, all'uso, se disponibili, delle statistiche ambientali correnti, anche integrate da sofisticati modelli di ricaduta, anche ampiamente validati) e la scelta – non sempre soddisfacente – riflette quanto viene consentito dalle circostanze. Talora la capacità di risoluzione dello studio viene aumentata dal ricorso ad informazioni ricavate dai sistemi informativi geografici (GIS nel gergo degli addetti ai lavori). Per calcolare rischi relativi il meno possibile distorti, la scelta del gruppo di riferimento viene fatta oculatamente. Spesso, vengono presentate due o più serie di rischi relativi, SMR o SIR utilizzando più di un gruppo di riferimento (nessuno è ideale, ma è raro, purtroppo, che gli autori forniscano una guida al lettore

sull'adeguatezza di quelli che sono forzati ad utilizzare). Il calcolo degli indicatori di associazione viene spesso effettuato in serie, su tutti i residenti, sui residenti per un minimo determinato periodo, sui nati nell'area ecc. Sostanzialmente test vengono utilizzati nell'analisi della distribuzione spaziale dei casi di malattia. Insomma, a fronte dei dati che di volta in volta sono reperibili, l'esaustività metodologica è massima e lo è anche la trasparenza dell'approccio statistico, compresa l'esplicitazione dei motivi della scelta dell'ampiezza degli intervalli di confidenza e l'integrazione delle stime con risultati di una serie di test di sensibilità.

Questo modo di procedere indica, oltre che competenza, soddisfacenti livelli culturali e sensibilità etica di chi conduce tali studi. All'epidemiologo alle prime armi che deve approfondire un problema locale non mancano sicuramente né riferimenti metodologici né modelli di ricerche ecologiche da mutuare. È stato affermato che vi sono "studi ... ecologici che non forniscono mai la verità, perché metodologicamente, non hanno il potere statistico di rilevare l'effetto, ma costituiscono materiale più che sufficiente ad alimentare una falsa percezione, una percezione "magica", la quale non ha nulla a che vedere con la scienza" (1). Giudico questa affermazione totalizzante e fuorviante: studi ecologici come quelli coordinati in Italia dall'Ufficio di Roma dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (2) o quelli condotti in aree ad alto rischio in Sardegna (3) e in Sicilia (4) si sono rivelati assai utili per ottenere una prima indicazione di rischi attribuibili alla residenza in una zona inquinata, sia pure limitatamente alle malattie, gravi o comunque serie, considerate dalle statistiche correnti disponibili.

La condivisione di un modo di lavorare

Aspetti metodologici e correttezza professionale sono essenziali nelle analisi delle statistiche correnti di cui stiamo parlando, ma va tenuto presente che questi studi vengono svolti per condividerne le interpretazioni, oltre che con la comunità scientifica, con due interlocutori da privilegiare, fruitori e utilizzatori dei risultati. Essi sono l'autorità politica che deve decidere un'eventuale bonifica ambientale (o un eventuale intervento sanitario) e i residenti nella zona investigata. In questa condivisione (concetto che mi sembra meno burocratico del più comune termine "comunicazione del rischio"), chi ha condotto lo studio ha alcune responsabilità, aggiuntive rispetto a quelle della correttezza professionale.

Per spiegarmi meglio, faccio ricorso al classico rettangolo di Giulio Maccacaro che schematizza il processo scientifico (5). Il primo lato del rettangolo riguarda la formulazione di ipotesi. Negli studi svolti in aree ritenute inquinate, talora, a mio avviso, non si distingue sufficientemente tra quella parte di indagine che consiste in un assetto (e opportuno) monitoraggio delle condizioni di salute dei residenti e quella altra parte che fa riferimento a pregresse conoscenze tossicologiche ed epidemiologiche che permettono a priori di ipotizzare i prevedibili effetti dell'inquinamento. I due lati successivi riguardano la raccolta dei dati e le decisioni che prende il ricercatore: nel rapporto finale, chi ha condotto lo studio deve assicurarsi che gli interlocutori siano posti in condizioni di valutare autonomamente alcuni aspetti intrinseci allo studio, quali la sua potenza statistica e l'inevitabile arbitrarietà con cui il ricercatore decide sui limiti di confidenza statistica.

Ma mi preoccupa particolarmente il quarto lato del rettangolo: quello dell'integrazione dei risultati dello specifico studio con le cognizioni precedenti, più accessibili agli epidemiologi che ai loro interlocutori. In proposito, soprattutto in Italia, non è finora stata affrontata la problematica di come procedere per trasmettere ai non addetti ai lavori, in modo adeguato l'importanza della distinzione tra associazioni coerenti con una ipotesi a priori (quella espressa

nel primo lato del rettangolo di Maccacaro) e associazioni di riscontro casuale, come sono comuni in studi che comportano un grande numero di confronti tra osservati e attesi.

Nell'ambito del primo concetto, a sua volta, è bene considerare separatamente a. il contributo che l'indagine descrittiva dà al riconoscimento di proprietà nocive del/i contaminante/i indagato e b. la credibilità dell'affermazione che nello specifico episodio nella specifica area a rischio vi sono stati casi di malattia attribuibili allo specifico agente.

Naturalmente, le cose non sempre sono semplici. La consistenza dell'ipotesi a priori può essere compresa in un ambito di concetti, ad un estremo dal quale sta poco più di una semplice congettura (il termine comunemente usato in inglese è *hint*, per il quale il mio *Oxford Dictionary* fornisce a sua volta uno spettro di definizioni comprese tra *very small trace* e *suggestion*) e all'altro estremo sta un riferimento ad associazioni molto forti e specifiche (l'esempio più adeguato rimane quello dell'associazione tra circostanze di esposizione ad amianto ed eccessi di mortalità per tumore maligno della pleura). Nel mezzo stanno più o meno convincenti segnalazioni di associazioni per le quali tuttavia non è possibile escludere un ruolo del caso, di distorsioni o di confondimento.

Tutto questo non significa che a priori si debba decidere che in quella determinata area non possano esserci stati fenomeni di intossicazione collettiva che non siano già stati descritti nella letteratura. Significa – coerentemente con i postulati di Bradford Hill – che associazioni concordanti con cognizioni note avranno meno probabilità di essere dovute al caso di osservazioni nuove. Significa anche che le associazioni ipotizzabili a priori possono essere oggetto di analisi più articolate e sofisticate (sempre nel rispetto del principio che misure di bonifica ambientale, ove opportune, non debbono aspettare una verifica epidemiologica dell'occorrenza di malattia).

Data la sua formazione, chi ha condotto lo studio epidemiologico, nel suo rapporto, può (e deve) esprimersi con professionalità in merito tanto al livello con cui le nozioni precedenti al suo studio depongono in modo convincente per la nocività degli specifici inquinanti, quanto al livello con cui i risultati del suo studio rafforzano o indeboliscono il complessivo ragionamento inferenziale. Realisticamente, il termine “livello” in questo contesto va inteso come una scala ordinale del tipo di quella utilizzata nelle monografie per la valutazione degli indizi di cancerogenicità da parte dell'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro e descritta nel preambolo alle monografie¹. Proprio sulla scorta della quasi quarantennale esperienza della IARC, ai fini di una onesta condivisione delle evidenze scientifiche, sarebbe desiderabile lo sviluppo di un glossario standard in cui si riconoscano tanto gli addetti quanto i non addetti ai lavori.

Di fronte ad associazioni “positive” emergenti da uno studio, ma per le quali non sia possibile escludere *bias* o confondimento, ritengo insufficiente segnalare al lettore del rapporto osservazioni nello stesso senso riscontrabili nella letteratura scientifica, senza integrare questa informazione con qualche considerazione sul possibile *publication bias* (che penalizza gli studi esitanti in mancanza di associazione).

Infine, se il conduttore dello studio e redattore del rapporto sullo studio ecologico ritiene che in loco “sia successo qualcosa”, a mio avviso egli dovrebbe sbilanciarsi ed esprimere una prima stima del rischio attribuibile all'inquinamento specifico nella situazione specifica, ovviamente condividendo con il lettore del rapporto tutte le incertezze del caso (che non consistono soltanto nei pure importanti errori statistici).

¹ <http://monographs.iarc.fr/ENG/Preamble/CurrentPreamble.pdf>

La peer review

Un altro aspetto rilevante nella condivisione di uno studio epidemiologico tra addetti e non addetti ai lavori è quella della revisione della descrizione dello studio e del ragionamento inferenziale di chi lo ha condotto da parte dei suoi pari (*peer review*). Il contesto ovviamente è diverso da quello – assai più noto e dibattuto – editoriale: lo scopo non è quello di aiutare l'editore di una rivista a decidere se un testo sia o meno pubblicabile quanto quello di consentire ai destinatari del rapporto che descrive uno studio epidemiologico di percepire la misura in cui il modo di agire e di ragionare di chi ha svolto la ricerca è condiviso dal milieu dei ricercatori e degli operatori di sanità pubblica.

Il codice etico dell'Associazione Internazionale di Epidemiologia ambientale afferma che qualsiasi ricerca su soggetti umani deve essere sottoposta ad un processo adeguato di revisione, sia per il suo disegno scientifico, sia per la sua adeguatezza etica. La revisione deve essere condotta nell'ambito di autorevoli regole che stabiliscono la composizione dei revisori e i principi della revisione. Particolare attenzione è necessaria in circostanze in cui non è richiesto un consenso informato¹.

A mia conoscenza, finora non vi sono state in Italia esperienze di applicazione della *peer review* a ricerche epidemiologiche sulla salute dei residenti in siti inquinati. Neppure mi risulta che nel nostro paese siano stati proposti criteri per una *peer review* preliminare alla disseminazione dell'informazione scientifica, contrariamente a quanto avviene da parte delle agenzie governative degli Stati Uniti². D'altra parte, l'esigenza di avallare la qualità della ricerca epidemiologica condotta da operatori "locali" è stata espressa ancora recentemente dal Gruppo di Epidemiologia Ambientale (GEA) dell'Associazione Italiana di Epidemiologia (6).

Ovviamente, ove ci si muovesse in questo senso, le regole del gioco dovrebbero essere diverse da quelle della prassi editoriale. Da una parte i *peer reviewers* non solo dovrebbero essere noti ai conduttori di uno studio epidemiologico, ma dovrebbero esservi opportunità per un incontro e scambio di opinioni. Dall'altra, i pari, così come i conduttori dello studio, debbono essere vincolati a precise regole per quanto riguarda la segnalazione di loro conflitti di interesse, reali, apparenti e possibili (7).

Personalmente sono favorevole a qualche forma di introduzione della *peer review* nell'epidemiologia ambientale nelle aree a rischio. Agli occhi della popolazione e dei responsabili della politica sanitaria, in caso di giudizio favorevole da parte dei pari, il procedimento rafforza di alcuni ordini di grandezza i livelli di valutazione dell'opportunità di un intervento di bonifica. In caso di riserve, da parte dei pari, sulla validità dello studio, o di esplicito dissenso, una gestione adeguata può creare le premesse per un trasparente confronto pubblico.

Non solo quantificazione

La misura della frequenza di malattie e la ricerca analitica che spesso ad essa consegue (distribuzione dell'esposizione tra i residenti, studi di coorte di popolazione e/o di lavoratori, studi caso-controllo) sono tappe fondamentali, *sine qua non* per valutare il possibile rapporto tra ambiente e salute in una determinata area e dell'impatto dell'inquinamento

Ma per una visione integrata del contesto in cui si è svolto un singolo episodio, che si vorrebbe documentare in tutti i suoi risvolti, vi sono anche valenze di altro genere, come

¹ <http://www.iseepi.org/about/ethics.html>

² http://en.wikipedia.org/wiki/U:S:_Government_peer_review_policies

l'istinto di volere capire in quale modo si è arrivati all'identificazione dell'esistenza di un problema, la percezione del rischio, il ruolo giocato dai diversi personaggi: servizi sanitari e servizi per l'ambiente, opinione pubblica, sindacato, altri *stakeholder*, il meccanismo di formazione di movimenti di *advocacy*, l'uso che viene fatto dei risultati, ecc. Sono argomenti, questi, propri della ricerca qualitativa, cioè dello studio "della natura delle esperienze umane e di ciò che esse significano per gli individui". La ricerca qualitativa, infatti, intende rispondere alle domande "cosa", "come", e "perché" (piuttosto che "quanto") e proiettare le risposte nel contesto della vita di tutti i giorni e dei valori di ogni individuo (8). Gli strumenti della ricerca qualitativa sono le interviste strutturate, i *focus group*, l'esegesi dei documenti, la narrazione. In epidemiologia ambientale, l'uso di metodi qualitativi non è una novità (9). La gamma di applicazione va dall'analisi della percezione dei rischi allo studio dei meccanismi del processo decisionale sulla base delle conoscenze scientifiche, dall'identificazione delle responsabilità dell'inquinamento al ruolo dei *media*. Sono anche disponibili strumenti per valutare la qualità della ricerca qualitativa (8). Nel non infrequente caso della percezione, da parte dei residenti, di un problema di salute che alla lunga si rivela essere difficilmente documentabile con gli strumenti epidemiologici convenzionali, la comprensione tra tecnici della salute e popolazione è facilitata da questo tipo di indagine, piuttosto che dai dati numerici. È esemplare in proposito la storia della discarica industriale di Love Canal vicino a Niagara Falls (10).

È un settore di ricerca che si avvicina a quello che è stato chiamato "epistemologia della testimonianza"; si tratta di capire se si possono acquisire conoscenze grazie a quanto ci viene comunicato in forme di rapporto comunicativo diverse da quello tradizionale della prassi scientifica. (11).

Al prevedibile (e comprensibile) commento che questo tipo di indagine non è pertinente al mestiere dell'epidemiologo, vorrei rispondere che non si sta proponendo una conversione di ruoli, ma semplicemente, di volta in volta, di avviare in modo integrato di studi di vario genere, come peraltro è stato raccomandato di fare in epidemiologia occupazionale (12).

Non solo inquinanti

Nella stragrande maggioranza dei casi, l'inquinamento che caratterizza i siti inquinati è di origine industriale, e l'ubicazione dei siti industriali inquinanti – avvenuta generalmente decenni or sono – non è sicuramente dipesa dal capriccio della sorte. Ogni popolazione che vive in un sito inquinato ha avuto una sua storia: il processo di industrializzazione modifica i rapporti sociali, sia per il trauma dell'abbandono di sorgenti di sostentamento come potevano essere l'agricoltura o la pesca, sia per il cambiamento demografico dovuto all'immigrazione massiccia di tecnici provenienti da aree tecnologicamente più evolute. Ne derivano, sul piano della metodologia epidemiologica - ghiotti problemi di scelta delle popolazioni di riferimento. Ma a mio avviso i problemi di metodo sono marginali rispetto alla necessità di capire quali sono le caratteristiche sociali degli esposti, quali altri fattori contribuiscono a fare ammalare (o a fare stare bene) i residenti nei siti inquinati, in quale modo l'evoluzione che c'è stata ha modificato lo stile di vita introducendo nuovi fattori di rischio per la salute (o di protezione). Non si dice nulla di nuovo: ancora molto recentemente è stata ribadita l'idea che l'epidemiologia potrà progredire soltanto se riesce a comprendere il modo con cui l'assetto storico, economico e politico in cui vivono le popolazioni influenza la loro salute (13).

Non solo malattie gravi

Le statistiche correnti utilizzate comunemente riguardano malattie di una certa gravità. A onor del vero, esprimono anche i flussi informativi che sono stati maggiormente oggetto di validazione. Chiaramente, il quadro che esse danno dello stato di salute di una popolazione è parziale. Ritengo che si possa pensare di colmare questa lacuna e di ottenere dati sulla distribuzione di forme di perdita di salute meno gravi (e di valutarne il rapporto con circostanze di inquinamento) secondo tre filoni. Un filone è l'utilizzo delle statistiche riguardanti i consumi di farmaci, almeno all'interno del Servizio Sanitario Nazionale: in molte regioni italiane queste statistiche sono altamente affidabili. Un secondo filone riguarda gli accessi al pronto soccorso degli ospedali. Infine, ritengo che nei siti inquinati si debbano saggiare forme di collaborazione sistematica con i medici di base per la creazione (e validazione) di sistemi informativi in loco, preferibilmente disegnati sulla base di ipotesi specifiche di rapporto tra inquinamento e perdita di salute.

Biomarcatori perché?

Gli studi sui biomarcatori possono avere un ruolo importante nella stima dell'impatto di salute nei siti inquinati. Dei tre tipi fondamentali di biomarcatori, di esposizione, di suscettibilità individuale e di effetti precoci, sono i primi quelli che meritano maggiore attenzione nei contesti locali. Soprattutto per quanto riguarda l'effetto cancerogeno, ma anche per la maggior parte di altri effetti, la suscettibilità individuale ai contaminanti ambientali è tuttora oggetto di ricerca, alla quale l'approfondimento di un emergente problema di inquinamento locale può al massimo dare un contributo marginale. Gli indicatori di effetti precoci (ad esempio, un eccesso di micronuclei o di alterazioni cromosomiche nelle cellule del sangue), in un contesto di popolazione, possono avere un valore predittivo di eventi futuri, ma l'analisi della loro associazione con l'esposizione ad inquinanti ambientali richiede un livello di controllo dei fattori di confondimento raramente raggiungibile. È poi tutto da approfondire il modo con cui affrontare i problemi etici e introdurre eventuali osservazioni su effetti precoci nel processo di comunicazione tra tecnici e popolazione.

Diverso è il discorso sui biomarcatori di esposizione. Ma anche qui sono necessari dei *distinguo*, in funzione della domanda alla quale si vuole rispondere. Un conto sono gli studi intesi a ottenere la misura e la distribuzione della esposizione di una popolazione a un contaminante ambientale (come quello, ad esempio, effettuato a Brescia sui PCB emessi nell'ambiente generale da parte della Caffaro) (14). Un altro conto sono invece studi in cui si vuole misurare il rischio di malattia in funzione della esposizione, e gli indicatori vengono utilizzati a livello individuale per contenere la misclassificazione della esposizione (ad esempio, negli studi sul rapporto tra esposizione a ftalati e pubertà precoce (15)). Il disegno dello studio e la stima della sua potenza statistica sono completamente diversi nell'uno e nell'altro caso.

Nella specifica situazione italiana, un problema delle ricerche epidemiologiche basate su biomarcatori di esposizione è il limitato numero di laboratori in grado di effettuare con un adeguato controllo di qualità le determinazioni su matrice biologica nel numero che è necessario, e il loro costo.

Qualche conclusione

Penso che il messaggio principale da fare arrivare agli epidemiologi che si occupano o intendono occuparsi della salute delle popolazioni residenti in siti inquinati sia che esiste un protocollo standard, ma limitatamente alle prime fasi: l'utilizzo delle statistiche correnti per avere una prima nozione sulla dimensione del problema. Questa fase – e soltanto questa fase – può essere effettuata “a tavolino”, senza contatti con la popolazione e gli operatori locali. La ricchezza di conoscenze che l'episodio può portare dipende da quello che viene dopo, e dalla capacità degli operatori epidemiologi di calarsi nelle complessità dei rapporti sociali della popolazione colpita.

Bibliografia

1. Senato della Repubblica: 578° Seduta Pubblica. Resoconto Sommario e stenografico. Seduta 1 aprile 2004. Disponibile all'indirizzo: <http://www.senato.it/japp/bgt/showdoc/frame.jsp?tipodoc=Resaula&leg=14&id=100120>; ultima consultazione 22/10/07.
2. Martuzzi M, Mitis F, Buggeri A, Terracini B, Bertollini R. Gruppo Ambiente e Salute in Italia. Ambiente e stato di salute nella popolazione delle aree ad alto rischi di crisi ambientale in Italia. *Epidemiol Prev* 2002;26(suppl):1-56.
3. Biggeri A, Lagazio C, Catelan D, Pirastu R, Casson F, Terracini B. Ambiente e salute nelle aree a rischio della Sardegna. *Epidemiol Prev* 2006;30(suppl 1):1-94.
4. Fano V, Cernigliaro A, Scondotto S, Pollina Addario S, Caruso S, Mira A, Forestiere F, Perucci CA. *Stato di Salute della popolazione residente nelle aree ad elevato rischio ambientale e nei siti di interesse nazionale della Sicilia*. Regione Siciliana, Assessorato Sanità, Dipartimento Osservatorio Epidemiologico Numero Monografico del Notiziario O.E. luglio 2005: 1-118.
5. Maccacaro G.A. Introduzione a AAVV *Biometria e metodi per studenti e ricercatori biologi* a cura di Salvi F e Chiandotto B Padova: Piccin; 1978. pp xix-xxviii.
6. Documento conclusivo del Secondo Seminario Nazionale “Integrazione Ambiente e Salute”, Portonovo di Ancona 10 giugno 2005. *Epidemiol Prev* 2005;29:141-3.
7. Charlton BG. Conflicts of interest in medical science: peer usage, peer review and “CoI consultancy”. *Med Hypotheses* 2004;63:181-6.
8. Draper AK The principles and application of qualitative research. *Proc Nutr Soc* 2004;63:641-6.
9. Brown P. Qualitative methods in environmental health research. *Environ Health Perspect* 2003;111:1789-98.
10. Brown P, Clapp R. Looking back on Love Canal. *Public Health Rep* 2002;117:95-8.
11. Niela Vassallo recensione a *The epistemology of testimony*, a cura di Jennifer Lackey e Ernest Sosa Clarendon Press Oxford 2007, *Il Sol 24ore* 5 agosto 2007.
12. Mergler D. Combining quantitative and qualitative approaches in occupational health for a better understanding of the impact of work-related disorders. *Scand J Work Environ Health* 1999;25(suppl4):54-60.
13. Pearce N. Commentary; The rise of corporate epidemiology and the narrowing of epidemiology's vision. *Int J Epidemiol* 2007;36(4):713-7.
14. Donato F, Magoni M, Bergonzi R, Scarcella C, Indelicato A, Carasi S, Apostoli P. Exposure to polychlorinated biphenyls in residents near a chemical factory in Italy: the food chain as main source of contamination. *Chemosphere* 2006;64:1562-72.
15. Colon I, Caro D, Bourdony CJ, Rosario O Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environ Health Perspect* 2000; 108:895-900.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Litografia Chicca di Fausto Chicca
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, dicembre 2007 (n. 4) 12° Suppl.