



Sistema Nazionale
per la Protezione
dell'Ambiente

ELEMENTI METODOLOGICI PER UNA VALUTAZIONE DEL RISCHIO ASSOCIATO ALL'ESPOSIZIONE A CONTAMINANTI MULTIPLI, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO ALLA POPOLAZIONE RESIDENTE IN AREE DI PARTICOLARE RILEVANZA AMBIENTALE

Delibera del Consiglio SNPA. Seduta del 09.05.2019. Doc.n.55/19



ELEMENTI METODOLOGICI PER UNA
VALUTAZIONE DEL RISCHIO ASSOCIATO
ALL'ESPOSIZIONE A CONTAMINANTI MULTIPLI,
CON PARTICOLARE RIFERIMENTO
ALLA POPOLAZIONE RESIDENTE IN AREE
DI PARTICOLARE RILEVANZA AMBIENTALE

Delibera del Consiglio SNPA. Seduta del 09.05.2019. Doc.n.55/19

Il Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (SNPA) è operativo dal 14 gennaio 2017, data di entrata in vigore della Legge 28 giugno 2016, n.132 "Istituzione del Sistema nazionale a rete per la protezione dell'ambiente e disciplina dell'Istituto superiore per la protezione e la ricerca ambientale".

Esso costituisce un vero e proprio Sistema a rete che fonde in una nuova identità quelle che erano le singole componenti del preesistente Sistema delle Agenzie Ambientali, che coinvolgeva le 21 Agenzie Regionali (ARPA) e Provinciali (APPA), oltre a ISPRA.

La legge attribuisce al nuovo soggetto compiti fondamentali quali attività ispettive nell'ambito delle funzioni di controllo ambientale, monitoraggio dello stato dell'ambiente, controllo delle fonti e dei fattori di inquinamento, attività di ricerca finalizzata a sostegno delle proprie funzioni, supporto tecnico-scientifico alle attività degli enti statali, regionali e locali che hanno compiti di amministrazione attiva in campo ambientale, raccolta, organizzazione e diffusione dei dati ambientali che, unitamente alle informazioni statistiche derivanti dalle predette attività, costituiranno riferimento tecnico ufficiale da utilizzare ai fini delle attività di competenza della pubblica amministrazione.

Attraverso il Consiglio del SNPA, il Sistema esprime il proprio parere vincolante sui provvedimenti del Governo di natura tecnica in materia ambientale e segnala al MiTE e alla Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le regioni e le province autonome di Trento e Bolzano l'opportunità di interventi, anche legislativi, ai fini del perseguimento degli obiettivi istituzionali. Tale attività si esplica anche attraverso la produzione di documenti, prevalentemente Linee Guida o Report, pubblicati sul sito del Sistema SNPA e le persone che agiscono per suo conto non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in queste pubblicazioni.

Citare questo documento come segue:

L. Sinisi/F. De Maio

"Elementi metodologici per una valutazione del rischio associato all'esposizione a contaminanti multipli, con particolare riferimento alla popolazione residente in aree

di particolare rilevanza ambientale. Delibera del Consiglio SNPA. Seduta del 09.05.2019. Doc.n.55/19".

ISBN 978-88-448-1044-3

© Report SNPA, 18/2021

Riproduzione autorizzata citando la fonte.

Coordinamento della pubblicazione online:

Daria Mazzella – ISPRA

Copertina: Sonia Poponessi - Ufficio Grafica ISPRA

Aprile 2021

Abstract

Il report descrive la sintesi dei principali criteri metodologici utilizzati per la valutazione del rischio associato all'esposizione a contaminanti multipli o esposizione cumulativa. L'obiettivo del documento è quello di esaminare la consistenza tecnico-scientifica delle metodologie disponibili per la valutazione del rischio associato all'esposizione a contaminanti multipli, gli aspetti quantitativi della reale esposizione e, soprattutto, la concreta applicabilità di tali procedure nella realtà operativa. Tale esigenza conoscitiva preliminare, nasce sia dalla consapevolezza che tali attività necessitano di un continuo aggiornamento tecnico-scientifico che di metodologie sperimentate, ma anche dalla necessità di accogliere la richiesta, proveniente dal territorio di una maggiore conoscenza e informazione sulla relazione tra fattori di esposizione ambientali e potenziali rischi per la salute, soprattutto nelle aree di particolare rilevanza ambientale che possono richiedere valutazioni specifiche.

Parole chiave: esposizione cumulativa, contaminanti multipli, valutazione del rischio

Abstract

The report describes the main criterias regarding the method used for assessing the risk associated to the exposure to different contaminations or cumulative exposure. The aim of the document is to analyze the

technic and scientific consistence of the available methodologies for the risk assessment associated to the exposure to multiple contaminants, the quantitative aspects of the actual exposure and, especially, the possible pragmatic application of the overmentioned procedures. In particular, the necessity of having a preconsistent knowledge, is caused by both the understanding that such activities require constantly upgraded experimented methodologies and from the

need to accept the request, coming from the territory, of a deeper knowledge regarding the relationship between environmental exposure factors and potential health risks, especially in those areas recognized as of particular environmental interests that may require specific evaluations.

Keywords: cumulative exposure, multiple contaminants, risk assessment

INDICE

INTRODUZIONE.....	7
1. GLI ASPETTI METODOLOGICI DEL RISCHIO CUMULATIVO.....	10
1.1 DEFINIZIONE DI RISCHIO.....	10
1.2 DEFINIZIONE DI RISCHIO CUMULATIVO.....	10
1.3 FASI DELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO CUMULATIVO	12
1.4 PROPOSTE METODOLOGICHE PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO CUMULATIVO	18
BIBLIOGRAFIA	22
2. ESPOSIZIONI AMBIENTALI ED ESITI DI SALUTE NELLE VALUTAZIONI DEL RISCHIO CUMULATIVO	24
2.1 IL CONTRIBUTO DELL'EPIDEMIOLOGIA ALLE VALUTAZIONI DEL RISCHIO CUMULATIVO	25
2.2 ALCUNI METODI QUANTITATIVI PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DA ESPOSIZIONE A PIÙ SOSTANZE CHIMICHE	36
2.2.1 Razionale.....	36
2.2.2 Metodologie	37
2.3 LE PROSPETTIVE FUTURE NEL RISK ASSESSMENT DI NUOVA GENERAZIONE: NEXTGEN RISK ASSESSMENT	38
ALLEGATO A – GLOSSARIO	48
ALLEGATO B – TUTORIAL PER L'UTILIZZO DEL TOOL RSL	51
1. CONSIDERAZIONI GENERALI PER LA COMPrensIONE DEL TOOL	52
1.1 Esposizione.....	53
1.2. Parametri Tossicologici.....	53
1.3 Parametri chimico-specifici.....	57
1.4 Gerarchia dei parametri	58
2. UTILIZZARE LE TABELLE SL	59
2.1 Sviluppare un modello concettuale del sito	59
2.2 Background.....	60
2.3 Potenziali problemi.....	60
2.4 Equazioni per il calcolo degli SL.....	60

A cura di Luciana Sinisi (ISPRA) e Francesca De Maio (ISPRA)

Autori:

Cap. 1 Simona Soldati (ARPA Piemonte)

Cap.2: Marco Baldini (ARPA Marche), Andrea Ranzi (ARPAE Emilia-Romagna), Luciana Sinisi (ISPRA); Annamaria Colacci (ARPAE Emilia-Romagna)

INTRODUZIONE

(a cura di Luciana Sinisi, ISPRA)

“Migliorare le basi scientifiche della politica ambientale” e il “proteggere i cittadini dell'Unione da pressioni e rischi d'ordine ambientale per la salute e il benessere” sono due dei nove obiettivi prioritari del Settimo Programma europeo d'azione per l'ambiente: “Vivere bene entro i limiti del nostro pianeta”.

Obiettivi più che condivisibili dall'intero Sistema Nazionale a rete per la Protezione dell'Ambiente (SNPA) istituito con il “fine di assicurare omogeneità ed efficacia all'esercizio dell'azione conoscitiva e di controllo pubblico della qualità dell'ambiente a supporto delle politiche di sostenibilità ambientale e di prevenzione sanitaria a tutela della salute pubblica” (art. 1- Legge 132/2016), ma soprattutto da chi, nello stesso Sistema agenziale, si è occupato del tema ambiente e salute per la maggior parte della sua esperienza professionale, confrontandosi, tra le altre, con le sfide tecniche e operative della prevenzione e della valutazione del rischio.

E' il caso di tutti gli Autori coinvolti nella stesura di questo documento che, in qualità di membri del Gruppo Salute e Ambiente SNPA, sono stati incaricati dal Consiglio Federale del Sistema Agenziale, ora Consiglio SNPA, di esplorare la letteratura tecnico-scientifica e le migliori pratiche per avviare una riflessione generale per una futura definizione, in collaborazione con gli esperti della Sanità, di criteri metodologici per la valutazione del rischio associato all'esposizione a contaminanti multipli o esposizione cumulativa per come inteso e declinato in questo testo secondo la definizione dei Comitati scientifici della Commissione UE (SCHER, SCENIHR, SCCS): “Esposizione cumulativa: secondo la terminologia EU, significa l'esposizione

ripetuta alla stessa singola sostanza chimica dalle stesse fonti o da fonti simili o differenti, attraverso la stessa o differenti vie di esposizione. In un senso più ampio, questo termine include l'esposizione combinata a più sostanze chimiche”.

Sul punto il gruppo di lavoro SNPA nelle considerazioni finali del rapporto SNPA Linee Guida VIIAS evidenziava, tra le criticità, che le procedure di valutazione del rischio venivano operate con quasi esclusivo riferimento all'esposizione per via inalatoria e per singole sostanze. Criticità condivisa dai ricercatori e in molti documenti istituzionali.

Di fatto la legislazione ambientale, e non solo quella europea, è principalmente basata su valutazioni operate su singole sostanze ma, nella realtà, l'uomo, così come le specie animali e vegetali, sono esposti ad un'ampia gamma di sostanze e miscele chimiche che con vari meccanismi (additività, sinergia, potenziamento, antagonismo, etc.) possono in qualche modo influenzare il livello complessivo di tossicità e, non in ultimo, gli organismi biologici possono entrare in contatto con queste miscele attraverso varie vie (inalazione, contatto, ingestione) e da varie fonti ambientali (acqua, suolo, aria, alimenti). Questa visione integrata dell'esposizione a miscele chimiche o ad esposizione simultanea della sostanza attraverso differenti vie era già stata evidenziata nella Strategia Europea Ambiente e Salute del 2003 e nel successivo Piano d'Azione Ambiente e Salute europeo 2004-2010, specie in riferimento all'informazione ambientale e alla questione del sincronismo dei dati di monitoraggio delle diverse matrici ambientali. Piano d'Azione che, per come convenuto a livello UE, vede nel 7° Programma d'azione ambientale europeo citato la sua naturale continuazione.

In questi anni sul tema della tossicità delle miscele chimiche e delle metodologie di valutazione dell'esposizione cumulata o combinata è rimasta

alta l'attenzione della Commissione e degli organismi scientifici e delle Agenzie UE, non per menzionare le altre attività a livello internazionale portate avanti dai Programmi interagenziali delle Nazioni Unite sulla sicurezza chimica. Molte sono le attività e gli ambiti di lavoro. Oltre al citato parere dei Comitati Scientifici della Commissione UE già citati (SCHER, SCENIHR, SCCS), vanno menzionate le attività dell'EFSA da anni impegnata per armonizzare le modalità con cui valutare i rischi per l'uomo e per l'ambiente da sostanze chimiche multiple nella catena alimentare (le "miscele chimiche" e i cosiddetti "effetti cocktail") e sui loro effetti genotossici (EFSA 2018, EFSA 2018b). Anche l'ECHA (*European Chemicals Agency*) ha sviluppato linee guida a supporto della valutazione del rischio cumulativo per l'ambiente nell'uso di biocidi (ECHA, 2014). A livello internazionale l'OMS vi ha dedicato attività di merito sia nel proprio ambito che collaborando ai Programmi interagenziali dedicati alla sicurezza chimica come l'*International Program on Chemical Safety* (IPCS) o l'*Inter-Organisation Programme for the Sound Management of Chemicals* (IOMC), istituito nel 1995 a seguito delle Raccomandazioni della Conferenza ONU su Ambiente e Sviluppo del 1992, a cui partecipano FAO, ILO, UNDP, UNEP, UNIDO, UNITAR, WHO, World Bank e OECD anche per promuovere e rafforzare la coerenza di policy e attività sulla sicurezza chimica. Proprio l'OECD, nell'ambito del Programma IOMC, in una sua recente pubblicazione fa il punto degli sforzi intrapresi negli ultimi anni a livello internazionale, e con la collaborazione degli esperti dei Paesi, di espandere le metodologie di valutazione delle sostanze chimiche. L'*overview* di approcci e metodologie nella valutazione dell'esposizione combinata a sostanze chimiche multiple declinata nel documento dell'OECD (OECD 2018) non ha come obiettivo lo sviluppo di linee guida in senso

classico, ma più un'analisi degli elementi che andrebbero esplorati nelle valutazioni dell'esposizione a sostanze chimiche multiple così come i potenziali multipli scenari valutativi dei differenti tipi di esposizione.

E' nella consapevolezza dell'evoluzione di tali scenari europei e internazionali su citati che si basa il mandato al gruppo di lavoro Salute e Ambiente SNPA, ovvero di esplorare la consistenza tecnico-scientifica di elementi metodologici disponibili per la valutazione del rischio associato all'esposizione a contaminanti multipli, ovvero nella forma più rappresentativa degli aspetti quantitativi della reale esposizione e, soprattutto, alla luce della concreta fattibilità dell'applicazione di tali procedure nella realtà operativa nel nostro Paese. Ma l'avvio di quest'attività SNPA di indagine conoscitiva preliminare nasce non solo dalla consapevolezza che le attività di valutazione del rischio necessitano di continua attenzione tecnico-scientifica alla luce di nuove evidenze e metodologie sperimentate, ma anche dall'esigenza di accogliere la richiesta sempre più pressante proveniente dal territorio di una maggiore conoscenza e informazione in merito al rapporto tra fattori di esposizione ambientali e potenziali rischi per la salute, specie nelle aree di particolare rilevanza ambientale che possono richiedere valutazioni più specifiche.

Considerato l'ampio panorama e i diversi scenari delle questioni tecniche che riguardano il rischio cumulativo, nel documento si è cercato di affrontare soprattutto le questioni più rilevanti d'interesse per le attività SNPA.

La concretezza degli obiettivi, tipica della tradizione dei Rapporti del Sistema Agenziale, ha ispirato e sollecitato l'individuazione di un tool operativo reso già disponibile dall'Agenzia per l'Ambiente statunitense, incluso un dettagliato tutorial in allegato al documento, il cui rationale è presentato nel Capitolo 1 del Rapporto che, oltre alla disamina

degli aspetti metodologici, offre un vasto panorama di approcci e definizioni del rischio cumulativo riportati e descritti sinteticamente nel testo. Il Capitolo 2 è ampiamente dedicato al contributo delle conoscenze e approcci dell'epidemiologia nelle attività di valutazione del rischio da affiancare alle valutazioni tossicologiche più tradizionali. L'integrazione di conoscenze ed approcci tossicologici ed epidemiologici è di fatto sollecitata dalla comunità degli esperti, specie negli ultimi anni, anche per i contesti di valutazione del rischio più tradizionali. Nel capitolo verranno brevemente esaminati i vantaggi e i limiti dell'epidemiologia in tali contesti valutativi. L'esplorazione di nuove frontiere operative, insita nel del mandato SNPA al Gruppo di Lavoro, è anche dedicata ad una sintesi di approcci innovativi che ci attendono nelle valutazioni del rischio alla luce di nuovi dati e attività avviati in maniera consistente dall'Agenzia per l'Ambiente statunitense (US EPA) da qualche anno: il *risk assessment* di nuova generazione (*NextGen Risk assessment* o *NextGen*) che pone e porrà, tra gli altri, anche il problema di efficientare la costruzione e la disponibilità di banche dati, oltre alla necessaria formazione professionale degli operatori.

Il modello di una valutazione che integri la reale esposizione ai fattori ambientali di rischio ci riporta ad un'altra sfida ancora aperta in tante realtà territoriali: quella dell'integrazione degli operatori e delle reti di Ambiente e Sanità e delle loro piattaforme informative e conoscitive.

È guardando a questo importante obiettivo che questo Rapporto si vuole porre, alla fine, come promotore dell'avvio di un processo condiviso con altri esperti della Sanità, per la definizione di percorsi metodologici che siano di concreto supporto e potenziamento ai processi decisionali di programmazione (inclusa la formazione degli operatori) e di gestione integrata delle attività che hanno impatto sull'ambiente e sulla salute.

Infine, la consistenza e complessità scientifica delle questioni sinteticamente affrontate nel documento richiama già di per sé la necessità non solo di approfondire gli aspetti più tecnici, ma anche di fornire elementi sul come costruire il trasferimento e lo scambio delle conoscenze scientifiche tra gli operatori dei diversi settori di Ambiente e Sanità, nei processi decisionali dei contesti operativi disciplinati dalle normative ambientali o di altre azioni istituzionali d'interesse comune e, non in ultimo, di come "attrezzarci" sotto il profilo di conoscenze e risorse per le sfide del futuro.

1. GLI ASPETTI METODOLOGICI DEL RISCHIO CUMULATIVO

A cura di Simona Soldati - Dipartimento tematico 'Epidemiologia e Salute Ambientale', (ARPA Piemonte)

1.1 DEFINIZIONE DI RISCHIO

Il rischio è un concetto utilizzato per dare un significato agli eventi, ai fatti e alle circostanze che costituiscono un potenziale pericolo per gli individui. Il rischio viene tipicamente definito come **la probabilità di andare incontro ad un effetto avverso in seguito all'esposizione ad un pericolo** e, in genere, include: l'identificazione di che cosa è "a rischio" e cosa può essere danneggiato o perso (ad esempio, la salute degli esseri umani o di un ecosistema, la qualità della vita, la capacità di svolgere un'attività); cosa può cagionare questa perdita; la valutazione della probabilità che si verifichi un danno (NCR, 1996).

Ci sono due differenti interpretazioni del termine 'Rischio' (Christensen et al., 2013):

1. Il Rischio esprime una combinazione della:
 - probabilità di una conseguenza/effetto a livello di un oggetto/i;
 - severità;
 - misura della conseguenza/effetto in determinate circostanze.
2. Il Rischio esprime:
 - la probabilità di una determinata conseguenza/effetto, di una certa severità e misura in specifiche circostanze.

EU, 2000. Rischio: è la probabilità e la severità di un effetto avverso/evento a cui può essere soggetto un individuo o l'ambiente, in seguito all'esposizione, in determinate condizioni, a una o più fonti di rischio.

UN/OECD, 1999. Rischio: è la probabilità di un effetto avverso causato da specifiche circostanze da parte di un agente verso un organismo, una popolazione o un ecosistema.

US-EPA, 1997. Rischio: è la probabilità di uno specifico effetto, generalmente avverso, dato da un particolare insieme di condizioni.

DS/INF 85, 1993. Rischio: esprime una combinazione della frequenza di effetti non voluti e la misura delle conseguenze.

DS/INF 85, 1993. Rischio individuale: il rischio al quale un individuo può andare incontro. Il rischio dipenderà, tra le altre cose, dalla distanza dalla fonte di rischio. Viene spesso calcolato come un rischio individuale medio per un individuo della sottopopolazione più esposta.

Seveso II-directive, 1996. Rischio: si intende la probabilità di un determinato effetto a cui si può andare incontro in un determinato periodo o in determinate circostanze.

ISO, 2001. Rischio. La combinazione della probabilità di un dato evento e delle sue conseguenze.

ISO, 1999. Rischio. La combinazione della probabilità di subire un danno e la severità di tale danno.

1.2 DEFINIZIONE DI RISCHIO CUMULATIVO

Il **Rischio cumulativo** è formalmente definito come la combinazione dei rischi derivanti dall'esposizione aggregata a più sostanze chimiche (**più sostanze, più vie**), dove per **esposizione aggregata** si intende l'esposizione derivante da tutte le possibili vie, modalità e fonti di esposizione ad una singola sostanza chimica. Con il termine **Rischio aggregato** si intende il rischio derivante dall'esposizione aggregata ad una singola sostanza chimica (**una singola sostanza, tutte le vie**).

Il **Cumulative Risk Assessment (CRA)** viene perciò definito come l'analisi, la caratterizzazione e, possibilmente, la quantificazione dei rischi combinati per la salute determinati da molteplici sostanze chimiche (US EPA, 2003).

Sulla base di queste definizioni è utile evidenziare che le valutazioni che coinvolgono una singola sostanza chimica, non possono essere considerate come un **Cumulative Risk Assessment (CRA)**, poiché il Rischio

cumulativo coinvolge più sostanze chimiche (US EPA, 2009; NCR, 2006).

Oppure, secondo un'altra definizione, il **Rischio cumulativo** è la probabilità di andare incontro ad effetti avversi per la salute che risulta da tutte le vie di esposizione a un gruppo di sostanze che mostrano un 'meccanismo d'azione comune' (US EPA, 2001).

L'esposizione alla stessa sostanza chimica da più fonti e da più vie e modalità di esposizione è meglio descritta come esposizione a 'singola sostanza per più vie' (esposizione aggregata). Viene raccomandato che l'esposizione a 'più sostanze chimiche per una singola via', sia distinta dall'esposizione a 'più sostanze chimiche per più vie' (esposizione cumulativa). Nel documento del WHO con il termine 'esposizione combinata a più sostanze chimiche' ci si riferisce all'esposizione a più sostanze per una singola via e all'esposizione a più sostanze per più vie (Meek, 2011).

Il Comitato scientifico sui rischi per la salute e per l'ambiente (SCHER), quello sui rischi emergenti per la salute (SCENIHR) e per la sicurezza dei consumatori (SCCS) della Commissione Europea nel parere comune espresso in tema riportano le seguenti definizioni (SCHER, 2012)¹:

Esposizione aggregata: include tutte le possibili vie, modalità e fonti di esposizione ad una data sostanza chimica

Esposizione combinata: include tutte le possibili vie, modalità e fonti di esposizione a più sostanze chimiche.

Esposizione cumulativa: secondo la terminologia EU, significa l'esposizione ripetuta alla stessa singola sostanza chimica dalle stesse fonti o da fonti simili o differenti, attraverso la stessa o differenti vie di esposizione. In un senso più ampio, questo termine include l'esposizione combinata a più sostanze chimiche. Nello stesso parere europeo, peraltro condiviso sia nei documenti dell'OMS che nel più recente rapporto dell'OECD del 2018 citato nell'introduzione, viene sottolineata la necessità di elaborare un "glossario" dei vari termini usati nel documento (riportato integralmente nell'Allegato A) basato sull'esperienza internazionale, in particolare di OMS, EFSA e US EPA, vista l'assenza di una terminologia armonizzata a livello internazionale di merito.

In questo glossario la definizione delle **miscele chimiche** comprende anche:

- Sostanze chimiche emesse collettivamente da siti produttivi, durante i processi di trasporto o nei processi di consumo o riciclo:
- Sostanze chimiche che possono essere presenti contemporaneamente nelle matrici ambientali (acqua, suolo, aria), alimenti, biota e esseri umani come risultato di emissioni da varie sorgenti e attraverso multiple vie.

In Tabella 1.1 vengono riportate le principali definizioni di **Cumulative Risk Assessment** proposte dalle principali organizzazioni/enti scientifici internazionali.

TABELLA 1.1 Definizioni di Cumulative Risk Assessment (CRA) (Moretto e al. 2016).		
Ente	Anno	Definizione
U.S.EPA (Framework for CRA)	2003	<i>Cumulative risk: i rischi combinati derivanti dall'esposizione aggregata a più agenti o stressors. CRA: l'analisi, la caratterizzazione e, possibilmente, la quantificazione dei rischi combinati per la salute umana o per l'ambiente, causati da più agenti o stressors.</i>
U.S.EPA (Food Quality Protection Act)	1996	<i>Cumulative risk: il rischio di andare incontro ad un effetto tossico associato con l'esposizione simultanea attraverso tutte le vie e modalità di esposizione ad un gruppo di sostanze chimiche che mostrano un meccanismo di tossicità comune.</i>

¹ Scientific Committee on Health and Environmental Risks SCHER, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks SCENIHR, Scientific Committee on Consumer Safety SCCS, Toxicity

and Assessment of Chemical Mixtures. European Union, 2012
doi:10.2772/21444

California Environmental Protection Agency	2005	<i>Cumulative impact: le esposizioni, gli effetti per la salute pubblica o per l'ambiente derivanti dalle emissioni o scarichi in un'area geografica, incluso l'inquinamento ambientale da tutte le fonti, sia in una matrice, sia in più matrici ambientali, rilasciati abitualmente o accidentalmente. L'impatto, se applicabile, dovrà tenere conto delle popolazioni sensibili e dei fattori socio-economici, nella misura in cui i dati sono disponibili.</i>
National Research Council of the National Academies	2009	<i>La combinazione dei rischi determinati dall'esposizione aggregata a più agenti o stressors, dove per esposizione aggregata si intende l'esposizione a un dato agente o stressor, attraverso tutte le vie e modalità di esposizione e da tutte le fonti.</i>
European Food Safety Authority (PPR Panel)	2009, 2013	<i>Il Risk assessment combinato derivante dall'esposizione ai residui di pesticidi negli alimenti che potrebbero derivare dai fitofarmaci utilizzati nelle piante, utili per stabilire un Maximum Residue Limits.</i>
European Food Safety Authority (Scientific Committee)	2013	<i>Il Risk assessment dell'esposizione combinata a più sostanze chimiche</i>
World Health Organization, IPCS CEFIC-MIAT (Price et al, 2012)	2011	<i>L'esposizione combinata a più sostanze chimiche</i>
	2012	<i>'L'esposizione combinata' è definita come l'esposizione a livello del recettore (intendendo con 'recettore' un individuo o un altro organismo) a più sostanze chimiche a cui sono esposti da una o più fonti attraverso una o più vie di esposizione</i>

1.3 FASI DELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO CUMULATIVO

Il *Risk Assessment*, o valutazione del rischio sanitario, è una metodologia che, correlando i dati tossicologici con i livelli di esposizione, permette di stimare quantitativamente il rischio derivante dall'esposizione a sostanze chimiche.

Attraverso un processo graduale, si perviene alla definizione quantitativa del rischio, espresso come prodotto del valore della tossicità della sostanza per il fattore "esposizione ad un certo contaminante".

$$R = E \times T$$

R = rischio

E = esposizione ad un dato contaminante

T = tossicità del contaminante

La valutazione del rischio per la salute umana segue una metodologia che applica un percorso diretto (*forward*)

alla stima del rischio sanitario associato ad una matrice contaminata.

Il *National Research Council* (NRC) pubblicò nel 1983 il documento che viene comunemente definito il *Red Book*, ossia il paradigma del *Risk Assessment* il quale prevede che questa metodologia sia articolata in quattro step successivi (NRC, 1983):

- 1) *Hazard identification* (identificazione del pericolo).
- 2) *Dose-response assessment* (valutazione della relazione dose-risposta o caratterizzazione del pericolo).
- 3) *Exposure assessment* (valutazione dell'esposizione).
- 4) *Risk characterization* (stima del rischio).

L'identificazione del pericolo è lo step in cui si identifica qualitativamente il pericolo intrinseco associato ad una sostanza chimica.

La valutazione della relazione dose-risposta quantifica la relazione tra l'esposizione ad una sostanza e il risultante

effetto avverso. Le curve dose-risposta vengono utilizzate per definire una dose accettabile e i dati derivano da studi sperimentali e/o epidemiologici.

La valutazione dell'esposizione determina (o stima) i livelli di concentrazione nelle matrici ambientali (aria, acqua e suolo) e sulla base di specifici scenari di esposizione (es: frequenza e durata dell'esposizione; caratteristiche della popolazione esposta) stima l'esposizione giornaliera. Quest'ultima può essere espressa come ADD (*Average Daily Dose*) o LADD (*Lifetime Average Daily Dose*) per le sostanze cancerogene. La dose assunta dipende dalla concentrazione della sostanza nelle matrici ambientali contaminate (aria, acqua, suolo), dai parametri di esposizione umana, dal tempo e dalla durata di esposizione.

$$ADD = \frac{C \times IR \times EF \times ED}{BW \times AT}$$

ADD = dose media giornaliera (mg/kg-die).

C = concentrazione della sostanza nella matrice ambientale (acqua, suolo, aria) mg/L o mg/Kg o mg/m³.

IR = tasso di esposizione (ingestione, inalazione o contatto dermico) con la matrice contaminata (mg/die, m³/die, mg/die).

EF = frequenza di esposizione (die/anno).

ED = durata di esposizione (anni).

BW = peso corporeo (Kg).

AT = periodo durante il quale l'esposizione è mediata (anni).

La dose media giornaliera va calcolata per ogni singolo scenario di esposizione (inalazione, ingestione, contatto dermico) e per il gruppo di popolazione esposta'.

bersaglio della contaminazione (adulti, bambini, lavoratori).

La stima e la caratterizzazione del rischio consistono nell'integrazione del valore della dose media giornaliera assunta con l'informazione tossicologica quantitativa, che per le sostanze cancerogene è:

$$R = LADD \times CSF$$

R = rischio o ELCR (*Estimated lifetime cancer risk*), definito come la probabilità di casi incrementali di tumore nel corso della vita causati dall'esposizione alla sostanza.

LADD = *Lifetime Average Daily Dose* per le sostanze cancerogene (*Intake* o Esposizione) (mg/kg-die).

CSF = *Cancer Slope Factor* (Fattore di pendenza) indica il potenziale cancerogeno di una certa sostanza (mg/Kg-die)⁻¹.

Per le sostanze non cancerogene:

$$HQ = \frac{ADD}{RfD}$$

HQ² = *Hazard Quotient* è un indice di rischio che esprime di quanto l'esposizione alla sostanza supera la dose di riferimento (RfD).

ADD = *Average Daily Dose* per le sostanze non cancerogene (*Intake* o Esposizione) (mg/kg-die).

RfD = *Reference Dose* per ingestione è espressa in mg/kg-die (o *RfC Reference Concentration* per inalazione, mg/m³-die) e rappresentano una stima della quantità massima di sostanza che può essere ingerita o inalata giornalmente e per tutta la vita senza comportare rischi per la salute umana.

Il processo di valutazione termina confrontando il valore di rischio calcolato con i criteri di accettabilità del rischio, che per le sostanze non cancerogene coincide con il non superamento della dose tollerabile o accettabile (RfD, TDI, ADI) ossia l'*Hazard Index* < 1;

per le sostanze cancerogene, il valore di rischio incrementale accettabile è pari a 1 x 10⁻⁶ per una singola sostanza cancerogena, mentre è pari a 1 x 10⁻⁵ il valore di rischio incrementale cumulato per tutte le sostanze cancerogene.

Il CRA è declinato negli stessi 4 step del *Risk Assessment* tradizionale che stima il rischio associato all'esposizione ad una singola sostanza chimica, la

² Secondo terminologia EPA

differenza è che sono necessarie considerazioni particolari quando si effettua un CRA, tra le quali la valutazione dell'esposizione a più sostanze chimiche attraverso più fonti e più vie di esposizione. Lo step dell'*Hazard identification* richiederà informazioni riguardanti le potenziali interazioni tra le sostanze chimiche, mentre l'*Exposure assessment* dovrà tenere in considerazione l'esposizione a più sorgenti, ai differenti percorsi e vie di esposizione.

Nella maggior parte dei casi di inquinamento ambientale si è esposti a più sostanze chimiche contemporaneamente e, in assenza di dati indicanti che le sostanze chimiche possano interagire tra loro o a livello biologico, in modo non additivo (antagonismo o sinergia), si assume che i loro effetti siano additivi, ossia che l'effetto combinato sia la somma dei loro effetti individuali. Quando si valuta il rischio per la salute derivante da matrici ambientali contaminate, l'approccio 'additività della dose' può essere usato per prevedere gli effetti cumulativi associati all'esposizione a più sostanze chimiche.

Per valutare il rischio associato all'esposizione a miscele di sostanze chimiche, US EPA ha prodotto un documento metodologico utile quando si hanno a disposizione dati che riguardano la miscela nel suo complesso (*whole mixture data*) (USEPA 2000). Questi dati di tossicità sono ottenuti testando le sostanze chimiche come miscela.

Quando i dati che riguardano la miscela nel suo complesso non sono disponibili, per una determinata combinazione di sostanze chimiche di interesse, caso piuttosto comune, USEPA raccomanda di applicare il metodo basato sui singoli componenti (*component-based*) (US EPA 2010).

Sono disponibili due approcci basati sui singoli componenti (*component-based*) per valutare una

miscela: 'l'additività della dose' e 'l'additività della risposta'.

1. L'additività della dose (*Dose Addiction*) viene applicata a quelle sostanze chimiche di una miscela che hanno lo stesso *Mode of Action*³, agiscono sullo stesso sito bersaglio e che si differenziano solo per la loro potenza tossica relativa.

L'*International Life Sciences Institute* (ILSI) utilizza il termine 'comune meccanismo di tossicità' se le sostanze chimiche della miscela causano lo stesso effetto critico, agiscono a livello della stessa molecola *target* e con lo stesso meccanismo d'azione biochimico o mostrano un comune intermedio tossico (Reffstrup, 2009; Botham, 1999; Mileson, 1998).

2. L'additività della risposta (*Response Addiction*) viene applicata a quelle sostanze di una miscela che agiscono in modo indipendente attraverso un *Mode of Action* differente e il sito bersaglio può essere differente tra le varie sostanze costituenti la miscela.

La *Dose Addiction* e la *Response Addiction* si basano sull'assunzione che la tossicità delle sostanze non è influenzata dall'interazione delle stesse nel sito target ed è stato proposto come approccio di riferimento nel *Risk assessment* di miscele chimiche a fini regolatori (SCHER, SCCS, SCENIHR, 2011). I Comitati Scientifici dell'Unione Europea, SCHER, SCCS e SCENIHR, consigliano di applicare il metodo della *Dose Addiction* se non sono presenti informazioni sul meccanismo d'azione, dal momento che rappresenta l'approccio più cautelativo.

Per il *Cumulative Risk Assessment*, il *Panel on Plant Protection Products and their Residues* - PPR di EFSA ha raccomandato di utilizzare il metodo della *Dose Addiction* anche per le miscele di sostanze chimiche che

³ È necessario fare una distinzione tra Meccanismo d'Azione e MoA (*Mode of Action*): il termine MoA descrive gli eventi chiave e i processi che partono dall'interazione di un composto con una cellula, attraverso cambiamenti anatomici e funzionali, che risultano in un effetto tossico. Il termine Meccanismo d'azione si riferisce a una comprensione più

dettagliata di ciò che avviene a livello molecolare (US EPA, 2000; US EPA, 2005).

hanno un meccanismo d'azione differente, purché causino effetti avversi comuni (EFSA, 2013).

Un altro possibile approccio è l'interazione tra le sostanze nella miscela. Il termine 'interazione' include tutte le forme di azione congiunta che si discostano dal concetto di additività. Quindi l'effetto combinato di due o più sostanze sarà maggiore (sinergia, potenziamento) o inferiore (antagonismo, inibizione) rispetto a ciò che può essere previsto in base alla *Dose Addition* o alla *Response Addition* (JRC, 2015).

Le interazioni possono essere suddivise in:

- Interazioni tra le sostanze chimiche
- Interazioni tossicocinetiche
- Interazioni tossicodinamiche

Nelle interazioni tra le sostanze chimiche, una singola sostanza reagisce direttamente con un'altra formandone una terza, che comporta una modifica della tossicità, più o meno importante.

Nelle interazioni tossicocinetiche si possono avere alterazioni a livello dell'assorbimento, della distribuzione, nel metabolismo e nell'escrezione di una sostanza.

Le interazioni tossicodinamiche avvengono quando la presenza di due o più composti modificano la risposta senza influenzare la dose tissutale di ognuno degli altri composti. Ciò avviene a livello del sito recettoriale o nella molecola target. Si ha antagonismo, quando l'interazione ha luogo nello stesso sito recettoriale. È difficile prevedere quali interazioni possano causare effetti tossici a dosi di esposizione molto basse. Le conoscenze attuali sull'azione combinata delle sostanze provengono da considerazioni fatte su valori di concentrazioni molto più alti rispetto a quelli che si trovano negli alimenti (ad esempio); da tali presupposti non è possibile dire se le conoscenze che derivano da studi che hanno valutato alte concentrazioni di sostanze in una miscela, possono essere valide a livelli di esposizione più bassi (ATSDR, 2004). In tabella 1.2 sono riportati i principali meccanismi d'interazione tossicologica tra le sostanze chimiche ed alcuni esempi (fonte ATSDR, 2004).

Tabella 1 Principali meccanismi di interazione tossicologica tra le sostanze chimiche

Tabella 1.2 Principali meccanismi di interazione tossicologica tra le sostanze chimiche		
Meccanismo di interazione	Esempi	
	Sinergia o potenziamento	Antagonismo o inibizione
<i>Sostanza chimica - sostanza chimica</i>	<i>Formazione nello stomaco di nitrosamine cancerogene da nitriti o ammine non cancerogene</i>	<i>NH₃ somministrata per via orale agisce come antidoto reagendo con la formaldeide ingerita per formare esametilen-tetrammina</i>
Farmacocinetica		
<i>Assorbimento</i>	<i>La neurotossicità dell'EPN (o-etil o-4-nitrofenil fenilfosfonotioato) è aumentata dagli idrocarburi alifatici in parte dovuto all'aumento dell'assorbimento per via dermica</i>	<i>Lo zinco nella dieta inibisce in parte la tossicità del piombo diminuendone l'assorbimento attraverso gli alimenti</i>
<i>Distribuzione</i>	<i>Aumento della neurotossicità causato da un aumento dei livelli di piombo cerebrale dopo trattamento con disulfiram, a causa della formazione di un complesso che permette una rapida distribuzione di piombo nel cervello</i>	<i>Il selenio protegge dalla tossicità del cadmio diminuendo la concentrazione di cadmio a livello epatico e renale e ridistribuendo il cadmio nei testicoli dalle proteine che legano il Cd a basso peso molecolare a quelle ad alto peso molecolare.</i>

<i>Escrezione</i>	<i>Diminuzione dell'escrezione renale di penicillina se co-somministrata con probenecid, che ne potenzia l'effetto terapeutico</i>	<i>L'arsenico antagonizza gli effetti del selenio aumentando, in parte, l'escrezione biliare del selenio</i>
<i>Metabolismo</i>	<i>I composti organofosforici potenziano le tossicità del fenvalerate e del malathion inibendo l'attività esterasica che detossifica molti insetticidi piretroidi e il malathion</i>	<i>Il selenio inibisce la cancerogenesi e il danno epatico indotto dal 2-acetilamminofluorene, spostando il metabolismo verso la detossificazione rispetto all'attivazione metabolica</i>
Farmacodinamica		
<i>Interazione a livello dello stesso sito recettoriale (antagonismo) o a livello di una molecola target</i>	<i>N.d.</i>	<i>L'atropina antagonizza l'avvelenamento da organofosfati bloccando i siti del recettore per l'acetilcolina</i>
<i>Interazione a livello di siti differenti sulla stessa molecola</i>	<i>I metaboliti della tiazofurina e selenazofurina si legano a differenti siti dell'inosina monofosfato deidrogenasi per inibire la sua attività in modo sinergico</i>	<i>Antagonismo del legame del rame al DNA da parte di altri cationi bivalenti</i>
<i>Interazione tra differenti siti recettoriali o target</i>	<i>Potenziamento dell'epatotossicità del tetracloruro di carbonio per inibizione del sistema di riparazione epatocellulare da parte del clordecone</i>	<i>Effetti opposti dell'istamina e della noradrenalina sulla vasodilatazione e la pressione arteriosa (antagonismo funzionale)</i>

L'ATSDR (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*) in collaborazione con il *National Toxicology Program*, hanno pubblicato alcuni profili di interazione (*Interaction Profiles*) tra le sostanze chimiche che più comunemente si ritrovano in miscela e che sono considerate prioritarie a causa dei loro effetti sulla salute.

Gli *Interaction Profiles* sono disponibili sul sito dell'*Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR) al link:

<https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/index.asp>

(percorso dalla home page: *Toxic Substances > Portal Toxicological and Health Professionals > Interaction Profiles*)

A livello europeo non vi è ancora un approccio metodologico condiviso per affrontare il *Risk assessment*

di una miscela chimica e si segue un approccio 'caso per caso' che dipende dal tipo di miscela da valutare.

Sono state pubblicate linee guida per condurre un CRA, da U.S. EPA (U.S. *Environmental Protection Agency-EPA 2000*), dalla Commissione inglese sulla Tossicità delle Sostanze Chimiche negli Alimenti, sui Prodotti di Consumo e l'Ambiente (COT 2002), dalla Commissione Scientifica norvegese per la Sicurezza Alimentare (VKM 2008) e dalla CVUA tedesca (CVUA 2007). Nella tabella 1.3 sono riportate le principali tappe effettuate negli USA nell'evoluzione del CRA, cui sono aggiunti, in corsivo, i documenti elaborati da altri Enti scientifici internazionali (Sexton, 2012). L'elenco è stato anche aggiornato con i più recenti documenti del JRC (JRC, 2015) e dell'OECD (OECD, 2018).

Tabella 1.3 Milestones nell'evoluzione del CRA (adattato da Sexton, 2012)

Tabella 1.3. Milestones nell'evoluzione del CRA (adattato da Sexton, 2012)	
Anno di pubblicazione	Documento
1986	<i>U.S. Environmental Protection Agency. Guidelines for the Health Risk Assessment of Chemical Mixtures; Risk Assessment Forum: Washington, DC, USA.</i>
1993	<i>National Research Council. Pesticides in the Diets of Infants and Children; National Academy Press: Washington, DC, USA</i>

1996	<i>Food Quality Protection Act. Public Law No. 104-170, 104th Cong., Washington, DC, USA.</i>
1996	<i>Amendments to the Safe Drinking Water Act. Public Law No. 104-182, 104th Cong., Washington, DC, USA.</i>
1999	<i>A Framework for Cumulative Risk Assessment; Mileson, B., Faustman, E., Olin, S., Ryan, P.B., Eds.; International Life Science Institute: Washington, DC, USA</i>
2000	<i>U.S. Environmental Protection Agency. Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures; Risk Assessment Forum: Washington, DC, USA.</i>
2002	<i>U.S. Environmental Protection Agency. Organophosphate Pesticides: Revised Cumulative Risk Assessment; Office of Pesticide Programs: Washington, DC, USA.</i>
2002	<i>U.S. Environmental Protection Agency. National-Scale Air Toxics Assessment for 1996; Office of Air Quality Planning and Standards: Washington, DC, USA.</i>
2002	<i>COT UK Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances</i>
2004	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Guidance Manual for the Assessment of Joint Toxic Action of Chemical Mixtures; Division of Toxicology: Atlanta, GA, USA.</i>
2006	<i>U.S. Environmental Protection Agency. Considerations for Developing Alternative Health Risk Assessment Approaches for Addressing Multiple Chemicals, Exposures, and Effects; National Center for Environmental Assessment: Washington, DC, USA.</i>
2006	<i>U.S. Environmental Protection Agency. National-Scale Air Toxics Assessment for 1999; Office of Air Quality Planning and Standards: Washington, DC, USA. Update</i>
2007	<i>U.S. Environmental Protection Agency. Concepts, Methods, and Data Sources for Cumulative Health Risk Assessment of Multiple Chemicals, Exposures and Effects: A Resource Document (Final Report); EPA/600/R-06/013; National Center for Environmental Assessment: Washington, DC, USA</i>
2007	<i>CVUA Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart/Germany. Toxikologische Bewertung von Mehrfachrückständen in Obst und Gemüse. Report</i>
2008	<i>National Research Council. Phthalates and Cumulative Risk Assessment: The Tasks Ahead; National Academies Press: Washington, DC, USA</i>
2008	<i>VKM (2008). Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Combined toxic effects of multiple chemical exposures. Report</i>
2009	<i>Minnesota Pollution Control Agency. Cumulative Air Emissions Risk Analysis at the MPCA – Background Document; MPCA: St. Paul, MN, USA.</i>
2009	<i>U.S. Environmental Protection Agency. National-Scale Air Toxics Assessment for 2002; Office of Air Quality Planning and Standards: Washington, DC, USA. Update</i>
2010	<i>Fan, A.M.; Alexeeff, G.; Harris, S.B. Cumulative risks and cumulative impacts of environmental chemical exposures. Int. J. Toxicol. 2010, 29, 57.</i>
2010	<i>Faust, J.B. Perspectives on cumulative risks and impacts. Int. J. Toxicol. 2010, 29, 58-64.</i>
2010	<i>Salmon, A.G. Do standard risk assessment procedures adequately account for cumulative risks? Int. J. Toxicol. 2010, 29, 65-70.</i>
2010	<i>Howd, R.A. Considering changes in exposure and sensitivity in an early life cumulative risk assessment. Int. J. Toxicol. 2010, 29, 71-77.</i>
2010	<i>Dunn, A.J.; Alexeeff, G.V. Principles for assessing community impacts. Int. J. Toxicol. 2010, 29, 78-87.</i>
2011	<i>U.S. Environmental Protection Agency. National-Scale Air Toxics Assessment for 2006; Office of Air Quality Planning and Standards: Washington, DC, USA. Update</i>
2011	<i>Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: A WHO/IPCS framework⁴</i>
2011	<i>OECD - WHO OECD ILSI/HESI International Workshop on Risk Assessment of Combined Exposures to Multiple Chemicals. Paris, France, OECD Environment 45 Directorate. OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment.</i>
2015	<i>JRC – European Commission - Scientific methodologies for the assessment of combined effects of chemicals – a survey and literature review</i>
2018	<i>OECD - Considerations for Assessing the Risks of Combined Exposure to Multiple Chemicals, Series on Testing and Assessment No. 296, Environment, Health and Safety Division, Environment Directorate.</i>

1.4 PROPOSTE METODOLOGICHE PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO CUMULATIVO

Per le finalità di questo documento sul *Cumulative Risk assessment* si propone l'utilizzo del metodo "dell'additività della dose" per la caratterizzazione del rischio. Il metodo dell'*Hazard Index* (HI) viene considerato come un metodo potenzialmente utilizzabile, sulla base della semplicità dell'applicazione, coerente con gli approcci attuali di *Risk assessment* e in linea con gli approcci internazionali (Health Canada, 2015).

Il metodo dell'*Hazard Index* (HI) si basa sulla somma degli *Hazard Quotient* (HQ) calcolati per ogni singola sostanza chimica. Tale approccio tiene in considerazione l'esposizione a più sostanze chimiche, le diverse fonti di esposizione, le diverse vie e scenari di esposizione, attraverso il metodo "dell'additività della dose".

L'HQ può essere calcolato per ogni sostanza chimica e per le diverse vie di esposizione. L'HQ, come precedentemente indicato, è il rapporto tra l'Esposizione e il Valore di Riferimento.

$$HQ = \frac{E}{RV}$$

HQ = Hazard Quotient

E = Esposizione o *Intake* o ADD

RV = Reference Value - Valore di Riferimento (RfD, RfC, DNEL, TDI, ADI, MRL)

$$HI = \frac{E_1}{RV_1} + \frac{E_2}{RV_2} + \frac{E_3}{RV_3} \dots$$

$$HI = HQ_1 + HQ_2 + HQ_3 + \dots + HQ_i$$

HI = Hazard Index (HI > 1 rappresenta un rischio non trascurabile)

L'HI può essere calcolato sommando l'HQ di tutte le sostanze chimiche (Kortenkamp, 2016).

1.3.1 Utilizzo del Tool RSL - Regional Screening Levels for chemical contaminants (RSLs)

Lo strumento informatico RDL (*Regional Screening Levels for chemical contaminants*) di US EPA (*United States Environmental Protection Agency*) permette di calcolare uno *Screening level*, ossia di individuare le dosi o le concentrazioni delle sostanze chimiche nelle diverse matrici ambientali, alle quali si può essere esposti senza andare incontro ad effetti avversi per la salute. Lo *screening level* è comunque una misura della pericolosità dei livelli, non è la misura del rischio ma i suoi valori possono essere utilizzati a tal fine. La caratteristica di maggior interesse per la finalità di questo documento è che RSL permette di calcolare sia i rischi per la salute umana associati all'esposizione ad una singola sostanza chimica, sia il rischio cumulativo.

Gli SL rappresentano le concentrazioni di sostanze chimiche nel suolo, nell'aria e nell'acqua che corrispondono a livelli di rischio fissati e pari a 10^{-6} per il rischio cancerogeno e pari a 1 per l'*Hazard Quotient* (rischio non cancerogeno).

Questo strumento informatico, disponibile gratuitamente sul sito di EPA al link https://epa-prgs.ornl.gov/cgi-bin/chemicals/csl_search, è stato sviluppato in collaborazione con DOE's Oak Ridge National Laboratory (ORNL).

Nell'allegato B è disponibile una guida dettagliata all'utilizzo del *tool* RSL, di seguito alcune indicazioni per la procedura d'utilizzo.

Procedura per l'utilizzo del tool RSL:

Aprire la pagina RSL disponibile al link: https://epa-prgs.ornl.gov/cgi-bin/chemicals/csl_search

1. selezionare lo scenario di interesse (*Select Scenario*) e le matrici ambientali che si desidera indagare (*Select media*).

A questo link sono riportate le equazioni per il calcolo dell'Esposizione:

<https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-equations-may-2016>

2. Selezionare lo *Screening Level (Select SL Type)*:
 - di *Default* (proposto da EPA): selezionando gli SL di *default*, vengono riprodotti i risultati generici presenti nelle tabelle al link:
<https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-generic-tables-may-2016>

- *Site Specific* (personalizzato, utilizzando dati sito-specifici). Selezionando questa opzione è possibile variare i parametri di esposizione sulla base dei dati sito-specifici.

Nel caso si inseriscano dati personalizzati (*Site Specific*), viene richiesto di selezionare la tipologia di informazioni chimiche (*Select Chemical Info Type*):

- *Database hierarchy defaults* (fornite dal database del tool)
- *Users-provided* (fornite dall'utente)

3. Scegliere se mostrare nell'output il calcolo del rischio cancerogeno e non-cancerogeno dovuto all'esposizione ad una singola sostanza o cumulato; se si seleziona 'Yes', in uno degli step successivi verrà richiesto l'inserimento dei valori di concentrazione della o delle sostanze rilevate.

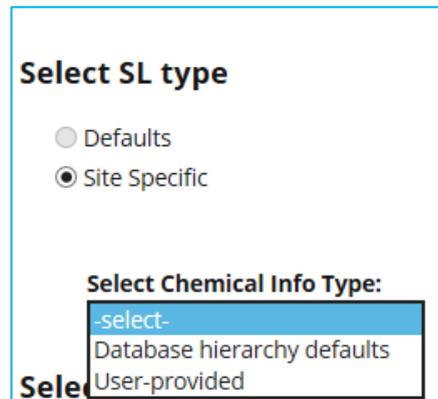
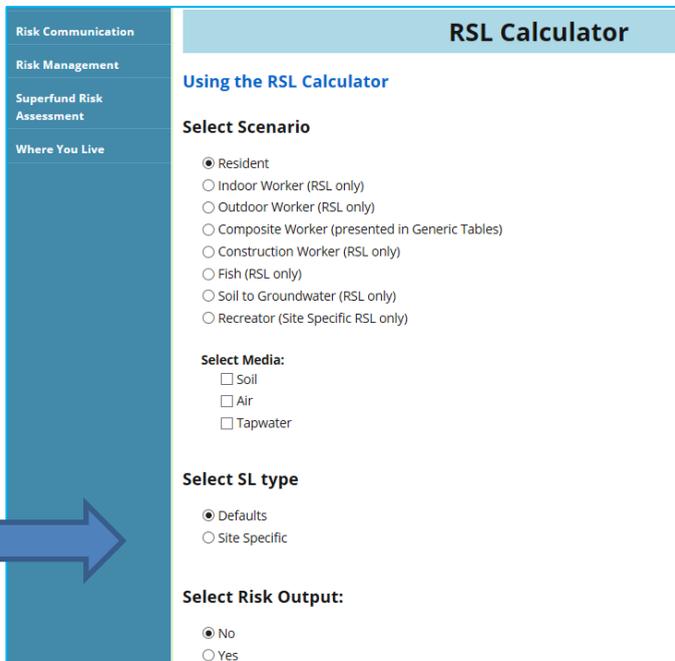


Figura 1.1 Schermata della pagina iniziale del tool ed esempio di scelta a tendina

4. Scegliere la tipologia di esposizione: cronica o subcronica.

EPA considera cronica la durata di esposizione maggiore a 7 anni, mentre una durata inferiore si configura come un'esposizione subcronica; l'utente potrà selezionare

l'esposizione cronica anche nei casi in cui l'esposizione, sebbene di durata minore, si manifesta frequentemente.

5. Dall'elenco fornito da EPA, scegliere le sostanze chimiche (Fig 1.2); selezionare una o più sostanze e spostarle nella tabella 'Selected' cliccando su ">>". Le sostanze inserite nella tabella 'Selected' saranno utilizzate per il calcolo degli SL.

E' possibile evidenziare più contaminanti in una sola volta utilizzando il tasto "shift" e ">>"; si possono selezionare tutte le sostanze chimiche cliccando sulla casella "ALL"; si possono rimuovere le sostanze chimiche inserite nella tabella 'Selected', utilizzando il tasto "<<".

Le sostanze chimiche possono essere selezionate anche per numero CAS

Select Individual Chemicals

Acenaphthene (83329)
 Acenaphthylene (208968)
 Acephate (30560191)
 Acetaldehyde (75070)
 Acetochlor (34256821)
 Acetone (67641)
 Acetone Cyanohydrin (75865)
 Acetonitrile (75058)
 Acetophenone (98862)
 Acetylaminofluorene, 2- (53963)
 Acifluorfen (50594666)
 Acridine (260946)
 Acrolein (107028)
 Acrylamide (79061)

Or Select Individual CAS Numbers

50293
 50328
 50011
 50000
 51365
 51285
 51752
 51365
 51796
 52857
 53703
 53190
 53963
 55185

Selected

<< >>

<< >>

To add a chemical not in the list, select "Site Specific", "User-provided", then "Test Chemical".

Or Select All

ALL

Figura 1.2 Esempio di schermata per la scelta degli inquinanti

6. cliccare su "RETRIEVE" per procedere nel calcolo. Nel caso in cui si sia scelto di mostrare nell'*output* il calcolo del rischio per effetti cancerogeni e non cancerogeni per l'esposizione alle sostanze selezionate, la pagina successiva richiede all'utente di inserire le concentrazioni delle stesse.

A seguire comparirà una tabella con i rischi relativi agli effetti cancerogeni (CR) e non cancerogeni (HQ) per singola sostanza e i rischi cumulati derivanti dalla sommatoria dei rischi individuali.

Come risultato finale, inoltre, il *tool* elabora varie tabelle in cui sono elencati tutti i parametri di esposizione considerati nel calcolo, i parametri tossicologici associati alle sostanze in analisi [*slope factor/inhalation unit risk* (SF/IUR) per le sostanze cancerogene e *reference dose/reference concentration* (RfD/RfC) per le sostanze non cancerogene], le fonti bibliografiche da cui sono state tratte le informazioni tossicologiche, l'organo bersaglio e gli effetti associati all'esposizione alle sostanze.

Viene, infine, riportato, in un'altra tabella, il valore dello *screening level*, ovvero della dose/concentrazione più cautelativa della singola sostanza, presente nella matrice ambientale indagata, a cui il recettore può risultare esposto senza che si verifichino effetti sulla salute.

Occorre sottolineare in questa sede che tale valore di riferimento, proprio per il fatto di rappresentare un livello di *screening*, viene fornito dal *tool* per l'effetto associato all'esposizione alla singola sostanza e non tiene pertanto conto dell'effetto cumulato dovuto all'eventuale contemporanea esposizione ad altre sostanze (ARPAM, 2016).

Lo Strumento HARP 2 RAST

Hotspots Analysis and Reporting Program Health Risk Assessment Standalone Tool version 2

Lo strumento è messo a disposizione gratuitamente online dall'Agenzia per la protezione ambientale della California (CalEPA) al link: <https://www.arb.ca.gov/toxics/harp/rast.htm>

A differenza del *tool* RSL che è consultabile online, HARP 2 RAST deve essere installato sul PC.

È un metodo di *Risk Assessment*, basato sulle procedure sviluppate da OEHHA (*Office of Environmental Health Hazard Assessment*) nel 2015 (*Air Toxics Hot Spots Program Guidance Manual for Preparation of Health Risk Assessments - OEHHA Guidance Manual*).

Rispetto al *tool* RSL, fornisce la possibilità di calcolare il rischio non solo per ingestione di acqua o di suolo e per inalazione, ma anche per ingestione di latte materno e/o di alimenti contaminati (carne e derivati di origine animale, pesce, vegetali).

Sempre rispetto al *tool* RSL, è possibile calcolare il rischio acuto non cancerogeno (solo per la via inalatoria) ed il rischio 8h non cancerogeno (per inalazione e solo per emissioni non continue).

Vengono di seguito descritte le varie fasi per l'utilizzo dello strumento:

1. selezionare i contaminanti di interesse dalla lista delle sostanze presenti nel database dell'*Office of Environmental Health Hazard Assessment* (OEHHA) e inserire le concentrazioni;
2. selezionare il tipo di analisi, tra quelli proposti dal *tool*, da effettuare per il calcolo del rischio: cancerogeno, cronico non cancerogeno, cronico 8 h non cancerogeno, acuto non cancerogeno e l'insieme di cancerogeno, non cancerogeno acuto e cronico;
3. selezionare il tipo di recettore esposto: residenti, popolazione intera e lavoratori;
4. selezionare la durata di esposizione;
5. selezionare le vie di assorbimento: inalazione, ingestione di acqua, latte materno, uova, ecc...
6. il programma calcola il rischio per le esposizioni selezionate ad ogni singola sostanza (è necessario indicare la directory di salvataggio dell'output e assegnare un nome al file) (ARPAM, 2016).
7. Verificare, periodicamente, se sono disponibili aggiornamenti del *tool*, dal menu a tendina '*help*' '*check for update*'.

RAST User's Guide (guida pratica per l'utilizzo di RAST) <https://www.arb.ca.gov/toxics/harp/docs2/harp2rastuserguide.pdf>

BIBLIOGRAFIA

- ARPAM, 2016. Dipartimento di Ancona-Servizio Epidemiologia Ambientale-Osservatorio Epidemiologico Ambientale delle Marche. Ipotesi di metodologie e indicazioni operative per la valutazione degli impatti sanitari da interventi ambientali. Rev. 1 - Novembre 2016.
- ATSDR, 2004. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Division of Toxicology. *Guidance Manual for the Assessment of Joint Toxic Action of Chemical Mixtures*, May, 2004.
- Botham, P., Chambers, J., Kenyon, E., Matthews, H.B.S., Sultatos, L., Van Pelt, C., Zeise, L., Faustman, E., Mileson, B., 1999. *Report of the toxicology breakout group (BOG)*. In: Mileson, B.E., Faustman, E., Olin, S., Ryan, P.B., Ferenc, S., Burke, T. (Eds.), *A Framework for Cumulative Risk Assessment*. International Life Sciences Institute, pp. 5–23.
- Christensen FM, Andersen O, Duijm NJ, Harremoës P. *Risk terminology—a platform for common understanding and better communication*. J Hazard Mater. 2003 Oct 31;103(3):181-203.
- COT (2002). *UK Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances*.
- CVUA (2007). *Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart/Germany. Toxikologische Bewertung von Mehrfachrückständen in Obst und Gemüse. Report*.
- DEP Florida - Department of Environmental Protection. *Dose Additivity Guidance. Final August 3, 2016*.
- EFSA Panel (PPR), 2013. *Scientific Opinion on relevance of dissimilar mode of action and its appropriate application for cumulative risk assessment of pesticides residues in food*. EFSA Journal 2013;11 (12): 3472, 40 pp. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3472).
- EFSA (2018a), EFSA Scientific Committee. *Draft guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals*.
<https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/consultation/consultation/180626-1-ax1.pdf>
- EFSA (2018b), EFSA Scientific Committee. *Statement on genotoxicity assessment of chemical mixtures*.
<https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/consultation/consultation/180626-ax2.pdf>
- Health Canada. 2015. *Environment Canada. Proposed Approach for Cumulative Risk Assessment of Certain Phthalates under the Chemicals Management Plan*. August 2015.
- JRC, 2015. *Joint Research Centre-European Commission. Scientific methodologies for the assessment of combined effects of chemicals – a survey and literature review*.
- Kortenkamp A, Backhaus T, Faust M (2009). *State of the Art on Mixture Toxicity. Report*. Available at: http://ec.europa.eu/environment/chemicals/effects/pdf/report_mixture_toxicity.pdf. Last accessed 23 November 2016.
- Meek ME, Boobis AR, Crofton KM, Heinemeyer G, Raaij MV, Vickers C. *Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: A WHO/IPCS framework*. Regul Toxicol Pharmacol. 2011 Apr 2.
- Mileson, B.E., Chambers, J.E., Chen, W.L., Dettbarn, W., Ehrich, M., Eldefrawi, A.T., Gaylor, D.W., Hamernik, K., Hodgson, E., Karczmar, A.G., Padilla, S., Pope, C.N., Richardson, R.J., Saunders, D.R., Sheets, L.P., Sultatos, L.G., Wallace, K.B., 1998. *Common mechanism of toxicity: a case study of organophosphorus pesticides*. Toxicol. Sci. 41, 8–20.
- Moretto A, Bachman A, Boobis A, Solomon KR, Pastoor TP, Wilks MF, Embry MR. *A framework for cumulative risk assessment in the 21st century*. Crit Rev Toxicol. 2016 Aug 11:1-13.
- NRC (National Research Council). 1983. *Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process*. Committee on the Institutional Means for Assessments of Risk to Public Health, Commission on Life Sciences. National Academy Press, Washington, DC.
- NRC (National Research Council). 1996. *Understanding Risk: Informing Decisions in a Democratic Society*.

- Committee on Risk Characterization, Commission on Behavioral and Social Sciences and Education. Washington, DC: National Academy Press.
- NRC (National Research Council). 2009. *Science and Decisions: Advancing Risk Assessment*. Committee on Improving Risk Analysis Approaches Used by the U.S.EPA. Board on Environmental Studies and Toxicology, Division on Earth and Life Studies. Washington, DC: National Academy Press. 2009.
- OECD (2018), *Considerations for Assessing the Risks of Combined Exposure to Multiple Chemicals, Series on Testing and Assessment No. 296, Environment, Health and Safety Division, Environment Directorate*. Reffstrup TK, Larsen JC, Meyer O. Risk assessment of mixtures of pesticides. *Current approaches and future strategies*. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2010 Mar;56(2):174-92. doi: 10.1016/j.yrtph.2009.09.013. Review.
- SCHER (2012), *Scientific Committee on Health and Environmental Risks*. SCENIHR, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. SCCS, Scientific Committee on Consumer Safety. *Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures*. 2012. European Commission. DG Health & Consumers. *Health Systems and Products*.
- Sexton K. *Cumulative risk assessment: an overview of methodological approaches for evaluating combined health effects from exposure to multiple environmental stressors*. *Int J Environ Res Public Health*. 2012 Feb;9(2):370-90. doi: 10.3390/ijerph9020370. Review.
- U.S. EPA 2000 *Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures*. August
2000. *Risk Assessment Forum Technical Panel, United States Environmental Protection Agency, Washington DC*.
- U.S.EPA 2001. *General Principles For Performing Aggregate Exposure And Risk Assessments*. Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs November 28, 2001.
- U.S. EPA. 2003. *Framework for Cumulative Risk Assessment*. PA/630/P-02/001A. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, Office of Research and Development.
- U.S. EPA, 2005. *Guidelines for Carcinogen Risk Assessment*. Risk Assessment Forum. US Environmental Protection Agency. EPA/630/P-03/001F, March 2005.
- U.S. EPA 2010. *Recommended Toxicity Equivalence Factors (TEFs) for Human Health Risk Assessments of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin and Dioxin-Like Compounds*. December 2010. Risk Assessment Forum, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- VKM (2008). *Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Combined toxic effects of multiple chemical exposures*. Report

2. ESPOSIZIONI AMBIENTALI ED ESITI DI SALUTE NELLE VALUTAZIONI DEL RISCHIO CUMULATIVO

A cura di Marco Baldini (ARPA Marche), Andrea Ranzi (ARPAE Emilia-Romagna), Luciana Sinisi (ISPRA)

Diversi possono essere gli ambiti e i contesti di valutazione del rischio conseguente ad esposizione a miscele di sostanze e/o a contaminanti multipli. A questi hanno corrisposto diverse attività ed esperienze a livello europeo ed internazionale come, per esempio, nel caso dell'esposizione combinata a miscele appartenenti alla stessa classe di sostanze (pesticidi, diossine etc.) o nelle valutazioni dei siti contaminati e di acque superficiali. In questo documento, come già commentato, l'interesse è per le attività di valutazione del rischio associato all'esposizione a contaminanti multipli, con particolare riferimento alla popolazione residente in aree di

particolare rilevanza ambientale. La quantificazione del rischio associato all'esposizione a miscele di sostanze potrebbe, infatti, contribuire a individuare fattori di esposizione modificabili in quanto suscettibili di interventi da parte degli organi istituzionali impegnati nella tutela della salute pubblica (Braun, 2016).

Sono in corso diverse attività progettuali a livello UE in tema di esposizione combinata a sostanze chimiche multiple ed alcune di esse sono riassunte nella Tab. 2.1 che segue.

Tabella 2.1 Principali progetti europei sul tema dell'esposizione combinata a sostanze chimiche multiple

Principali progetti europei sul tema dell'esposizione combinata a sostanze chimiche multiple (L.Sinisi, adattata da Bopp et al, 2018)				
EDC-MixRisk	EuroMix	HBM4EU	SOLUTIONS	EUToxRisk
Integrating Epidemiology and Experimental Biology to Improve Risk Assessment of Exposure to Mixtures of Endocrine Disruptive Compounds	A tiered strategy for risk assessment of mixtures of multiple chemicals	Coordinating and advancing human biomonitoring in Europe to provide evidence for chemical policy making	SOLUTIONS for present and future emerging pollutants in land and water resources management	An Integrated European 'Flagship' Program Driving Mechanism-based Toxicity Testing and Risk Assessment for the 21st Century
http://edcmixrisk.ki.se/	http://www.euomixproject.eu/	https://www.hbm4eu.eu/	http://www.solutions-project.eu/	http://www.eutoxrisk.eu/
2015–2019	2015–2019	2017–2021	2013–2018	2016–2021
EFSA MixRisk	EFSA CRA for pesticides	EFSA Landscape ERA project	JRC mixture project	JRC WFD project
Harmonisation of human and ecological risk assessment of multiple chemicals	Cumulative risk assessment of pesticides	Developing spatially explicit risk assessment methodologies and tools for mapping environmental risk of chemical and biological stressors at the EU level	Toxicity assessment of combined exposures and chemical mixtures	JRC mixture activity linked to EU Water Framework Directive

In alcuni di questi progetti, come MixRisk o HBM4EU, viene promossa l'integrazione delle conoscenze sia tossicologiche che epidemiologiche; integrazione che, in verità, è sempre più auspicata anche nelle attività collegate alle valutazioni d'impatto sanitario in generale. Di fatto in tema di rischio cumulativo il contributo dell'epidemiologia alle valutazioni del rischio è materia di discussione relativamente recente e non era pienamente prevista nei *framework* più consolidati (WHO 2009a, WHO 2009b). Nel parere dei Comitati Scientifici UE già citato (SCHER, 2012) è un tema affrontato - e recepito - con prevalente riferimento al lavoro di Levy del 2008 che, nella più ampia discussione su vantaggi e punti di forza dell'inclusione dell'epidemiologia, evidenzia come soprattutto grazie all'epidemiologia è possibile intercettare, tra gli altri, anche il contributo di *stressors* non-chimici come previsto dalla metodologia dell'US EPA, come ad esempio situazioni di svantaggio socio economico o abitudini alimenti che possono quantitativamente influire sugli esiti di salute. Alcune considerazioni su vantaggi, limiti dell'uso dell'epidemiologia e il riferimento ad alcune esperienze integrate sono sinteticamente riportate nel paragrafo che segue Il contributo dell'epidemiologia alle valutazioni del rischio cumulativo

2.1 IL CONTRIBUTO DELL'EPIDEMIOLOGIA ALLE VALUTAZIONI DEL RISCHIO CUMULATIVO

In relazione a possibili problematiche proprie della valutazione di impatto rilevate nella caratterizzazione del rischio con approccio tossicologico l'applicazione della metodologia e l'uso degli strumenti propri dell'epidemiologia possono fornire contributi positivi.

L'approccio epidemiologico pur presentando livelli di incertezza propri della metodica applicata (ad es. la funzione dose-risposta derivata da studi epidemiologici può essere utilizzata in un contesto diverso solo se le popolazioni e le esposizioni sono assimilabili), consente di caratterizzare gli effetti da esposizioni simultanee di fattori ambientali, psicosociali, nutrizionali ed economici (Levy IJ, 2008) basandosi, infatti, su studi di popolazioni reali soggette a esposizioni variegata, chimiche e non-chimiche, con le relative interazioni delle quali il fattore di rischio oggetto di indagine costituisce un appropriato

indicatore. Inoltre, offre la possibilità della valutazione dell'esposizione della popolazione umana a miscele di sostanze fortemente associate alla sorgente quando non si conoscono tutte le componenti della miscela o ne sia impossibile o parziale la misura.

Di contro esistono dei limiti alla sua applicazione. La valutazione delle esposizioni, al tempo stesso, rappresenta un fattore limitante degli studi epidemiologici in quanto la riclassificazione delle esposizioni può esitare in una distorsione della stima di effetto (*bias*), generalmente con un effetto di riduzione delle stime, dovuto al fatto che la misura dell'associazione tra esposizione ed esito risulta "confusa" da fattori di confondimento (Lewy, 2008).

Tra gli ulteriori limiti all'utilizzo dell'approccio epidemiologico nelle valutazioni di *risk assessment* vi sono inoltre, il fatto che le funzioni di rischio epidemiologico sono disponibili per un numero molto limitato di sostanze e che per la definizione delle relazioni 'dose-risposta' vi è la necessità di disporre di molti studi che minimizzino la variabilità dei risultati delle varie indagini per lo più in popolazioni in studio con diverse caratteristiche strutturali e in differenti contesti ambientali. Tuttavia, quando queste informazioni sono disponibili possono essere di maggiore rappresentatività, eliminando le potenziali differenze di specie, derivanti dalla estrapolazione modello sperimentale-uomo.

Come per l'approccio tossicologico, anche l'approccio epidemiologico segue un percorso di valutazione che si articola in quattro fasi (Nurminen, 1999; ARPA Piemonte, 2011):

1. *Hazard Identification*: valutazione preliminare della pericolosità delle sostanze identificate mediante l'analisi del rapporto causale di associazione tra un agente e il relativo effetto sanitario da questo determinato seguendo criteri stabiliti e codificati (es. i criteri di Bradford Hill);
2. *Dose-Response Assessment*: valutazione e quantificazione della relazione dose-risposta o, più propriamente, esposizione-risposta (incidenza); in tal senso risultano fondamentali i risultati degli studi epidemiologici metanalitici;
3. *Exposure Assessment*: valutazione dei dati quantitativi di misura e/o stima delle concentrazioni di esposizione o,

quando non disponibili, individuazione di indicatori di esposizione ricostruendo gli scenari espositivi anche attraverso misure surrogate dell'esposizione reale (figura 2). Il livello di approssimazione della reale esposizione nell'ambito di uno studio epidemiologico assume un ruolo cardine nella determinazione dell'attendibilità dei risultati raggiunti;

4. *Risk Characterization*: la caratterizzazione del rischio in questo tipo di approccio passa attraverso gli indicatori di associazione tra esposizione della popolazione e effetto sulla salute derivanti dagli studi epidemiologici (studi di coorte, studi caso-controllo,

studi di serie storiche o di "serie temporali", etc.); essi sono principalmente il rischio relativo (RR), l'*odds ratio* (OR) e il rischio attribuibile (RA). Tra i descrittori di rischio, idonei a definire l'impatto sanitario sulla popolazione, uno dei più utilizzati è il rischio attribuibile per la popolazione (RAP), dal quale si può facilmente ricavare il numero di casi addizionali, attribuibili all'esposizione, che non si sarebbero verificati nella popolazione studiata se non ci fosse stata l'esposizione a quel particolare fattore di rischio.

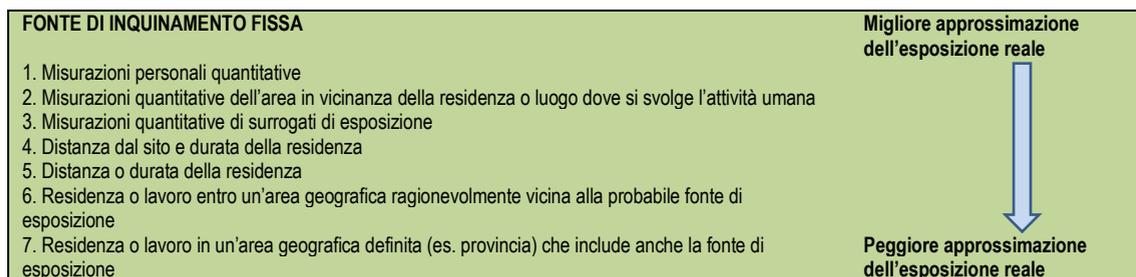


Figura 2.1 Approcci per la valutazione dell'esposizione da sorgente fissa (Fonte: Ranzi A. – Cordioli M. 2014)

Gli studi di valutazione di impatto mediante approccio epidemiologico utilizzano le funzioni di rischio derivate dall'evidenza epidemiologica per:

- effettuare una stima degli eventi sanitari attribuibili ad un incremento (o diminuzione) delle concentrazioni osservate, dovuto all'attivazione (riduzione) di sorgenti emmissive (VIA, prospettico);
- effettuare una stima degli eventi sanitari attribuibili alla differenza tra le concentrazioni osservate ed un valore di concentrazione di riferimento al di sotto del quale s'ipotizza che l'effetto sanitario possa essere ritenuto trascurabile (*burden of disease*) (approccio retrospettivo).

L'analisi di tipo prospettico è effettuata, nel caso in cui si voglia stimare l'incremento (o diminuzione) dell'incidenza attualmente osservata per effetto di un aumento

(diminuzione) delle concentrazioni dovuto all'attivazione (o riduzione) delle sorgenti inquinanti.

L'analisi di tipo retrospettivo, invece, è effettuata nel caso in cui si voglia stimare il numero di eventi sanitari attribuibili agli attuali o passati livelli di esposizione della popolazione. Data una certa incidenza osservata della patologia, si vuole determinare quale quota sia attribuibile all'esposizione ad un determinato inquinante, in altre parole la riduzione del carico di malattia che si otterrebbe nella popolazione esposta se si rimuovesse l'esposizione (ISPRA, 2016).

Di recente un gruppo di lavoro OMS ha valutato il *burden of disease* relativo ai principali fattori di pressione ambientale in Europa (Hanninen et al., 2014). L'interesse di questo lavoro, ai fini degli argomenti trattati in questo capitolo, risiede nell'approccio metodologico per il calcolo dei casi attribuibili alle diverse esposizioni, che

ha unificato il contributo della ricerca epidemiologica e tossicologica in termini di funzioni concentrazione-risposta (rischi relativi e *unit risk* rispettivamente), proponendo formule differenti a seconda della disponibilità di uno o dell'altro, oltre che di informazioni di contesto.

Questo approccio, legato ad un altro lavoro metodologico

OMS sulla relazione algebrica fra le due espressioni della relazione concentrazione-risposta (già descritto nelle Linee Guida del Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente), può rappresentare un punto di partenza per un approccio congiunto alle stime di rischio sia relativo a singole sostanze che cumulativo.

Box: EBoDE (tratto da Linee Guida VIIAS del Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente)

La peculiarità dell'approccio del lavoro su EBoDE è che propone un metodo di calcolo dei casi attribuibili sia in presenza di rischio relativo (RR epidemiologico) che in presenza di Unit Risk (UR tossicologico).

La gerarchia proposta privilegia i RR (i pochi disponibili), altrimenti considera gli UR. I calcoli proposti in entrambe le situazioni considerano il contesto dello stato di salute base della popolazione, aggiungendo una formula che tiene conto dell'incidenza di base della patologia in esame nel calcolo della frazione di casi attribuibili.

Si propone quindi di effettuare valutazioni degli eventi sanitari attribuibili alle esposizioni utilizzando in prima analisi i dati sui rischi provenienti da studi epidemiologici (RR) validati e in assenza di questi dai dati tossicologici (UR) e degli studi occupazionali.

Dati necessari:

popolazione esposta

baseline burden of disease dell'outcome in esame

Tradotto nei termini di richieste all'interno di un processo autorizzativo per un nuovo impianto, si possono definire come:

popolazione dell'area interessata alle ricadute su base comunale (fonte ISTAT);

popolazione esposta alle ricadute estrapolata dalla popolazione delle unità di censimento 2011 sulla base delle aree di ricaduta (fonte ISTAT e SIA);

n. degli eventi sanitari in studio per comune (dato annuale fonte ARS-ASL-ISTAT).

O alternativamente:

tasso di incidenza/mortalità della malattia in esame

centroide dell'area di studio;

La scelta va valutata sempre in relazione al grado di contributo che si richiede al gestore.

I metodi di stima del numero di casi attribuibili all'inquinamento: utilizzati del lavoro di Hanninen e colleghi sono 2, in dipendenza dalla disponibilità del rischio relativo (RR) derivante da studi epidemiologici (metodo 1a) o di un valore di Unit Risk (UR) di derivazione tossicologica (metodo 2a).

Metodo 1a. *Disponibilità della stima di rischio relativo epidemiologico (RR).*

I casi attribuibili sono calcolati in base alla formula classica della valutazione di impatto epidemiologica:

$$AC = A * B * (DC/10) * P_{exp}$$

dove:

AC = numero di casi attribuibili all'esposizione in esame;

A = $(RR - 1)$, eccesso di rischio nella popolazione esposta, attribuibili all'inquinamento atmosferico; **RR** è il rischio relativo desunto dalla letteratura disponibile per il dato esito sanitario; in genere viene espresso come rischio relativo per un incremento di $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ di inquinante

B = tasso di morbosità/mortalità di background dell'esito sanitario considerato, ovvero il tasso che si osserva in assenza dell'esposizione;

Nel caso di valutazioni retrospettive, **B** non è direttamente misurabile, ma può essere stimato attraverso la seguente formula: $B = B_0 / [1 + (RR - 1) * (\Delta C / 10)]$, dove B_0 è il tasso di morbosità/mortalità misurato dell'effetto sanitario, riferito alla concentrazione osservata, ottenuto dai dati statistici disponibili nella popolazione di riferimento; $\Delta C / 10$ è la differenza tra l'esposizione recettore attualmente misurata e la concentrazione counterfactual di riferimento. Tale valore di concentrazione viene diviso per 10 in quanto il **RR** viene per convenzione espresso per incrementi di $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$;

Nel caso di valutazioni prospettiche su incrementi di esposizione per attivazione di nuove sorgenti, **B** rappresenta il tasso di morbosità/mortalità attualmente osservato, ottenuto dai dati statistici disponibili nella popolazione di riferimento ($B = B_0$)

$\Delta C / 10$ = è l'incremento nelle concentrazioni atmosferiche per il quale si intende valutare l'effetto. Tale valore di concentrazione viene diviso per 10 in quanto il **RR** viene per convenzione espresso per incrementi di $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$

P_{exp} = popolazione esposta

Metodo 2a. Gli unit risk (**UR**) sono utilizzati per stimare la frazione di casi osservati nella popolazione attribuibili all'inquinamento (**PAF**) per le associazioni esposizione-evento in mancanza delle stime degli **RR**.

Gli **UR** rappresentano la stima del rischio incrementale per unità di esposizione, sono utilizzati per consentire la stima diretta del numero di casi attribuibili (**AC**) dai dati di esposizione:

$$AC = E \times UR \times P = R \times P$$

dove:

AC = numero di casi attribuibili all'esposizione in esame;

E = livello di esposizione,

UR = unità di rischio

R = rischio incrementale e

P = dimensione della popolazione esposta.

In sostanza, noto il valore di rischio derivante dall'esposizione in esame (**R**), esso viene moltiplicato per la popolazione esposta per ottenere un numero di casi attribuibili. Un valore di rischio uguale, ad esempio, a 1.5×10^{-5} , sta a significare che sono attesi 1.5 eventi aggiuntivi su 10'000 soggetti esposti in modo continuo per 70 anni all'esposizione in esame (**E**).

Nel caso di valutazioni retrospettive, il **PAF** è stimato dalla **AC** come $PAF = AC / I$, dove **I** è l'incidenza osservata della patologia in esame.

Questa impostazione consente di lavorare sui casi attribuibili sia utilizzando il metodo **HIA** che il metodo **RA**. Rimane aperta la problematica di definire delle soglie di accettabilità degli effetti basate sul numero di eventi attribuibili piuttosto che su valori di rischio predefiniti.

L'interazione dei dati epidemiologici e della tossicologia sperimentale è anche adottata in recenti progetti europei in materia di esposizione a miscele di interferenti endocrini come **ECD-MixRisk 2015-2019** (*Integrating Epidemiology and Experimental biology to improve risk Assessment of exposure to mixtures of Endocrine disruptive Compounds*) finalizzato non solo ad una migliore comprensione dei nessi tra esposizione ed esiti

di salute, ma anche allo sviluppo di biomarcatori di esposizione e rischio di malattia (Bopp et al., 2018). Nel progetto **HEALS**, uno dei principali progetti europei in materia di esposomica, è utilizzata l'integrazione degli studi sia epidemiologici che tossicologici per lo studio dei meccanismi causali per alcune miscele di sostanze. Il progetto **HBM4EU** in corso (*Coordinating and advancing human biomonitoring in Europe to provide*

evidence for chemical policy making) ambisce ad integrare le conoscenze di biomonitoraggio, epidemiologiche e tossicologiche nell'uso dell'approccio basato sul concetto di esposoma.

Quest'ultimo sta ricevendo grande attenzione dai ricercatori. In questi ultimi anni, infatti, al fine di effettuare una migliore valutazione delle esposizioni ambientali e correlarle agli esiti di salute, è in atto da parte dei ricercatori un progressivo allontanamento dalle misure indirette di esposizione ambientale in favore del ricorso ad un approccio basato sulla stima dell'esposizione individuale e della dose interna attraverso l'utilizzo di dosimetri personali e la misura di biomarcatori. Il fine ultimo è quello di tendere all'individuazione dell'insieme delle interazioni personali con l'ambiente, riassumibile nel concetto di esposoma (Wild CP, 2005).

Le immagini sotto riportate (figure 2.2-2.3) sintetizzano la definizione dell'esposoma quale risultato delle interazioni di diversi domini ambientali e le vie di influenza dell'esposoma stesso sulla salute individuale. I domini rappresentati comprendono:

- un ambiente esterno generale, che contempla l'ambiente urbano-rurale, fattori climatici, sociali, l'istruzione, ecc.;
- un ambiente esterno specifico che riassume l'alimentazione, l'attività fisica, l'abitudine al fumo, le infezioni, l'occupazione, ecc.;

un ambiente interno che include fattori biologici, come fattori metabolici, il microbiota intestinale, stati infiammatori, stress ossidativo, invecchiamento, ecc. (Siroux, 2016)

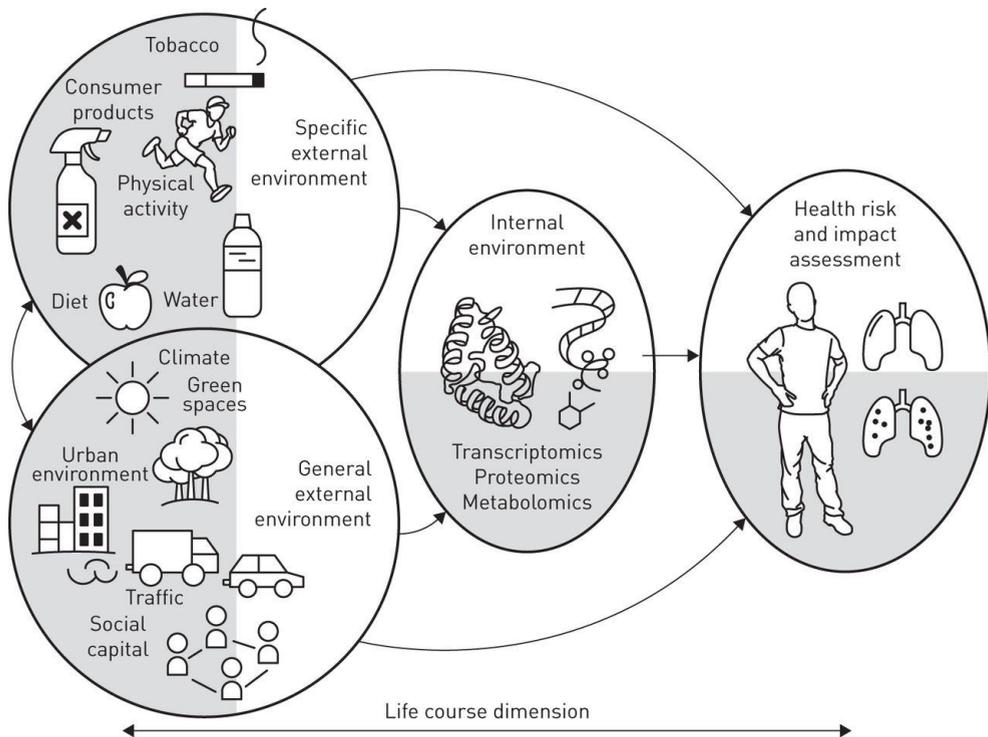


Figura 2.2. Gli effetti e le interazioni tra i differenti domini nella costituzione dell'esposoma e i rischi per la salute (Fonte: Siroux V. et al. 2016)

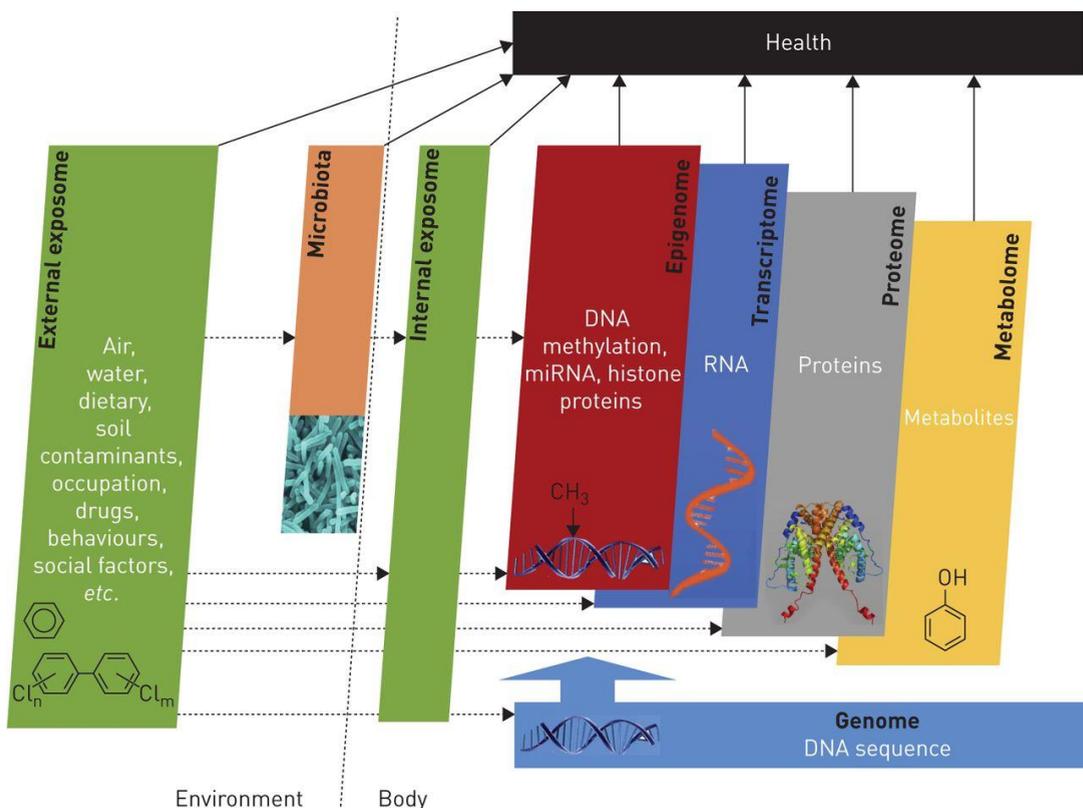


Figura 2.3. Rappresentazione schematica di alcune modalità di interazione tra l'esposoma e gli effetti sulla salute (Fonte: Siroux V. et al. 2016)

Sotto il profilo della fattibilità, non si può fare a meno di osservare che la misurazione dell'esposizione umana, sistematica e contemporanea a un largo numero di contaminanti ambientali è di difficile realizzazione. La ricerca di specifici biomarcatori rappresentativi di una miscela di sostanze chimiche pone questioni di varia natura e complessità. Inoltre, nell'interpretazione dei dati analitici occorre considerare la variabilità del metabolismo individuale, la necessità di rilevare il *biomarker* nella fase etiologica della malattia, la difficoltà operativa di reclutamento dei soggetti da monitorare, la problematica gestionale dei campioni biologici prelevati e, non ultimo, l'onere economico elevato proprio della metodica di biomonitoraggio delle analisi su un elevato

numero di individui rappresentativo della popolazione in studio (Braun, 2016).

I problemi nella valutazione delle miscele multino-contaminanti negli studi epidemiologici sono stati affrontati ed efficacemente riassunti da alcuni autori prendendo ad esempio l'inquinamento atmosferico sul quale esistono posizioni concordanti in merito al fatto che costituisca un importante problema di salute pubblica a causa della sua ubiquità e del suo potenziale impatto sulla salute e al fatto che possa essere ritenuto una miscela di sostanze inquinanti.

Le correlazioni esistenti tra quest'ultime possono essere tanto strette da non consentire la distinzione degli effetti

prodotti dai singoli composti con metodi statistici standard; tra i vari contaminanti possono verificarsi interazioni per le quali è difficile ipotizzare un costante fenomeno additivo nella risposta e, inoltre, le curve esposizione-risposta possono essere altrettanto non lineari come le interazioni stesse (Billionnet, 2012).

Lo schema riprodotto in figura 2.4 rappresenta gli elementi essenziali nella valutazione del rischio da inquinamento atmosferico. La sezione superiore raffigura le fonti di emissione a cui fa seguito la diffusione e il trasporto degli inquinanti e la loro trasformazione in contaminanti secondari. Accanto alle emissioni da sorgenti note, sono presenti gli inquinanti che provengono da altre fonti che nel loro insieme costituiscono il cosiddetto livello di fondo o *background* che necessariamente influenzano la qualità dell'aria contribuendo in tal modo al rischio complessivo.

La sezione centrale dello schema individua quelli che possono essere considerati i punti tradizionali della valutazione del rischio che sono strettamente legati alle

attività di ricerca e raccolta di dati attraverso il monitoraggio, la modellazione e la valutazione sperimentale degli impatti sulla salute a sostegno della valutazione del rischio.

Nella parte inferiore della rappresentazione sono invece riportati i diversi approcci che vengono utilizzati per caratterizzare gli esiti sulla salute, ovvero le curve concentrazione-risposta che si ottengono attraverso i dati osservazionali, quali quelli derivati da studi epidemiologici; le funzioni esposizione-risposta costruite sulla base di studi di modellizzazione o di esposizione personale; le curve dose-risposta ottenuti da studi controllati di esposizione umana o da studi osservazionali che utilizzano biomarcatori di esposizione. La forza dell'evidenza per l'interpretazione dei risultati della valutazione del rischio necessita del riconoscimento di questi diversi approcci che a loro volta sono condizionati dai dati disponibili e, in particolare, dalla conoscenza delle caratteristiche e proprietà dei vari inquinanti (Johns, 2012).

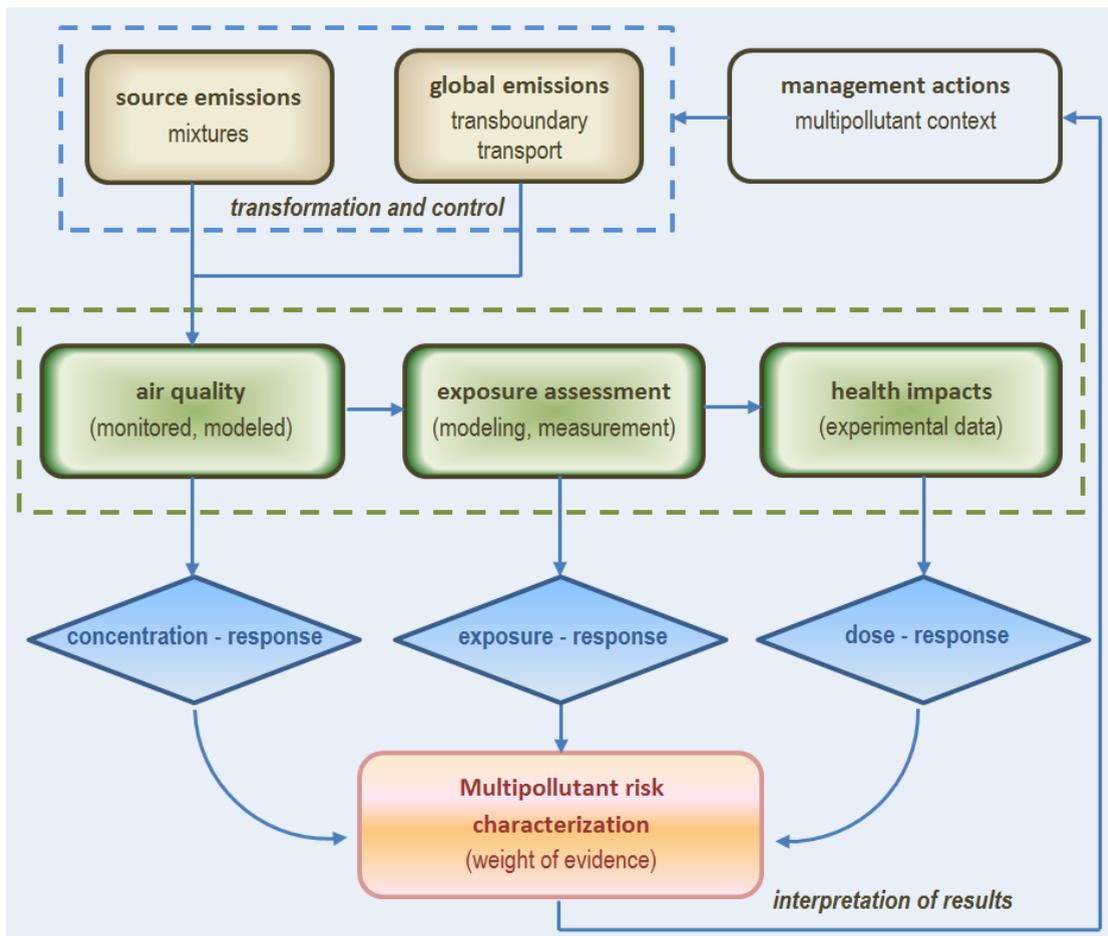


Figura 2.4. Schema concettuale per la valutazione del rischio cumulativo (Fonte: Johns DO et al. 2012 liberamente adattata e modificata)

Come già anticipato gli studi epidemiologici, comunque , sono gravati anch'essi da limiti di carattere metodologico da non sottovalutare come ad esempio la difficoltà nel definire l'esposizione dovuta alla presenza di fattori di confondimento, la necessità di ottenere risultati concordanti in un numero consistente d'indagini, l'esigenza di disporre di dati sanitari, ambientali e di popolazione di buona qualità, poter contare su campioni di studio piuttosto elevati tale da permettere di rilevare incrementi significativi del rischio anche per scostamenti

dei parametri espositivi non particolarmente evidenti rispetto al *background*, impegno consistente di risorse umane ed economiche per periodi di tempo a volte piuttosto lunghi.

A questi fattori limitanti si aggiungono ulteriori fattori di incertezza legati ad esempio al fatto che gli esiti sanitari selezionati sui quali si effettua una stima previsionale di impatto in realtà rappresentano effetti dovuti ad esposizioni pregresse sulle quali non hanno ancora pesato potenziali incrementi delle esposizioni dovute

all'installazione di un ipotetico nuovo stabilimento come accade nell'ambito di una VIA.

In conclusione, una sintesi efficace alla questione potrebbe essere data dalla considerazione che il vantaggio principale dell'approccio epidemiologico è rappresentato dalla misura dell'esposizione della popolazione umana a sostanze multiple, e alla considerazione del contesto socio-demografico in cui si fanno le valutazioni quantitative; di contro lo svantaggio è che le funzioni di rischio epidemiologico sono disponibili per un numero molto limitato di sostanze, e manca un valore soglia di accettabilità del rischio (T4HIA, 2016).

L'approccio epidemiologico potrebbe essere più indicato laddove siano disponibili funzioni di rischio epidemiologiche in relazione alle sostanze presenti specie se rappresentate in miscele complesse; l'approccio tossicologico potrebbe essere utilizzato quando non sono presenti informazioni sufficienti riferite alla tossicità sull'uomo, non vi sono RR epidemiologici ed il numero di sostanze emesse è limitato.

Una questione trasversale da considerare in quanto elemento costitutivo delle valutazioni di impatto, siano esse effettuate con approccio tossicologico che epidemiologico, è quello dell'incertezza. Quest'ultima è ascrivibile a tutte le fasi del processo, dai valori di *baseline* per lo stato di salute, alla quantificazione delle esposizioni, alle stime di effetto. Di frequente, infatti, si verifica che le informazioni sulla definizione e quantificazione dell'incertezza non ricevano sufficiente attenzione, nonostante i risultati delle stesse stime di impatto, rivestendo carattere previsionale e pertanto essendo prodotte prima che siano disponibili evidenze scientifiche accurate e condivise che ne supportino la veridicità, vengano utilizzate a fini decisionali.

Date le strette interazioni tra ambiente e salute e la complessità della ricerca scientifica su tali tematiche, come anche richiesto dal PNP 2014-2018 e dai nuovi livelli essenziali di assistenza (LEA) di recente pubblicazione, è sempre più irrinunciabile e non procrastinabile la necessità della collaborazione di una

pluralità di soggetti con specifiche competenze afferenti a varie organizzazioni/istituzioni, nonché il coinvolgimento di panel di esperti nelle discipline che concorrono all'analisi delle problematiche per le quali è richiesta la sovrapposizione dei due ambiti di intervento. In particolare, nel campo specifico del processo di valutazione del rischio cumulativo, rilevate le criticità presenti nei diversi approcci alla valutazione d'impatto sulla salute, si sottolinea la necessità di una più stratta collaborazione tra epidemiologi, tossicologi biostatistici, esperti in valutazione del rischio e nella valutazione delle esposizioni, al fine di identificare le lacune delle attuali conoscenze, individuare le priorità delle aree di studio, raccomandare strategie di ricerca per affrontare argomenti specifici nel campo della ricerca sulle miscele e al tempo stesso, anche uno stimolo ad approfondire gli aspetti controversi e problematici tuttora irrisolti della caratterizzazione del rischio sanitario (Carlin DJ, 2013)

2.1.2 La sorveglianza sanitaria ed epidemiologica nel monitoraggio delle esposizioni a miscele di contaminanti ambientali

Gli studi epidemiologici sono finalizzati a migliorare la comprensione degli effetti dell'esposizione a fattori di rischio. La sorveglianza epidemiologica, quale attività di sanità pubblica, si avvale delle reti di monitoraggio, dei flussi informativi sanitari e dei registri di patologia al fine di svolgere la sistematica raccolta, archiviazione, analisi e interpretazione dei dati seguita da una diffusione delle informazioni. La sorveglianza epidemiologica è stata sviluppata con l'obiettivo primario di monitorare la frequenza di alcune malattie, di identificare la popolazione affetta e, a seguito dell'introduzione di specifiche contromisure, di dimostrare l'avvenuto beneficio di riduzione del rischio (Bianchi, 2014; Salmaso, 2010).

Il monitoraggio ambientale, predisposto per il controllo dei potenziali impatti identificati nelle valutazioni di *risk assessment*, deve prevedere nel tempo la migliore conoscenza qualitativa e quantitativa dei contaminanti presenti nelle miscele e ha il fine di indagare tutte le vie

possibili di esposizione anche quelle non ancora del tutto chiare.

L'esposizione umana può assumere varie forme, ma la successione degli eventi che conduce al manifestarsi degli effetti sulla salute ad essa correlati è molto simile per ciascun percorso (figura 6): fonte di inquinamento, emissioni, dispersione, trasformazione e diffusione nelle matrici ambientali, contatto con il corpo umano e assorbimento. L'esposizione umana agli agenti inquinanti avviene quindi se si realizza il contatto fisico fra il mezzo e il corpo umano. A questa fase "esterna", deve necessariamente seguire una fase di assorbimento e distribuzione che determini il raggiungimento della dose interna necessaria e sufficiente a determinare l'effetto avverso. L'entità del contatto fra la matrice ambientale e il corpo umano determina il livello di esposizione, mentre il principale fattore che influenza l'entità del contatto è la durata dello stesso (Baker, 1999). In questa ottica, l'inalazione sembra essere la via predominante, seguita, in misura minore, dall'ingestione e dall'assorbimento cutaneo.

L'accuratezza e la precisione delle misure di esposizione sono prerogative essenziali all'ottenimento con il minimo errore e la massima efficienza della stima degli effetti sulla salute. Nel decidere l'avvio di uno studio epidemiologico e all'atto dell'approvazione del disegno metodologico dello stesso, i ricercatori devono definire l'uso ottimale delle risorse disponibili ponderandone le ricadute in termini di fattibilità, validità e precisione.

Negli anni più recenti, nell'effettuazione di indagini di epidemiologia ambientale è stato registrato un utilizzo sempre più ampio del biomonitoraggio per la valutazione dell'esposizione individuale e dell'associazione tra inquinanti e danno precoce, indagando eventualmente anche la suscettibilità. I biomarcatori d'esposizione, specie se misurati in campioni di popolazioni definite, permettono di identificare cambiamenti del profilo di esposizione della popolazione nel tempo più precocemente, rispetto a biomarcatori di effetto, che seppure in una fase iniziale, preclinica, misurano comunque un cambiamento o un danno già avvenuto o in corso (Erspamer, 2007).

Nella scelta e nell'uso di biomarcatori di esposizione, occorre fare riferimento ai seguenti criteri generali:

- presenza di evidenze forti in letteratura a supporto della relazione tra gli agenti misurati attraverso il rilievo dei biomarcatori e gli effetti sulla salute;
- possibilità di identificare gruppi di soggetti ritenuti a maggiore esposizione (e/o che accumulano l'agente in questione o i suoi metaboliti) all'interno della popolazione in studio;
- possibilità di definire una relazione tra concentrazione ambientale e esposizione individuale; il rilievo di concentrazioni di biomarcatori di esposizione oltre ad essere legato all'entità delle emissioni e alle proprietà intrinseche dei contaminanti (es. loro persistenza nell'ambiente) può essere condizionato da determinanti di salute non sanitari, quali ad esempio le condizioni socioeconomiche, l'etnia, cambiamenti di comportamento e/o attitudine degli individui e della popolazione;
- possibilità di quantificare la relazione tra esposizione e dose;
- possibilità di valutare la distribuzione spaziale dell'esposizione e quindi della popolazione da studiare (Erspamer, 2007).
- Predisposizione di un disegno dello studio che tenga conto della cinetica della sostanza in esame al fine di identificare la matrice biologica di elezione

Dati gli alti costi da sostenere per ottenere misure di esposizione individuali di frequente vengono utilizzate variabili surrogate; ciò consente la fattibilità dello studio in termini economici ma comporta una qualità inferiore dei dati rispetto all'uso di misure dirette di esposizione (Baker, 1999).

La determinazione dei livelli ambientali degli inquinanti, infatti, non è di per sé una misura dell'esposizione della popolazione a tali agenti, ma un suo proxy la cui validità dipende dall'influenza di vari fattori quali ad esempio, nel caso degli inquinanti atmosferici, la localizzazione e la

tipologia dell'abitazione rispetto alle sorgenti di emissione, la mobilità della popolazione, le modalità di trasporto impiegate, il tempo trascorso in ambienti indoor/outdoor (Erspamer, 2007).

Tra i principali metodi per valutare le esposizioni si ritrovano (Erspamer, 2007):

- la classificazione: si riferisce all'identificazione nell'ambito di una popolazione di sottogruppi di soggetti in base a categorie ordinali di esposizione; la forma più comune di classificazione è quella dicotomica come, ad esempio, 'esposti' e 'non esposti';
- la modellizzazione: utilizza modelli matematici per predire il valore di una variabile di esposizione; i modelli si basano sulla conoscenza dei fattori che determinano o influenzano la variabile e sulla relazione quantitativa fra questi fattori e l'esposizione;
- la misurazione: consiste, in genere, nell'uso di metodiche che si avvalgono di strumenti di analisi per la misura del valore delle variabili di esposizione nelle diverse matrici, ambientali e biologiche.

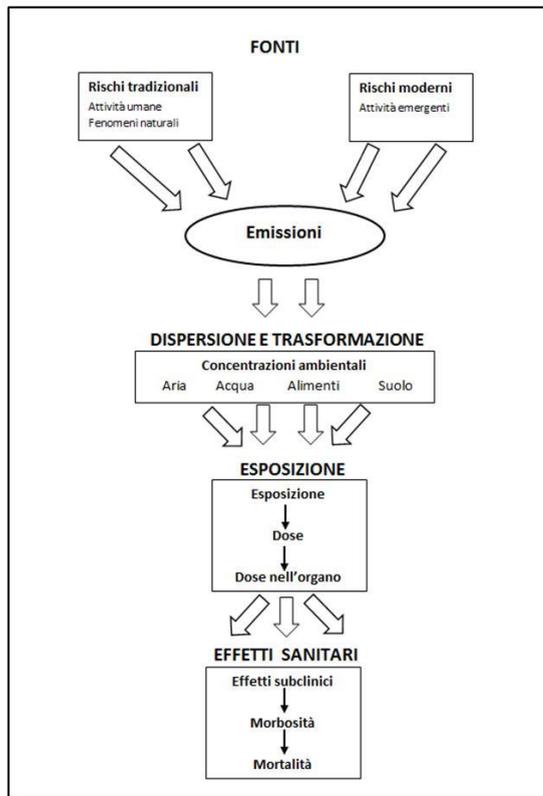


Figura 2.5. Percorso di esposizione umana e rischi per la salute (Fonte: Briggs D et al., 1996 liberamente adattato)

Il monitoraggio ambientale si associa ad uno specifico monitoraggio epidemiologico e sanitario per sorvegliare gli effetti sanitari ma anche socioeconomici sulle popolazioni esposte. In tal senso occorre che siano sorvegliati tutti gli eventi che possono riconoscere come causa o concausa l'esposizione a ciascuna delle sostanze tossiche rilevate nelle miscele di contaminanti. Nello stesso modo andranno sorvegliati i gruppi di popolazione più sensibili agli effetti delle stesse sostanze sia per la comparsa dell'evento avverso che per il suo eventuale aggravamento.

Il piano di sorveglianza dovrà essere predisposto prevedendone i contenuti, le modalità, la periodicità, la reportistica ed il piano di comunicazione, in funzione degli effetti da monitorare ed in stretta relazione con gli operatori afferenti a enti/istituzioni sanitarie.

Il piano di sorveglianza dovrà prevedere fin dall'inizio l'individuazione di parametri/variabili/indicatori che andranno opportunamente raccolti, secondo le modalità e periodicità concordate, per poter condurre la valutazione degli effetti sulla salute durante tutto il periodo di valutazione dell'impatto ambientale. Le informazioni sugli stessi parametri dovranno essere disponibili anche per il periodo antecedente la comparsa della pressione ambientale al fine di permettere gli idonei confronti

2.2 ALCUNI METODI QUANTITATIVI PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DA ESPOSIZIONE A PIÙ SOSTANZE CHIMICHE

2.2.1 Razionale

Molti studi sono ancora in corso per la definizione degli effetti delle esposizioni a miscele. Alcune sostanze interagiscono tra loro o nell'organismo potenziando in vario modo o inibendo l'effetto tossico. L'azione di sostanze su organi/percorsi metabolici diversi può condurre ad effetti non facilmente prevedibili.

Gli studi in corso sono orientati alla:

- individuazione delle miscele più comunemente rilevabili (es. siti contaminati) e di massima preoccupazione per la salute pubblica;

- stima dell'azione tossica congiunta di queste sostanze chimiche attraverso metodi di valutazione statistica e di laboratorio;
- sviluppo di nuove metodologie per valutare gli effetti sulla salute delle miscele.

Sebbene ormai di qualche anno fa, si ritiene sia utile segnalare una serie di documenti pubblicati dall'Agenzia americana per le sostanze tossiche e per il registro delle malattie (ATSDR) per la valutazione dei profili tossicologici di alcune miscele di sostanze che più comunemente si ritrovano nei siti contaminati e liberamente consultabili on-line e un manuale operativo per la valutazione dell'azione tossica comune delle miscele chimiche (ATSDR, 2004).

Il manuale ha lo scopo di aiutare i ricercatori che si occupano di salute pubblica e i tossicologi nel determinare se l'esposizione a miscele chimiche in siti contaminati possa essere responsabile di un impatto negativo sulla salute. Il metodo sistematico proposto nella guida integra i profili ATSDR di interazione, i profili tossicologici e le ricerche sulle miscele chimiche e costituisce un pratico approccio di screening per i potenziali rischi per la salute.

Nella stessa pagina sono riportati i profili di interazione di alcune miscele in formato finale o in draft. Preme, tuttavia, qui ricordare, che dal punto di vista tossicologico, lo studio delle interazioni tiene in conto il modo di azione delle sostanze e di dati di tossicocinetica. Questo tipo di informazioni sta diventando sempre più fondamentale nella strategia integrata a supporto *del risk assessment*. **Final Interaction Profiles**

- [Arsenic, Cadmium, Chromium, Lead](#)
- [Benzene, Toluene, Ethylbenzene, Xylenes](#)
- [Lead, Manganese, Zinc, Copper](#)
- [Persistent chemicals found in breast milk](#)
- [Persistent chemicals found in fish](#)
- [1,1,1-TCE, 1,1-DCE, TCE, PERC](#)
- [Cesium, Cobalt, Polychlorinated Biphenyls, Strontium, and Trichloroethylene](#)
- [Arsenic, Hydrazines, Jet Fuels, Strontium-90, and Trichloroethylene](#)
- [Cyanide, Fluoride, Nitrate, and Uranium](#)

- [Atrazine, Deethylatrazine, Diazinon, Nitrate, and Simazine](#)
- [Chlorpyrifos, Lead, Mercury, and Methylmercury](#)

Draft Interaction Profiles

- [Carbon Monoxide, Formaldehyde, Methylene Chloride, Nitrogen Dioxide, Tetrachloroethylene](#)
- [Chloroform, 1,1-Dichloroethylene, Trichloroethylene, and Vinyl Chloride](#)
- [Chlorinated Dibenzo-p-dioxins, Polybrominated Diphenyl Ethers, and Phthalates](#)

L'ATSDR sostiene che, date le numerose incertezze nell'ambito della valutazione del rischio da esposizione a miscele di sostanze chimiche, nell'ambito dell'esposizione a più agenti chimici con effetti assimilabili, si possa far ricorso ad un'additività del rischio (ATSDR, 2016). In merito alla valutazione degli effetti cancerogeni, tuttavia, occorre rilevare che la sommatoria degli effetti dovuti all'esposizione a miscele di inquinanti potrebbe condurre ad una sovrastima del rischio in quanto in linea teorica diversi contaminanti possono avere diversi organi bersaglio e agire attraverso vari meccanismi.

2.2.2 Metodologie

Si riportano di seguito le considerazioni dell'ATSDR in merito alla metodologia di valutazione degli effetti delle miscele di sostanze cancerogene e non cancerogene, sia per le esposizioni a breve che a lungo termine; si ritiene che sulla base delle attuali conoscenze, date le numerose incertezze che gravano su entrambi gli approcci metodologici alla valutazione di impatto, tali considerazioni possano essere condivise.

Effetti delle miscele

Effetti non cancerogeni per esposizioni short term

⁵ CV health-based comparison value: valori di esposizione giornaliera a composti chimici per i quali non risulta un danno alla salute; sono individuati valori di riferimento a seconda della specifica durata di

Per quanto riguarda le miscele è consigliata la valutazione solo degli effetti cumulativi per esposizioni *long term* in quanto è estremamente difficile poter valutare l'esposizione acuta massima simultanea.

Per quanto riguarda i contaminanti atmosferici, l'ATSDR effettua un confronto dei valori di concentrazione massimi (media giornaliera al 95° percentile) dei contaminanti indice con i valori limite della qualità dell'aria.

Tale confronto permette di individuare la qualità giornaliera dell'aria ed i conseguenti rischi per la popolazione, in particolare per quella più sensibile.

Effetti non cancerogeni per esposizioni long term

L'ATSDR seleziona le sostanze da inserire nella valutazione di impatto secondo i seguenti criteri (ATSDR, 2016):

- abbiano superato lo "screening di rifinitura" (ovvero quelle sostanze le cui concentrazioni massime superano le concentrazioni di riferimento (CV)⁵ a breve termine e le concentrazioni medie superano i CV a lungo termine);
- sia noto da fonti autorevoli di letteratura il parametro tossicologico: *minimal risk level* (MRL) o *reference concentration* (RfC);
- siano state rilevate in almeno il 20% dei campioni di monitoraggio al fine di poterne calcolare la concentrazione media (vedi procedure in ATSDR, 2016);
- dal rapporto tra l'introito e la concentrazione di riferimento risulti un HQ $\geq 0,1$.

Nella valutazione dell'effetto cumulativo, per la determinazione dell'HI, viene proposta la sommatoria degli HQ calcolati per ogni singolo organo bersaglio. L'ATSDR non valuta l'effetto cronico non cancerogeno cumulativo delle sostanze il cui HQ risulta inferiore a 0,1.

esposizione: acuta (1 – 14 giorni), sub-cronica (15 – 364 giorni) e cronica (365 giorni e oltre).

A scopo cautelativo viene inoltre consigliato di riportare i valori dei rischi cumulativi sugli organi/sistemi bersaglio anche se quest'ultimi risultino uguali o inferiori all'unità ($HI \leq 1$) qualora i dati epidemiologici abbiano messo in evidenza criticità specifiche di organo/sistema.

Effetti cancerogeni

Le sostanze cancerogene in tossicologia, a differenza degli agenti non cancerogeni, vengono ritenute prive di soglie di effetto; per tale motivo sono inserite nell'indagine tutte le sostanze, per le quali sono reperibili evidenze di letteratura che attribuiscono loro proprietà cancerogene, indipendentemente dalla percentuale di campioni⁶ per il rilievo delle stesse o dello specifico rischio cancerogeno.

Il rischio cancerogeno cumulativo è calcolato come somma dei rischi delle diverse sostanze indipendentemente dall'organo/sistema bersaglio anche se questo comporta potenzialmente una sovrastima del rischio che va comunemente dichiarata

2.3 LE PROSPETTIVE FUTURE NEL RISK ASSESSMENT DI NUOVA GENERAZIONE: NEXTGEN RISK ASSESSMENT

A cura di Annamaria Colacci (ARPAE Emilia-Romagna)

Il 21° secolo si apre con una grande conquista tecnologica, subito definita come *"the hottest thing after the PCR"*: la tecnologia *microarray*. Frutto dell'impegno internazionale per il Progetto Genoma, coordinato dal Premio Nobel, Renato Dulbecco, la tecnologia *microarray* rivoluziona, di fatto, l'approccio alla identificazione di pericolosità e dei rischi delle esposizioni in prevenzione primaria, alla identificazione di marcatori intermedi di malattia in prevenzione secondaria, e agli interventi terapeutici.

Nasce così l'era dell'omica, the *omics-era*, che dà origine a nuove discipline: genomica, trascrittomiche, proteomica, metabolomica, inizialmente usate separatamente, e ora sempre più integrate, grazie alla bioinformatica, nella

biologia dei sistemi, un avanzatissimo approccio che consente di fornire, con un unico esperimento o studio, una mole di dati relativi a diversi *endpoint*.

L'utilizzo delle tecniche biomiche e lo sviluppo delle discipline omiche hanno dato nuovo impulso all'uso di test in vitro per la predizione del rischio, e all'impiego dei dati che ne risultano, nella definizione della pericolosità e del rischio da esposizioni. I primi 17 anni dell'era dell'omica sono contrassegnati da grandi progetti multidisciplinari, quali Tox21, un programma supportato da diverse agenzie governative statunitensi e coordinato da US-EPA [2], *l'Halifax Project*, per l'identificazione e l'utilizzo di bersagli molecolari per miscele ambientali complesse [3-5], il programma OCSE, per lo sviluppo di *Adverse Outcome Pathways* (AOP)[6], il progetto OCSE, IATA (*Integrate Approach to Testing and Assessment*) per cancerogeni non genotossici.

Tutti questi progetti sono caratterizzati dall'utilizzo di strategie integrate altamente performanti (*high-throughput*), che uniscono test in vitro e trascrittomiche, per: 1) ottenere un numero molto grande di dati in un tempo ristretto; 2) mettere in evidenza gli effetti delle esposizioni croniche a basse concentrazioni; 3) definire gli effetti in base all'identificazione di perturbazioni significative di pathway biologici a livello molecolare che determinano alterazioni a livello cellulare, tissutale e di organo, direttamente correlate all'esito avverso finale (paradigma AOP).

E' in questo contesto che, a partire dal 2013, si evolve il concetto di Next Generation Risk Assessment, a cui generalmente ci si riferisce come **NextGen**.

NexGen si basa su tre pilastri: 1) la disponibilità di nuovi dati da test tossicologici basati su evidenze molecolari (*pathway-based toxicity*); 2) una nuova prospettiva per l'utilizzo dei dati di popolazione, riferiti all'identificazione di esiti finali avversi che coinvolgono determinanti multipli; e 3) nuove metodologie di *risk assessment* (Figura 2.6).

Questi tre pilastri costituiscono il centro dell'azione del NexGen, preceduta dall'identificazione degli obiettivi, per

⁶ I valori al di sotto del limite di determinazione dello strumento vengono calcolati come $ILD * \frac{1}{2}$ o $ILD * \frac{1}{\sqrt{2}}$

definire quali siano le informazioni necessarie per sostenere il processo decisionale (*fit-to purpose*) e seguita dalla fase finale di risk management, che include lo sviluppo di strategie per la gestione del rischio per la salute della popolazione *evidence-based*, che tengono conto di aspetti regolatori, economici, e tecnologici (Figura 2.6).

La fase 2 di questo processo è quella che riveste il maggior grado di innovazione, con l'utilizzo di test in vitro, integrati con la trascrittomica.

I test in vitro, essenzialmente basati sull'uso di colture cellulari bidimensionali e tridimensionali, sono in grado di mettere in evidenza l'evento molecolare iniziale, sia questo un danno al DNA o il legame con un recettore nucleare e, allo stesso tempo, forniscono l'RNA messaggero, che reca l'informazione espressa dal DNA in seguito all'esposizione. Da questo RNA si ottengono

delle impronte molecolari (*signatures*), determinate dai *pathway* genici in cui appaiono geni iper-espressi o ipo-espressi, in seguito all'esposizione e all'attivazione dell'evento molecolare iniziale.

L'interpretazione biologica della natura e della funzione di questi geni consente di correlare le impronte molecolari a uno specifico esito avverso. È chiaro che la funzione ultima di queste impronte molecolari è quella di servire come biomarcatori di esposizione e di rischio e quali endpoint precoci, in sostituzione degli endpoint apicali riscontrabili in tessuti e organi con malattia già conclamata. Particolare importanza, va rivestendo lo studio delle modificazioni epigenetiche, come elemento fondamentale nella risposta all'esposizione. L'integrazione di questa informazione diventa fondamentale anche per comprendere la modulazione genica.

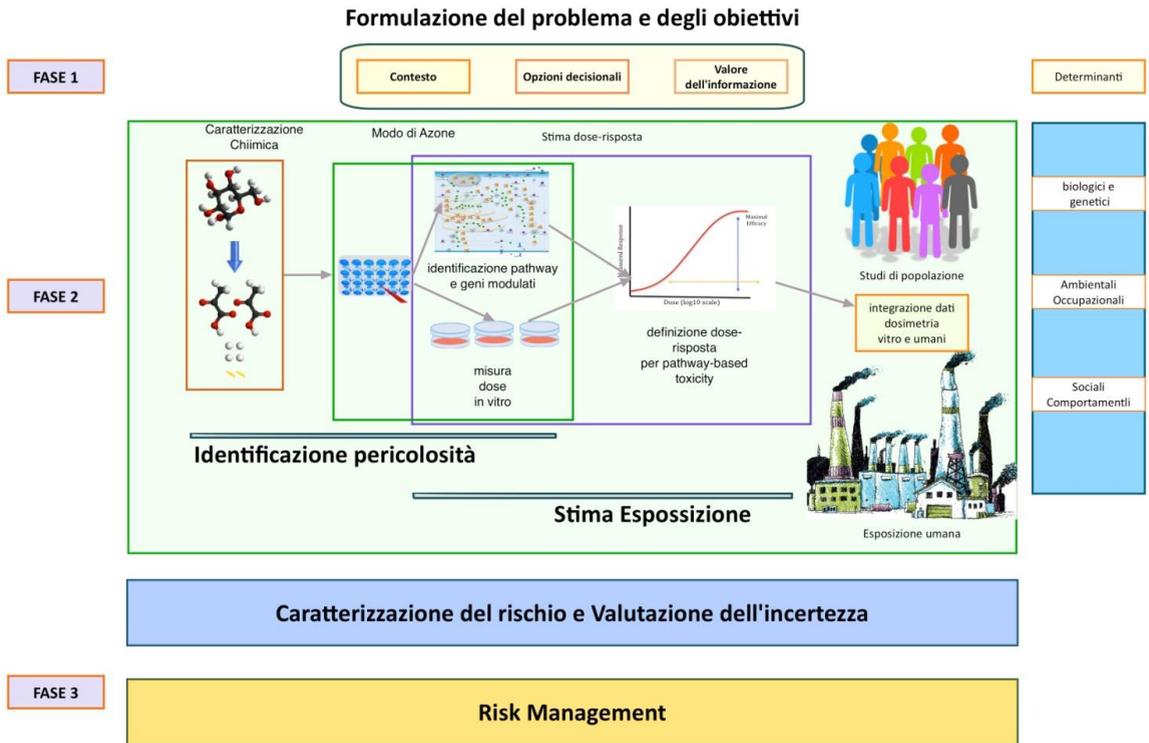


Figura 2.6. *Next Generation Risk Assessment*. Sono descritte le 3 fasi principali. La Fase 2 corrisponde all'aspetto maggiormente innovativo nell'approccio a risk assessment

Nel Progetto Tox21, US-EPA ha saggiato, finora, più di 10.000 composti in più di 700 endpoints. I marcatori molecolari che ne sono derivati sono stati utilizzati come *proxies* molecolari di rischio. Assegnando uno score, correlato alla modulazione dei singoli geni, è stato possibile definire delle mappe molecolari da cui si evince l'indice di rischio associato a variazioni biologiche che

giocano il ruolo fondamentale nell'insorgenza di una patologia (Figura 2.7). Un esempio dell'uso che di tali informazioni surrogate si può fare nella predizione del rischio correlato a esposizioni ambientali, è stato descritto in una delle 11 *review*, derivate dal Progetto Halifax, e riferito alla neoangiogenesi, uno degli 11 tratti biologici tipici del tumore (Figura 2.8).

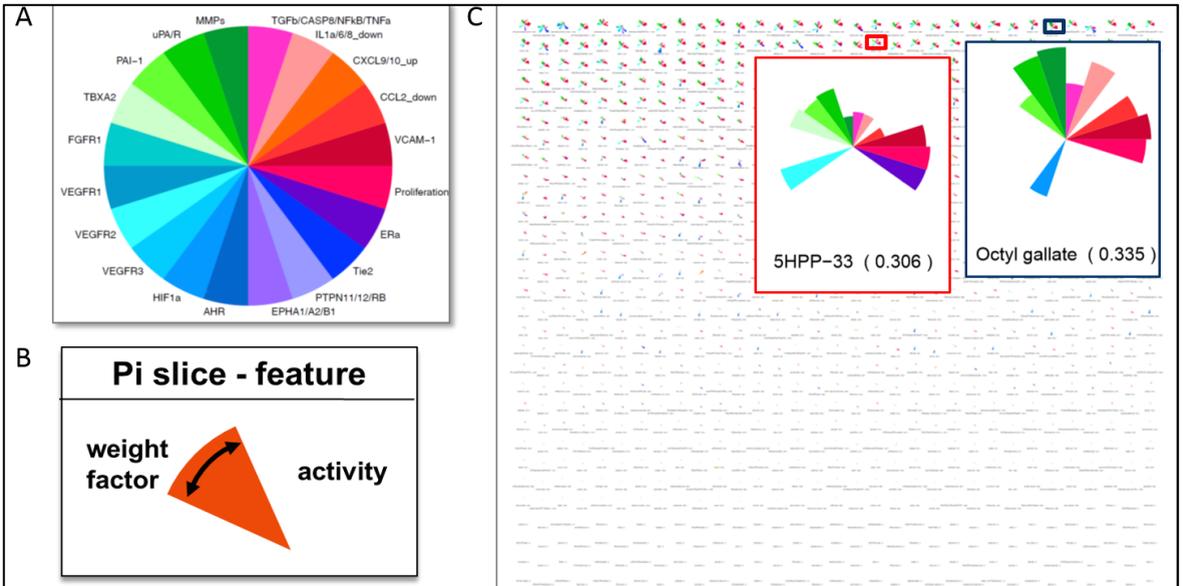


Figura 2.7 - Esempio di ToxPi riferito a pathway di segnale correlati ad angiogenesi. A) Ogni spicchio corrisponde a un pathway. B) La larghezza dello spicchio riflette il peso che quel pathway riveste nell'endpoint considerato. La lunghezza dello spicchio riflette l'attività del pathway. C) un esempio di come un pathway (in questo caso IL-1) possa essere diversamente attivato da due diversi composti. (Fonte:<http://epa.gov/ncct/ToxPi>)



Figura 2.8 – Applicazione di ToxPi al tratto biologico “angiogenesi” per esposizione a basse dosi a contaminanti ambientali. Nella prima colonna sono elencati i pathway di segnale coinvolti nel processo e correlati con l'insorgenza del tumore. Fonte: (Hu Z , Colacci A, Kleinschreuer N. Carcinogenesis 36, S184, 2015)

Come si evince dalla Figura 2.6, la strategia integrata per definire la *pathway-based toxicity* è in grado di fornire

una curva dose-risposta, dalla quale è possibile ricavare una dose soglia al di sotto della quale la risposta

all'esposizione è di tipo adattativo, con l'attivazione di meccanismi di detossificazione e di difesa immunitaria o, addirittura, non c'è modulazione genica significativa. La stessa esposizione, dunque, può determinare esiti

diversi, a seconda della dose, anche quando questa esposizione si riferisce a cancerogeni genotossici (Figura 2.9).

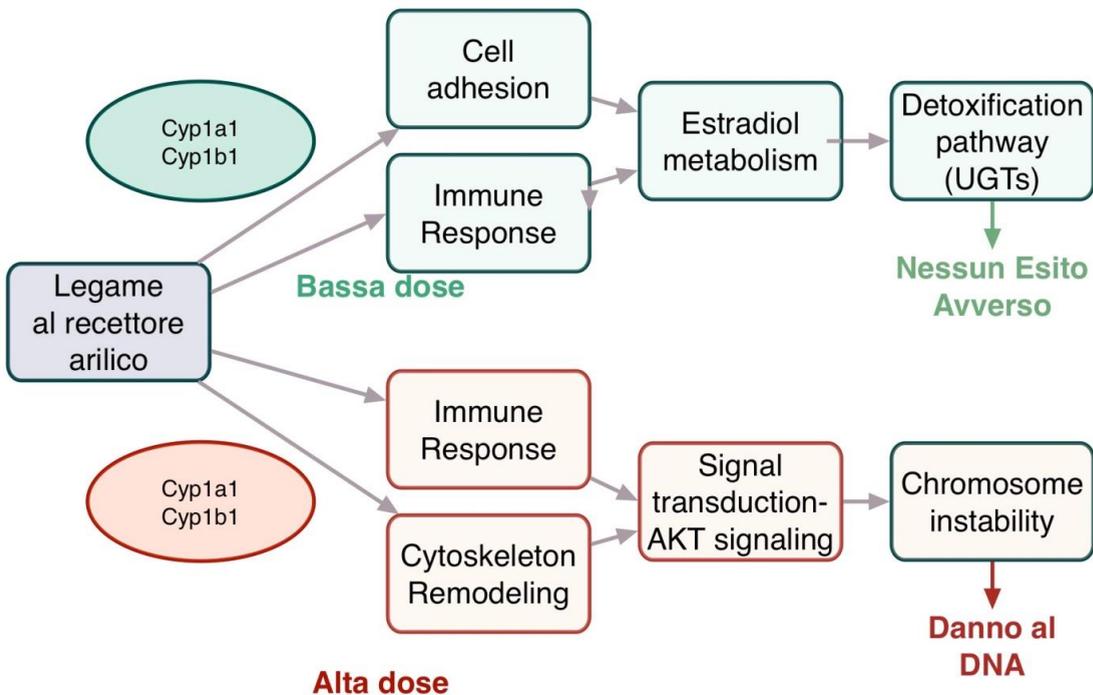


Figura 2.9 – Pathway-based toxicity del 3-metilcolantrene a basse e alte dosi in un modello in vitro di trasformica. L'evento molecolare iniziante è rappresentato dal legame al recettore. Basse e alte dosi attivano pathway di segnale differenti con esiti finali differenti. (Fonte: Colacci A, 2017, dati in corso di pubblicazione.)

Per sostenere il *NexGen Risk assessment* è imperativo caratterizzare l'esposizione e conoscere il modo e il meccanismo d'azione dei composti chimici che ne sono parte. Quest'approccio meccanicistico è condizione essenziale alla definizione della pericolosità dei composti chimici, singoli e in miscela, e del rischio da esposizione ambientale.

Tuttavia, da quanto detto, risulta evidente che tutte le informazioni necessarie, dall'identificazione dell'evento molecolare iniziante, alla definizione del modo e meccanismo d'azione, alla determinazione della dose soglia, alla descrizione della *pathway-based toxicity*, all'individuazione di biomarcatori molecolari, sono ricavabili da un unico esperimento, il che fa della fase 2

del *NexGen* una strategia integrata altamente performante.

Il passo successivo è l'integrazione dei risultati ottenuti a livello molecolare e cellulare con quelli riscontrabili nella popolazione, così da definire un'associazione diretta e univoca tra il target molecolare e l'esito avverso a livello

di popolazione e una dose soglia per l'effetto a livello di popolazione.

Nella Figura 2.10 è riportato lo schema semplificato del paradigma AOP (*Adverse Outcome Pathway*), che costituisce il riferimento concettuale per l'integrazione di tutti i dati esistenti ai fini del *risk assessment*.

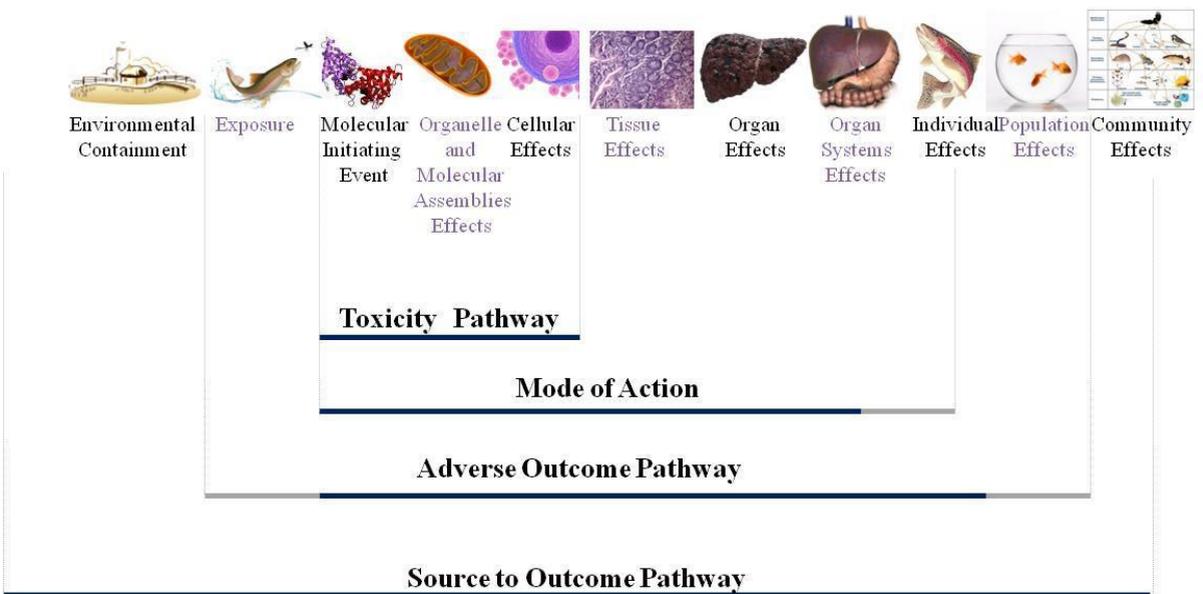


Figura 2.10 – Schematizzazione del paradigma dell'*Adverse Outcome Pathway*. (Fonte OECD, 2011)

NexGen è anche il presupposto per un approccio molecolare alla definizione di rischio cumulativo. Composti che sono ritenuti responsabili dello stesso effetto avverso possono avere target molecolari diversi. Composti che hanno lo stesso target molecolare possono dare origine a esiti finali differenti. L'esito finale può essere il risultato di più composti che agiscono a differenti livelli di complessità nell'AOP oppure su differenti target molecolari nello stesso pathway genico o in pathway correlati. Nonostante questa complessità, la

conoscenza meccanicistica di questi eventi facilita la definizione di rischio cumulativo.

Inoltre, l'utilizzo di strategie integrate con modelli in vitro consente l'analisi diretta di miscele complesse, incluse miscele ambientali reali, a differenti dosi, che offrono una visione realistica degli effetti dell'esposizione a livello sperimentale e una maggiore comprensione degli esiti a livello di popolazione. Due esempi, in questo senso, sono stati realizzati nei due progetti coordinati da Arpa Emilia-Romagna, Monitor e Supersito.

Non mancano, tuttavia, alcuni aspetti critici che ancora limitano l'utilizzo di *NexGen* su una scala che vada oltre i prototipi attualmente allestiti. L'aspetto critico principale è senz'altro rappresentato dal divario esistente nell'identificazione dei biomarcatori in *NexGen* e il loro utilizzo a livello di popolazione. La condizione essenziale per l'utilizzo di un biomarcatore è che questo sia specifico. I target molecolari e i *pathway* di segnale identificati in tossicologia predittiva sono specifici perché ancorati a specifici fenotipi. Il loro utilizzo a livello di popolazione richiede che l'esito finale cui ci si riferisce sia esattamente quello per cui sono stati sviluppati, senza ulteriori approssimazioni. Questa limitazione rende evidente che la suscettibilità individuale o, quantomeno quella di popolazione, debba essere tenuta in conto in un approccio *NexGen*.

L'altra limitazione è determinata dal margine d'incertezza nella definizione della dose-soglia soprattutto in studi in vitro, con limitate informazioni della tossicocinetica delle sostanze in esame. Questa limitazione può essere superata dall'impiego di modelli di PBPK (*physiologically based pharmacokinetics modelling*).

E', dunque, sempre possibile definire una dose-soglia sperimentale, ma l'estrapolazione di questa dose-soglia alla popolazione deve tenere conto di una serie di fattori non sempre facilmente controllabili, soprattutto per patologie multifattoriali, quali le patologie ambientali. Nonostante questi aspetti critici, *NexGen* rappresenta, ormai, il futuro del *risk assessment*, una stima basata su un'interpretazione biologica degli eventi che portano all'esito finale d'interesse per la popolazione.

BIBLIOGRAFIA

- ARPA Piemonte. "Proposte di linee guida per la valutazione di impatto sanitario", 2011. <http://www.arpa.piemonte.gov.it/arpa-comunica/events/eventi-2012/presentazioni-convegno-via-vas-vis/linee-guida>
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 2004. *Interaction Profiles for Toxic Substances*. <https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/index.asp>
<https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/jp-ga/jpga.pdf>
- Registry; 2016. *Corpus Christi Refineries (site wide activities); Nueces County, Texas*. <https://www.atsdr.cdc.gov/HAC/pha/CorpusChristi/CorpusChristiRefineryRowPHA508.pdf>
- Baker D, Kjellström T, Calderon R, Pastides H. WHO – U.S.EPA. *Environmental Epidemiology - A textbook on study methods and public health applications*; 1999. Traduz. Ital. a cura di ARPA Toscana; 2004. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/66026?mode=full>
- Billionnet C, Sherrill D, Annesi-Maesano I; GERIE study. *Estimating the health effects of exposure to multipollutant mixture*. *Ann Epidemiol*. 2012 Feb;22(2):126-41. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22226033>
- Braun JM. *What Can Epidemiological Studies Tell Us about the Impact of Chemical Mixtures on Human Health?* *Environmental Health Perspectives*. 2016 Jan; 124(1). <https://ehp.niehs.nih.gov/15-10569/>
- Briggs D, Corvalan C, Nurminen M. UNEP-US EPA-WHO. *Linkage methods for environment and health analysis: general guidelines*. Geneva; 1996. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/62988/1/WHO_EHG_95.26_eng.pdf
- Carlin DJ, Rider CV, Woychik R, Birnbaum LS. *Unraveling the Health Effects of Environmental Mixtures: An NIEHS Priority*. *Environ Health Perspect* 121: a6–a8 (2013). <https://ehp.niehs.nih.gov/1206182/>
- EFSA 2018a - EFSA(European Food Safety Authority) *Scientific Committee. Draft guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals*. <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/consultation/consultation/180626-1-ax1.pdf>
- EFSA 2018b - EFSA (European Food Safety Authority) *Scientific Committee. Statement on genotoxicity assessment of chemical mixtures*. <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/consultation/consultation/180626-ax2.pdf>
- Erspamer L, Ranzi A, Lauriola P, Trinca S, Comba P. Sorveglianza ambientale e sanitaria in aree prossime ad inceneritori: indicazioni emerse dal Progetto europeo *ENHance Health*. Rapporti ISTISAN 07/41. <http://www.epicentro.iss.it/focus/discariche/pdf/07-41.pdf>
- Hänninen O, Knol AB, Jantunen M et al. *Environmental Burden of Disease in Europe: Assessing Nine Risk Factors in Six Countries*. 2014. *Environ Health Perspect* 122(5):439-446 <https://ehp.niehs.nih.gov/1206154/>
- Johns DO, Stanek LW, Walker K, Benromdhane S, Hubbell B, Ross M, Devlin RB, Costa DL, Greenbaum DS. *Practical advancement of multipollutant scientific and risk assessment approaches for ambient air pollution*. *Environ Health Perspect*. 2012 Sep;120(9):1238-42. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3440129/>
- Laperuta S, Baldini M, Bartolacci S, Di Biagio K, Simeoni TV, Tiberio G, Mariottini M. Ipotesi di metodologie e indicazioni operative per la valutazione degli impatti sanitari da interventi ambientali. Novembre, 2016. http://www.arpa.marche.it/images/epidemiologia/2016_esp/2016_04_VIIAS/VIIAS%20Marche_REV1_2016_web.pdf
- Levy IJ. *Is Epidemiology the Key to Cumulative Risk Assessment?* *Risk Analysis*. 2008; 28(6). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18793279>

- Nurminen M, Nurminen T, Corvalán CF. *Methodologic issues in epidemiologic risk assessment*. *Epidemiology*. 1999 Sep;10(5):585-93. http://www.who.int/quantifying_ehimpacts/methods/en/nurminen1.pdf
- ISPRA, Linee guida per la valutazione integrata di impatto ambientale e sanitario (VIAS) nelle procedure di autorizzazione ambientale (VAS, VIA e AIA) , ISPRA Manuali e Linee guida 133/2016. <http://www.isprambiente.gov.it/it/pubblicazioni/pubblizzazioni-del-sistema-agenziale/linee-guida-per-la-valutazione-integrata-di-impatto-ambientale-e-sanitario-vias-nelle-procedure-di-autorizzazione-ambientale-vas-via-e-ai>
- OECD *Environmental, Health and Safety (EHS) Programme- Adverse Outcome Pathways, Molecular Screening and Toxicogenomics* – pubblicazioni varie: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/adverse-outcome-pathways-molecular-screening-and-toxicogenomics.htm>
- OECD (2011). *Report of the Workshop on Using Mechanistic Information in Forming Chemical Categories*. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 138. ENV/JM/MONO (2011)8.
- OECD (2013) *Users' Handbook supplement to the Guidance Document for developing and assessing Adverse Outcome Pathways (AOPs)- OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 184 [ENV/JM/MONO(2013)6, Second Edition]*.
- OECD (2016) *Users' Handbook Supplement To The Guidance Document For Developing And Assessing AOPs - OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 233 ENV/JM/MONO (2016)12*
- Ranzi A, Cordioli M. Metodi e approcci per l'analisi quantitativa. *Ecoscienza* n. 4, Sett. 2014, Anno V. https://www.arpae.it/cms3/documenti/_cerca_doc/ecoscienza/ecoscienza2014_4/ranzi_cordioli_es4_2014.pdf
- Salmaso S, D'Argenio P, Ferrante G, Minardi V. Sorveglianza epidemiologica verso nuovi obiettivi. *Epidemiol Prev* 2010; 34 (5-6): 52-55. <http://www.epiprev.it/intervento/sorveglianza-epidemiologica-verso-nuovi-obiettivi>
- Sexton K, Callahan MA, Bryan EF. *Estimating exposure and dose to characterize health risks: the role of human issue monitoring in exposure assessment*. *Environ Health Perspect*. 1995 Apr; 103(Suppl 3): 13–29. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1519013/pdf/envhper00363-0021.pdf>
- SCHER, 2012: *Scientific Committee on Health and Environmental Risks SCHER, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks SCENIHR, Scientific Committee on Consumer Safety SCCS, "Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures"*. European Union, 2012 doi:10.2772/21444
- Siroux V, Agier L, Slama R. *The exposome concept: a challenge and a potential driver for environmental health research*. *Eur Respir Rev*. 2016 Jun;25(140):124-9. <http://err.ersjournals.com/content/25/140/124.long>
- T4HIA, *Tools for Health Impact Assessment* – “Valutazione di impatto sulla salute, linee guida per proponenti e valutatori”, 2016. http://www.ccm-network.it/imgs/C_27_MAIN_progetto_416_listaFile_List11_itemName_2_file.pdf
- U.S. EPA. *Framework for Cumulative Risk Assessment*. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, Washington Office, Washington, DC, EPA/600/P-02/001F, 2003. <https://www.epa.gov/risk/framework-cumulative-risk-assessment>
- Wild CP. *Complementing the genome with an "exposome": the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1847–1850. <http://cebp.aacrjournals.org/content/14/8/1847>

- WHO (2009a). *World Health Organization. Assessment of Combined Exposures to Multiple Chemicals: Report of a WHO/IPCS International Workshop*
- WHO (2009b). *World Health Organization. Harmonization Project. DRAFT Document for Public and Peer Review. Risk Assessment of Combined Exposures to Multiple Chemicals: A WHO/IPCS Framework*
- Colacci, A. and M. Vaccari, Chapter 8: *Children's and Adult Involuntary and Occupational Exposures and Cancer, in Translational Toxicology and Therapeutics: Windows of Developmental Susceptibility in Reproduction and Cancer, M.D. Waters and C. Hughes, Editors. 2017 (forthcoming), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester.*
- Rouquié, D., et al., *Contribution of new technologies to characterization and prediction of adverse effects. Crit Rev Toxicol, 2015. 45(2): p. 172-83.*
- Goodson, W.H., 3rd, et al., *Assessing the carcinogenic potential of low-dose exposures to chemical mixtures in the environment: the challenge ahead. Carcinogenesis, 2015. 36 Suppl 1: p. S254-96.*
- Thompson, P.A., et al., *Environmental immune disruptors, inflammation and cancer risk. Carcinogenesis, 2015. 36 Suppl 1: p. S232-53.*
- Hu, Z., et al., *Assessing the carcinogenic potential of low-dose exposures to chemical mixtures in the environment: focus on the cancer hallmark of tumor angiogenesis. Carcinogenesis, 2015. 36 Suppl 1: p. S184-202.*
- Edwards, S.W., et al., *Adverse Outcome Pathways-Organizing Toxicological Information to Improve Decision Making. J Pharmacol Exp Ther, 2016. 356(1): p. 170-81.*
- Jacobs, M.N., et al., *International regulatory needs for development of an IATA for non-genotoxic carcinogenic chemical substances. ALTEX, 2016.*
- Schaap, M., et al., *Dissecting Modes of Action of Non-genotoxic Carcinogens Issues in Toxicology - Toxicogenomics in Predictive Carcinogenicity, ed. M.D.W.a.R.S. Thomas. Vol. 28. 2016: The Royal Society of Chemistry*
- Goodman, J.E., et al., *Strengthening the foundation of next generation risk assessment. Regul Toxicol Pharmacol, 2014. 68(1): p. 160-70.*
- Quercioli, D., et al., *The use of omics-based approaches in regulatory toxicology: an alternative approach to assess the no observed transcriptional effect level. Microchemical Journal, 2017.*
- Westmoreland C, et al. *21st century safety science and non-animal approaches at Unilever-improving human health and environmental risk assessment through an application of source to outcome pathways-based thinking. 2013 [cited 2017].*
- Paparella, M., A. Colacci, and M.N. Jacobs, *Uncertainties of testing methods: What do we (want to) know about carcinogenicity? ALTEX, 2016.*

ALLEGATO A – GLOSSARIO

GLOSSARY

Fonte: SCIENTIFIC COMMITTEE ON HEALTH AND ENVIRONMENTAL RISKS – (SCHER), SCIENTIFIC COMMITTEE ON EMERGING AND NEWLY IDENTIFIED HEALTH RISKS – (SCENIHR), SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER SAFETY (SCCS), Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures. European Union, 2012 doi:10.2772/21444

In the absence of internationally harmonised terminology for the assessment of mixtures and combinations of chemicals, a definition of terms as used in this opinion is provided in the following section drawn on the work of the EFSA, the US EPA, the WHO, and Kortenkamp et al. (2009):

•Aggregated exposure

Aggregated exposure includes all routes, pathways, and sources of exposure to a given chemical.

•Combined exposure

Combined exposure includes all routes, pathways, and sources of exposure to multiple chemicals.

•Concentration addition, see Dose-addition.

•Cumulative exposure

Cumulative exposure, in EU terminology, means repeated exposure to one and the same chemical from the same, similar or different sources via the same or different routes of exposure. In a wider sense, it includes combined exposure to multiple chemicals.

•Dose/concentration-addition (similar action, similar joint action, relative dose addition).

Dose/concentration-addition occurs when chemicals in a mixture act in the same way, by the same mechanism/mode of action, and differ only in their potencies. Dose/Concentration-addition implies that the

effects of exposure to a mixture of such compounds are equivalent to the effects of the sum of the potency-corrected doses of each component compound.

In ecotoxicology the most frequent exposure pattern is through the concentration of the chemical in the environmental compartment (water, air, soil), not through food. Therefore, concentration is preferred overdose.

•Effects Addition

The sum of biological responses following exposure to a mixture of substances with dissimilar modes of action, see also Independent action.

•Hazard Index (HI)

The HI is a dimensionless figure, corresponding to the sum of the ratios between the exposure level and the reference value of each component. When the RV of a certain compound is based on an effect that is not the group effect (common toxic effect), or the applied assessment factor includes adjustments not related to the endpoint of concern then the HQ can be refined by identifying the RV for the group effect and adjusting the Hazard Quotient (see below), accordingly. In this situation an adjusted HI (aHI) is then calculated.

•Hazard Quotient

The hazard quotient is the ratio of the potential exposure to the substance and the reference value. If the Hazard Quotient is calculated to be less than 1, then no adverse health effects are expected as a result of exposure.

Independent action (dissimilar action, independent joint action).

•Independent action (response addition, effects addition) occurs where the modes of action and possibly, but not necessarily, the nature and sites of toxic effects differ between the chemicals in a mixture, and one chemical does not influence the toxicity of another. The effects of exposure to such a mixture are the combination

of the effects of each component compound. Effects addition refers to the sum of biological responses; response addition means the sum of probabilistic risks (for details see section 3.3).

•Interaction

Interaction describes the combined effect of two or more chemicals as stronger (synergistic, potentiating, supra-additive) or weaker (antagonistic, inhibitive, sub-additive, infra-additive) than would be expected on the basis of Dose/Concentration- addition or response-addition.

•Low-dose

This is the dose equivalent to an environmentally-relevant (human-exposure relevant) dose. It does not mean a dose which is close to a NOEL(C) determined in an experimental study (see also no effect level (concentration)).

•Margin of exposure

The Margin of Exposure (MOE) is the ratio of the reference point RfP to the level of exposure in humans (measured or estimated).

•Margin of exposure total (MOET)

MOET is calculated as the reciprocal of the sum of the reciprocals of the individual MOEs.

•Mechanism of action

This is a molecular sequence of events that produce a specific biological outcome.

•Mixture

A chemical mixture consists of two or more substances which have been combined such that each substance retains its own chemical identity.

Mixtures of chemicals covered in this opinion include (see "Terms of Reference"):

- Substances that are mixtures themselves (multi-constituent substances, MCS; materials of unknown or variable composition, complex reaction products or biological materials, UVCB);

- Products that contain more than one chemical e.g. cosmetics, plant protection products;

- Chemicals jointly emitted from production sites, during transport processes and consumption or recycling processes;

- Several chemicals that might occur together in environmental media (water, soil, air), food items, biota and humans as a result of emission from various sources and via multiple pathways.

•Mixture effect (combination effect, joint effect)

This is the response of a biological system to a chemical mixture.

•Mode of action (MOA)

MOA is a plausible hypothesis about measurable key events by which a chemical exerts its biological effects. MOA is not intended to build a comprehensive model of a chemical's actions. MOA can include mechanisms of action, but is considered to be broader.

A common MOA is defined in accordance with the EFSA definition (EFSA 2009b) as "involving the same key events leading to an adverse health effect following interaction of the compound with its biological target[s]".

•No observed (adverse) effect level (concentration) (NO(A)EL(C))

A NO(A)EL or NO(A)EC is derived from an experimental toxicity or ecotoxicity study. A NO(A)EL or NO(A)EC does not always represent a zero-effect level (concentration) as NO(A)ELs and NO(A)ECs derived in toxicity and ecotoxicity studies may be associated with effect levels in the range of 5 to 20%. Exposures around the NOAEL(C)s should therefore not be considered as "low-dose".

•Point of departure (POD)

Often no observed adverse effect levels (NOAELs) or no observed adverse effect concentrations (NOAECs) are used as POD. Increasingly, the lower confidence limit of doses or concentrations associated with a specified increase in the incidence of an effect, so-called benchmark doses (BMD) are used as POD. For example,

a benchmark dose such as the BMD10 is the dose of the test chemical that leads to a 10% increase in effect.

•Point of departure index (PODI)

The PODI is the sum of exposures divided by the point of departure for each of the individual components.

- Response addition See “Independent action”
- Response potency factor, see Toxic equivalency factor
- Similarity

Toxicological similarity is the basis for grouping chemicals together in classes or categories. It represents a general knowledge about the action of a chemical or a mixture and can be expressed in broad terms such as at the target organ level in the body (e.g., enzyme changes in the liver). In general, the same or similar modes of action and comparable dose-response curves are assumed for similar components in a mixture. The term group of similar mixtures refers to chemically related classes of mixtures that act by a similar mode of action, have closely related chemical structures, and occur together routinely in environmental samples, usually because they are generated by the same commercial process.

•Toxic Equivalency Factor (TEF)

The TEF is similar to the Relative Potency Factor (RPF) and describes the potency of organochlorine compounds such as dioxins and mixtures of PCB congeners.

•Toxic Unit (TU)

The TU is a dimensionless figure, calculated as the ratio between the exposure level (e.g. a PEC) and a given acute or chronic endpoint (e.g. EC50 or NOEC). The toxic units for a mixture (TUm) are calculated as the sum of individual TUs.

•Zero-effect Level / Concentration

The true or absolute no-adverse effect level, i.e. level/concentration that is not associated with an adverse effect on health or environment

ALLEGATO B – TUTORIAL PER L'UTILIZZO DEL TOOL RSL

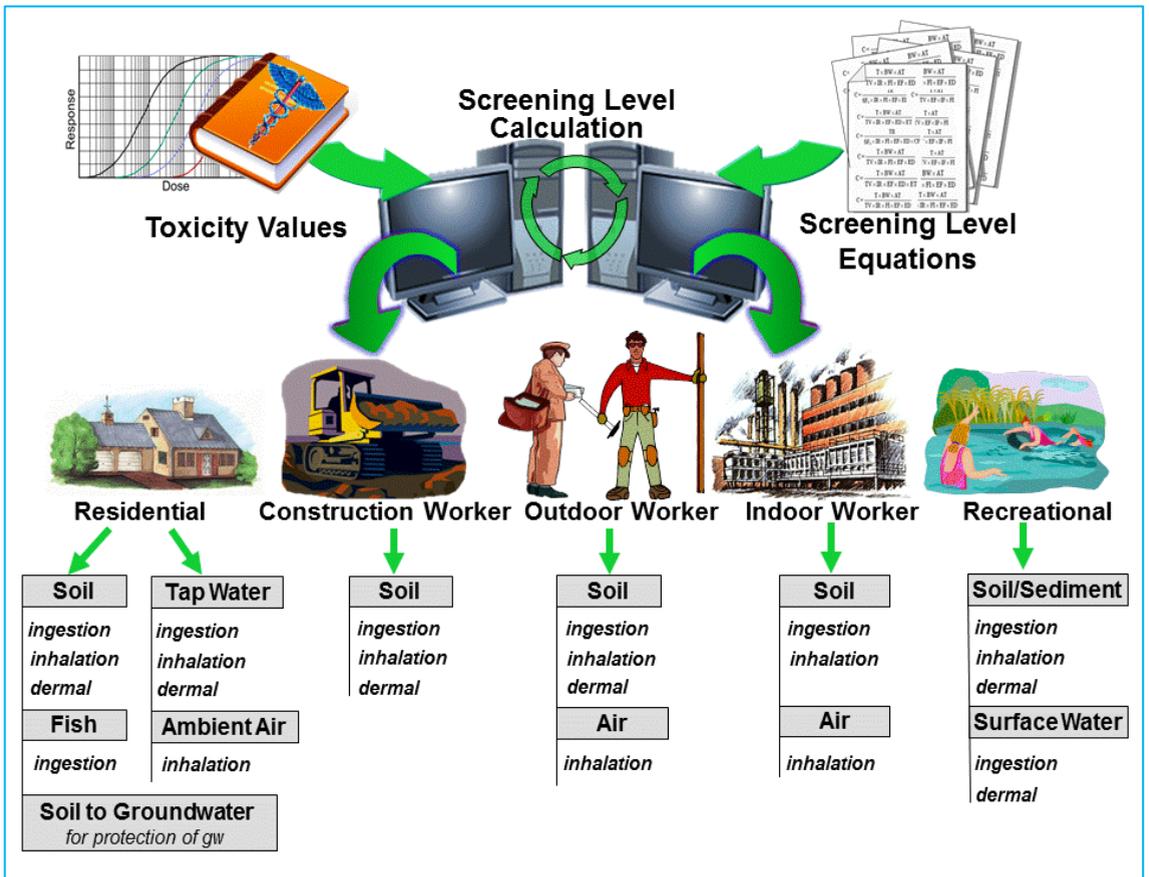


Figura A.1 Esempificazione del funzionamento del Tool

1. CONSIDERAZIONI GENERALI PER LA COMPrensIONE DEL TOOL

Le equazioni inserite nel *tool* per calcolare il rischio cancerogeno 'lifetime' (esposizione per tutta la vita) sono:

Rischio cancerogeno per via orale (R) = $DI \times SF$

Rischio cancerogeno per via inalatoria (R) = $DI \times IUR$

Rischio cancerogeno per via dermica (R) = $DI \times (SF/GIABS)$

Dove:

Il Rischio cancerogeno (R) è definito come la probabilità di casi incrementali di tumore nel corso della vita causati dall'esposizione alla sostanza, per le diverse vie di esposizione (ingestione, inalazione e contatto dermico). È un valore adimensionale.

DI = *Daily Intake* (Intake giornaliero) espressa in mg/Kg-die o in $\mu\text{g}/\text{m}^3$. È la dose giornaliera che può essere assunta dai recettori umani come bersaglio della matrice contaminata. La dose assunta dipende dalla concentrazione della sostanza nelle matrici ambientali contaminate (aria, acqua, suolo, alimenti) e dai parametri di esposizione umana. Può essere definita come CDI (*Chronic Daily Intake*) o SDI (*Subchronic Daily Intake*) in base alla durata dell'esposizione.

SF = *Slope Factor* (Fattore di pendenza) indica la pendenza della curva dose-risposta ossia il potenziale cancerogeno di una certa sostanza ($\text{mg}/\text{Kg}\text{-die}$)⁻¹.

IUR = *Inhalation Unit Risk* rappresenta il rischio addizionale di sviluppare una neoplasia se esposti a $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ di sostanza per tutta la vita. È espresso in ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)⁻¹.

GIABS = *Gastro-Intestinal Absorption Factor* (Fattore di Assorbimento gastrointestinale); è chimico-specifico e adimensionale.

Le equazioni inserite nel *tool* per calcolare il rischio non-cancerogeno sono:

HQ per via orale = DI/RfD

HQ per via inalatoria = DI/RfC

HQ per via dermica = $DI/(RfD \times GIABS)$

Il Rischio non cancerogeno HQ (*Hazard Quotient* – Quoziente di pericolo) è dato dal rapporto tra il livello di esposizione di una data sostanza (DI) ed il valore di RfD o di RfC di tale sostanza.

DI = *Daily Intake* (Intake giornaliero) espressa in mg/Kg-die o in $\mu\text{g}/\text{m}^3$. È la dose giornaliera che può essere assunta dai recettori umani come bersaglio della matrice contaminata. La dose assunta dipende dalla concentrazione della sostanza nelle matrici ambientali contaminate (aria, acqua, suolo, alimenti) e dai parametri di esposizione umana. Può essere definita come CDI (*Chronic Daily Intake*) o SDI (*Subchronic Daily Intake*) in base alla durata dell'esposizione.

RfD = *Reference Dose* (Dose di riferimento), è espressa in mg/kg-die.

RfC = *Reference Concentration* (Concentrazione di riferimento), è espressa in $\text{mg}/\text{m}^3\text{-die}$.

GIABS = *Gastro-Intestinal Absorption Factor* (Fattore di Assorbimento gastrointestinale); è chimico-specifico e adimensionale.

1.1 Esposizione

Il rischio sia cancerogeno sia non-cancerogeno o gli *Screening level* sono calcolati utilizzando parametri di esposizione di *default* e fattori che rappresentano le condizioni RME (*Reasonable Maximum Exposure* – Esposizione Massima Ragionevole) per le esposizioni croniche e sono basati sul metodo fornito dal documento di EPA *Risk Assessment Guidance for Superfund, Part B Manual* <https://semspub.epa.gov/work/03/2218723.pdf> e nei documenti *Soil Screening Guidance* del 1996 <https://semspub.epa.gov/work/03/2218760.pdf> e del 2002 <https://semspub.epa.gov/work/03/2218758.pdf>.

Se sono disponibili informazioni sito-specifiche, è possibile modificare i parametri di *default* inseriti nelle equazioni per poter calcolare rischi o *Screening level* sito-specifici.

1.2. Parametri Tossicologici

Secondo quanto riportato da EPA al link <https://semspub.epa.gov/work/03/2218797.pdf>, esiste una gerarchia di fonti per quanto riguarda i valori dei parametri tossicologici inseriti in questo *tool*.

I parametri di tossicità cronica e subcronica, provenienti dalle fonti sotto riportate e nell'ordine elencato, sono quelli utilizzati di default nelle tabelle e nel *tool*:

1. EPA IRIS (*Integrated Risk Information System*). <https://www.epa.gov/iris>

2. PPRTV (*Provisional Peer Reviewed Toxicity Values*). Sono valori provvisori che vengono eliminate quando è disponibile un profilo su IRIS. PPRTV conserva i valori di tossicità subcronica, se non vengono riportati nel profilo di IRIS. <https://hhpprtv.ornl.gov/>

3. MRL (*Minimal Risk Levels*) di ATSDR (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*). MRL rappresenta una stima dell'esposizione giornaliera ad una sostanza pericolosa a cui un individuo può essere esposto quotidianamente senza un apprezzabile rischio di effetti avversi per la salute, per una determinata durata di esposizione. <https://www.atsdr.cdc.gov/mrls/index.asp>

4. RELS (*Chronic Reference Exposure Levels*) <http://oehha.ca.gov/air/general-info/oehha-acute-8-hour-and-chronic-reference-exposure-level-rel-summary>

pubblicati da OEHHA (*California Environmental Protection Agency Office of Environmental Health Hazard Assessment's*) ed i *Cancer Potency Value* <https://semspub.epa.gov/work/03/2229586.pdf>, con un aggiornamento del 2011 sulle diossine, furani e PCB DL <http://oehha.ca.gov/media/downloads/crn/appendixa.pdf>. Nel 2014 sono stati aggiornati alcuni parametri tossicologici e cancerogeni <https://www.arb.ca.gov/toxics/healthval/contable.pdf>

5. Nel 2009 è stata aggiunta una nuova fonte di parametri tossicologici: '*screening toxicity values*' in appendice ad alcune valutazioni PPRTV. Questa possibilità viene riportata prima dei valori di HEAST perché più recenti ed utilizzano la metodologia di derivazione di EPA. Quando viene utilizzato questo valore è presente una 'X' che sta per Appendice, rispetto alla 'P' che sta per PPRTV.

6. HEAST (*Health Effects Assessment Summary Tables for Superfund*). I valori di HEAST sono rimossi se è disponibile un documento di PPRTV. <https://epa-heast.ornl.gov/>

REFERENCE DOSE

Le valutazioni tossicologiche effettuate da EPA (IRIS o PPRTV) definiscono la RfD (*Reference Dose*) come una stima della quantità massima di sostanza che può essere ingerita giornalmente e per tutta la vita senza comportare apprezzabili rischi per la salute umana.

La RfD viene derivata a partire da un NOAEL, LOAEL o dalla *benchmark dose*, ai quali vengono applicati dei fattori di sicurezza che tengono conto delle incertezze sperimentali. Sono disponibili differenti RfD in base all'effetto critico (tossicità per lo sviluppo o altro) o alla durata dell'esposizione (cronica o subcronica).

Il rischio o gli *Screening level* sono calcolati utilizzando gli MRL di ATSDR al pari dell'RfD.

Le RfD per esposizioni di tipo cronico sono state sviluppate per essere protettive nei confronti di esposizioni a sostanze chimiche nel lungo periodo.

L'RfD per esposizioni di tipo cronico per via orale dovrebbe essere utilizzata per valutare i potenziali effetti non cancerogeni associati a periodi di esposizione superiori a 7 anni (indicativamente il 10% della durata della vita). ATSDR, invece, definisce l'esposizione cronica quella superiore a 1 anno. Il *tool* richiede all'utente di scegliere tra i valori di tossicità cronica e subcronica.

Le RfD per esposizioni subcroniche sono state sviluppate per essere protettive nei confronti di esposizioni a sostanze chimiche nel breve periodo. L'RfD per esposizioni di tipo subcronico per via orale dovrebbe essere utilizzata per valutare i potenziali effetti non cancerogeni associati a periodi di esposizione compresi tra le 2 settimane ed i 7 anni. ATSDR, invece, definisce l'esposizione subcronica quella inferiore a 1 anno. Il *tool* richiede all'utente di scegliere tra i valori di tossicità cronica e subcronica.

REFERENCE CONCENTRATION

Le valutazioni tossicologiche effettuate da EPA (IRIS o PPRTV) definiscono la RfC (*Reference Concentration*) come una stima della quantità massima di sostanza che può essere inalata giornalmente, per tutta la vita, senza comportare apprezzabili rischi per la salute umana.

RfC viene derivata a partire da un NOAEL, LOAEL o dalla *benchmark dose*, ai quali vengono applicati dei fattori di sicurezza che tengono conto delle incertezze sperimentali. Sono disponibili differenti RfC in base all'effetto critico (tossicità per lo sviluppo o altro) o alla durata dell'esposizione (cronica o subcronica).

Il rischio o gli *Screening level* sono calcolati utilizzando gli MRL (per inalazione-cronica) di ATSDR al pari dell'RfC (cronica); MRL (per inalazione-intermedia) al pari di RfC subcronica e i REL (cronici) al pari di RfC cronica.

Le RfC per esposizioni di tipo cronico sono state sviluppate per essere protettive nei confronti di

esposizioni a sostanze chimiche nel lungo periodo (≥ 7 anni). ATSDR, invece, definisce l'esposizione cronica quella superiore a 1 anno.

RfC (cronica) è espressa in mg/m^3 . I REL sono espressi in $\mu\text{m}/\text{m}^3$ e devono essere convertiti in mg/m^3 per essere utilizzati nel *tool*. Alcuni MRL sono espressi in ppm e devono essere convertiti in mg/m^3 .

Il *tool* richiede all'utente di scegliere tra i valori di tossicità cronica e subcronica.

L'RfC per esposizioni di tipo subcronico sono state sviluppate per essere protettive nei confronti di esposizioni a sostanze chimiche nel breve periodo. L'RfC per esposizioni di tipo subcronico per via inalatoria dovrebbe essere utilizzata per valutare i potenziali effetti non cancerogeni associati a periodi di esposizione compresi tra le 2 settimane ed i 7 anni. ATSDR, invece, definisce l'esposizione subcronica quella inferiore a 1 anno.

RfC (subcronica) è espressa in mg/m^3 . I REL sono espressi in $\mu\text{m}/\text{m}^3$ e devono essere convertiti in mg/m^3 per essere utilizzati nel *tool*. Alcuni MRL sono espressi in ppm e devono essere convertiti in mg/m^3 .

Il *tool* richiede all'utente di scegliere tra i valori di tossicità cronica e subcronica.

SLOPE FACTOR

Lo *Slope Factor* o potere cancerogeno di una sostanza è il valore più comunemente utilizzato per stimare il potenziale rischio cancerogeno. SF rappresenta la probabilità incrementale di sviluppare una neoplasia se un individuo è esposto per tutta la vita (assunta pari a 70 anni) ad una dose unitaria di sostanza. Esso corrisponde alla tangente al tratto rettilineo della curva dose-risposta, per esposizione alle basse dosi alle sostanze cancerogene e corrisponde al limite di confidenza del 95%. In altri termini è la probabilità che il rischio effettivo possa essere più alto di quello stimato è pari al solo 5%. La SF per via orale è espressa in $(\text{mg}/\text{Kg-die})^{-1}$. Se è disponibile, si utilizza il valore di SF pubblicato da EPA o da PPRTV. ATSDR non deriva i valori di cancerogenicità per le sostanze. Alcuni valori di SF inseriti in questo *tool*

derivano dall'EPA California (Cal EPA). Alcuni valori possono essere presenti in Appendice alle valutazioni PPRTV. Quando il valore di SF non è disponibile nelle precedenti fonti si utilizza HEAST.

INHALATION UNIT RISK

Lo *Unit Risk* (IUR) per inalazione è definita come il rischio cancerogeno incrementale stimato risultante dall'esposizione continuativa per tutta la vita ad una sostanza con concentrazione pari a $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in aria.

Se è disponibile, si utilizza il valore di IUR pubblicato da EPA o da PPRTV. ATSDR non deriva i valori di cancerogenicità per le sostanze. Alcuni valori di IUR inseriti in questo *tool* derivano dall'EPA California (Cal EPA). Alcuni valori possono essere presenti in Appendice alle valutazioni PPRTV. Quando il valore di IUR non è disponibile nelle precedenti fonti si utilizza HEAST.

FATTORI DI TOSSICITÀ EQUIVALENTI (TEF)

Alcune sostanze chimiche che appartengono alla stessa famiglia mostrano caratteristiche tossicologiche simili, ma si differenziano per la loro tossicità relativa. Perciò deve essere introdotto un fattore di tossicità equivalente. I TEF *Toxic Equivalence Factors* (Fattori di Tossicità equivalente) sono stati introdotti per descrivere la tossicità dei congeneri dei composti organoclorurati, come le diossine e i PCB dioxin-like (PCB-DL). Generalmente PCDD/PCDF e PCB non vengono rilevati nelle diverse matrici come singoli composti, ma come miscele complesse dei diversi congeneri aventi differente

tossicità. Per esprimere la tossicità dei singoli congeneri è stato, quindi, introdotto il concetto di fattore di tossicità equivalente. I TEF si basano sulla considerazione che PCDD, PCDF e PCB diossina simili sono composti strutturalmente simili che presentano il medesimo meccanismo di azione (attivazione del recettore Ah) e producono effetti tossici simili. I TEF vengono calcolati confrontando l'affinità di legame dei vari composti organoclorurati per il recettore Ah, rispetto a quella della 2,3,7,8-TCDD (2,3,7,8- tetraclorodibenzodiossina), considerato il congenere più tossico e quindi di riferimento. Per esprimere la concentrazione complessiva di PCDD/PCDF e PCB diossino-simili nelle diverse matrici si è introdotto il concetto di tossicità equivalente (TEQ), che si ottiene sommando i prodotti tra i valori TEF dei singoli congeneri e le rispettive concentrazioni, espresse con l'unità di misura della matrice in cui vengono ricercate.

$$\text{Total TEQ} = \sum C_i \times \text{TEF}_i$$

I TEF dei PCDD/F e PCB-DL sono riportati in tabella A.1.

Nel 2010 USEPA ha aggiornato i propri TEF per i composti diossino-simili adottando i TEF aggiornati dal WHO nel 2005

http://www.who.int/ipcs/assessment/tef_values.pdf (USEPA, 2010)

<https://semspub.epa.gov/work/03/2218714.pdf> (van den Berg et al., 2006)

<https://semspub.epa.gov/work/03/2218791.pdf>.

Tabella A.1 Fattori di Tossicità Equivalenti (TEF) delle diossine		
	Diossine e Furani	TEF
Dibenzo-p-diossine clorate	2,3,7,8-TCDD	1
	1,2,3,7,8-PeCDD	1
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01
	OCDD	0.0003

Dibenzofurani clorurati			
		2,3,7,8-TCDF	0.1
		1,2,3,7,8-PeCDF	0.03
		2,3,4,7,8-PeCDF	0.3
		1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1
		1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1
		2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01
		OCDF	0.0003
PCB			
	N. IUPAC	Struttura	TEF
Non-orto	77	3,3',4,4'-TetraCB	0.0001
	81	3,4,4',5'-TetraCB	0.0003
	126	3,3',4,4',5'-PeCB	0.1
	169	3,3',4,4',5,5'-HxCB	0.03
Mono-orto	105	2,3,3',4,4'-PeCB	0.00003
	114	2,3,4,4',5'-PeCB	0.00003
	118	2,3',4,4',5'-PeCB	0.00003
	123	2',3,4,4',5'-PeCB	0.00003
	156	2,3,3',4,4',5'-HxCB	0.00003
	157	2,3,3',4,4',5'-HxCB	0.00003
	167	2,3',4,4',5,5'-HxCB	0.00003
	189	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	0.00003
Di-orto	170	2,2',3,3',4,4',5'-HpCB	0.0001
	180	2,2',3,4,4',5,5'-HpCB	0.00001

Anche gli IPA (Idrocarburi policiclici aromatici) cancerogeni mostrano caratteristiche tossicologiche simili e hanno lo stesso meccanismo di tossicità, quindi l'approccio TEF può essere utilizzato per quantificare il rischio cancerogeno associato all'esposizione a miscele di IPA (USEPA 1993). Il contaminante indice degli IPA è il benzo(a)pirene (BaP). La metodologia per il calcolo dei TEF per gli IPA cancerogeni è la stessa utilizzata per il calcolo dei TEF per i PCDD/F.

cancerogeno è moltiplicato per il suo TEF per ottenere la concentrazione tossica equivalente di BaP (TEQ). I TEQ per tutti gli IPA presenti sono sommati per esprimere la dose totale della miscela in termini di una concentrazione equivalente di BaP.

I TEF del BaP sono riportati nella tabella A.2.

Per determinare il rischio cancerogeno totale di una miscela di IPA, la concentrazione di ogni IPA

Tabella A.2. Fattori di Tossicità Equivalenti (TEF) delle diossine	
Congeneri - IPA	TEF
Benzo(a)pirene	1.0
Benzo(a)antracene	0.1
Benzo(b)fluorantene	0.1
Benzo(k)fluorantene	0.01
Crisene	0.001
Dibenzo(a,h)antracene	1.0
Indeno(1,2,3-c,d)pirene	0.1

1.3 Parametri chimico-specifici

I parametri chimici sono necessari per il calcolo del rischio. Viene riportato un elenco di fonti di parametri chimici utilizzate nel tool:

1. *Estimation Programs Interface (EPI) Suite TM* sviluppata da US EPA. Questi programmi stimano differenti proprietà chimico-fisiche.

<https://www.epa.gov/tsca-screening-tools>

2. *EPA Supplemental Guidance for Developing Soil Screening Levels for Superfund Sites (SSL)* e Appendice A-C – Proprietà chimiche e Benchmarks Regolamentatori e per la Salute Umana per il calcolo degli SSL. Tabella C-1: proprietà chimico-specifiche usate nel calcolo degli SSL e Tabella Table C-4: Valori della Kd per i metalli (L/kg) in funzione del pH.

<https://www.epa.gov/superfund/superfund-soil-screening-guidance>

3. WATER8, sostituito dal WATER9.

<https://www3.epa.gov/ttn/chieff/software/water/index.htm>

4. *Syracuse Research Corporation (SRC). 2005. CHEMFATE Database.* SRC. Syracuse, NY. Ultimo accesso gennaio 2017.

<http://www.srcinc.com/what-we-do/environmental/scientific-databases.html>

5. *Syracuse Research Corporation (SRC). 2005. PHYSPROP Database.* SRC. Syracuse, NY. Ultimo accesso gennaio 2017.

<http://esc.syrres.com/fatepointer/search.asp>

6. *Yaws' Handbook of Thermodynamic and Physical Properties of Chemical Compounds.* Knovel, 2003.

<http://www.knovel.com>

7. Baes, C.F. 1984. *Oak Ridge National Laboratory. A Review and Analysis of Parameters for Assessing Transport of Environmentally Released Radionuclides through Agriculture.*

<http://homer.ornl.gov/baes/documents/ornl5786.html>.

I valori sono anche disponibili in *Superfund Chemical Data Matrix (SCDM)*

<http://www.epa.gov/superfund/sites/npl/hoursres/tools/scdm.htm>

8. *NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards (NPG), NIOSH Publication No. 97-140, February 2004.*

<http://www.cdc.gov/niosh/npg/npg.html>

9. *CRC Handbook of Chemistry and Physics.* (Varie edizioni)

<http://hbcponline.com/faces/contents/ContentsSearch.xhtml;jsessionid=210BC08173C894799F1CA32848F7FF59>

10. *Perry's Chemical Engineers' Handbook* (Varie edizioni). McGraw-Hill. Versione disponibile Online:

<http://www.knovel.com>. Green, Don W.; Perry, Robert H. (2008).

11. *Lange's Handbook of Chemistry* (Varie edizioni). Versione disponibile Online: <http://www.knovel.com>. Speight, James G. (2005). McGraw-Hill.

12. U.S. EPA 2004. *Risk Assessment Guidance for Superfund Volume I: Human Health Evaluation Manual (Part E, Supplemental Guidance for Dermal Risk Assessment) Final*. OSWER 9285.7-02EP. July 2004. Documenti: https://epa-prgs.ornl.gov/chemicals/help/documents/RAGS_E_EPA_540R99005.pdf e sito <https://www.epa.gov/risk/risk-assessment-guidance-superfund-rags-part-e>

13. *The ARS Pesticide Properties Database: U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2009.* <https://www.ars.usda.gov/northeast-area/beltsville-md/beltsville-agricultural-research-center/adaptive-cropping-systems-laboratory/docs/ppd/pesticide-properties-database/>

14. Il sito web di *PubChem* pubblicato dal *National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD 20894, USA.* <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

15. Il sito web di *Hazardous Substance Data Bank (HSDB)* pubblicato dalla *U.S. National Library of Medicine 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD 20894 National Institutes of Health, Health & Human Services.* <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

16. *The Agency for Toxic Substances & Disease Registry (ATSDR) Toxicological Profiles. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 4770 Buford Hwy NE Atlanta, GA 30341.* <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/Index.asp>

1.4 Gerarchia dei parametri

Ordine gerarchico dei parametri, sia per le sostanze organiche, sia per quelle inorganiche.

1. Coefficiente di ripartizione del carbonio organico (K_{oc}) (L/kg). Non applicabile ai composti inorganici. Valori stimati EPI; SSL, valori stimati Yaw; valori sperimentali EPI; valori sperimentali Yaw. L'eccezione a questa gerarchia sono le 9 sostanze organiche ionizzabili identificate nella tabella 42 della Parte 5 del *Soil Screening Guidance Technical Background Document*: <https://semspub.epa.gov/work/11/175235.pdf>; l'appendice L riporta i dettagli della derivazione di questi valori. <https://www.epa.gov/superfund/superfund-soil-screening-guidance>
2. Coefficiente di permeabilità dermica (K_p) (cm/hour). Valori stimati EPI; RAGS parte E.
3. *Effective Predictive Domain* (EPD). Calcolata sulla base dei RAGS parte E, criteri per for MW e log Kow.
4. Frazione assorbita (FA). RAGS Part E Mostrato in B-3; calcolata.
5. Peso molecolare (MW) (g/mole). PHYSPROP; EPI; CRC89; PERRY; LANGE; YAWS
6. Solubilità in acqua (S) (mg/L a 25 °C). PHYSPROP valori sperimentali; EPI valori sperimentali; CRC; YAWS valori sperimentali; PERRY; LANGE; PHYSPROP valori sperimentali; Yaws valori sperimentali; EPI valori stimati (WATERNT v.1.01, WSKOWWIN v1.42 rispettivamente).
7. Costante di Henry (H' a 25 °C). PHYSPROP valori sperimentali; EPI valori sperimentali; YAWS valori sperimentali; PHYSPROP valori estrapolati; PHYSPROP valori stimati; EPI valori stimati di gruppo; EPI valori stimati di legame; PHYSPROP.
8. Costante di Henry (atm-m³/mole a 25 °C). PHYSPROP valori sperimentali; EPI valori sperimentali; YAWS valori sperimentali; PHYSPROP valori estrapolati; PHYSPROP valori stimati; EPI valori stimati di gruppo; EPI valori stimati di legame; PHYSPROP.

9. Diffusività in aria (D_{ia}) (cm^2/s). equazioni WATER9.
10. Diffusività acqua (D_{iw}) (cm^2/s). equazioni WATER9.
11. Fattore di bioconcentrazione nei pesci (BCF) (BCF) (L/kg). EPI valori sperimentali; EPI valori stimati.
12. Coefficiente di ripartizione suolo-acqua (K_d) (cm^3/g). SSL; BAES.
13. Densità (g/cm^3). CRC; PERRY; LANGE; IRIS.
14. Punto di fusione (MP °C). PHYSPROP; EPI valori sperimentali; CRC; Perry; Lange; EPI valori stimati.
15. Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua LogKow. EPI valori sperimentali; YAWS valori sperimentali; EPI valori stimati; Yaws valori stimati.
16. Fattore di trasferimento suolo-latte (BV_{wet} (kg (suolo) / kg (massa fresca)). BV_{wet} è determinate da $7.9 \times 10^{-9} K_{ow}$, presa da McKone (1994).
17. Fattore di trasferimento suolo-latte (BV_{dry} (die (suolo) / kg (massa secca)). I valori BV_{dry} sono stati derivati da BV_{wet} , assumendo che la massa secca sia il 20% di quella fresca.
18. Fattore di trasferimento suolo-carne (BV_{wet} (kg (suolo) / kg (massa fresca)). BV_{wet} è determinate da $2.5 \times 10^{-9} K_{ow}$, presa da McKone (1994).
19. Fattore di trasferimento suolo-carne (BV_{dry} (die (suolo) / kg (massa secca)). I valori BV_{dry} sono stati derivati da BV_{wet} , assumendo che la massa secca sia il 20% di quella fresca.
20. Fattore di trasferimento suolo-piante (BV_{wet} (kg (suolo) / kg (massa fresca)). BV_{wet} è determinate da $7.7 \times K_{ow}^{-0.58}$, presa da McKone (1994).
21. Fattore di trasferimento suolo-piante (BV_{dry} (kg (suolo) / kg (massa secca)). I valori BV_{dry} sono stati derivati da BV_{wet} , assumendo che la massa secca sia il 20% di quella fresca.

2. UTILIZZARE LE TABELLE SL

Il *tool* mette a disposizione delle tabelle generiche (<https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-generic-tables-may-2016>) in assenza di dati di valutazione dell'esposizione sito-specifici.

Questi dati possono essere utilizzati per:

- Dare delle priorità a più siti o a delle aree di interesse all'interno di edifici o ai recettori esposti
- Stabilire i limiti di rilevabilità basati sul rischio per i COPCs (contaminanti di potenziale interesse)
- Individuare siti di indagine futura e sforzi di Risk Assessment
- Identificare la contaminazione per la quale è necessario il *cleanup*
- Identificare siti o loro porzioni per i quali non sono richiesti indagini o azioni ulteriori

I rischi vengono calcolati per più vie di esposizione e per più sostanze chimiche, sia cancerogeni, sia non-cancerogeni. Di *default* il valore del rischio per le sostanze cancerogene è pari a 10^{-6} , per le sostanze non l'HQ è pari a 1.

2.1 Sviluppare un modello concettuale del sito

Quando si usano i rischi, le vie di esposizione di interesse e le condizioni del sito dovrebbero essere le stesse di quelle considerate nel *tool* (N.B. le destinazioni future del sito potrebbero non essere le stesse delle attuali), perciò è necessario sviluppare un modello concettuale del sito per identificare le probabili fonti di contaminanti nell'area, le vie di esposizione e i potenziali recettori. Queste informazioni possono essere utilizzate per determinare l'applicabilità dei rischi al sito in studio e la necessità di informazioni aggiuntive. Il diagramma del modello concettuale del sito rappresenta un *linkage* tra le fonti di contaminanti, i meccanismi di rilascio, i percorsi e le vie di esposizione e i recettori, sulla base di dati storici. (https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/sl_csm_3.gif)

Si sintetizza il problema della contaminazione e, alla fine, un modello concettuale del sito dovrebbe rispondere alle seguenti domande:

- C'è la possibilità di utilizzo del suolo differente, rispetto a ciò che viene calcolato nel *tool*?
- Ci sono altre vie di esposizione per l'uomo di cui non si è tenuto conto nel *tool*?
- Ci sono insolite condizioni del sito (ampie aree di contaminazione, alti livelli di polveri disperse, possibilità di contaminazione dell'aria *indoor*)?

Per rispondere a queste eventuali domande, il rischio deve essere agguistato.

2.2 Background

Prima di applicare i rischi è necessario sapere quali sono i valori di *background* naturali.

2.3 Potenziali problemi

Come qualsiasi strumento di screening basato sul rischio, esiste la possibilità di un'errata applicazione. Nella maggior parte dei casi, questo si traduce con il non comprendere la destinazione d'uso dei rischi. Al fine di evitare l'utilizzo errato dei rischi, ciò che è riportato di seguito dovrebbe essere evitato:

- Applicare i rischi ad un sito senza aver adeguatamente sviluppato un modello concettuale che identifichi le vie di esposizione e gli scenari di esposizione.
- Non considerare, se appropriato, gli effetti dovuti alla presenza di più contaminanti.
- L'utilizzo di valori di rischio datati (pur essendo disponibili valori tossicologici più recenti)
- L'applicazione di rischi inadeguati o la modifica di un rischio cancerogeno senza considerare il suo effetto non-cancerogeno, o viceversa.
- Non eseguire lo screening aggiuntivo per percorsi di esposizione non inclusi in tali rischi.

<https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-generic-tables-may-2016>

2.4 Equazioni per il calcolo degli SL

Per il calcolo degli SL o del rischio viene considerata l'esposizione umana ai contaminanti presenti nelle diverse matrici ambientali (aria, acqua potabile, suolo) e per diverse destinazioni d'uso del suolo (residenziale, ricreativo, industriale).

I diversi scenari di esposizione sono:

- Residenziale, a cui corrispondono recettori umani, sia adulti sia bambini;
- Ricreativo, a cui corrispondono recettori umani, sia adulti sia bambini;
- Industriale/Commerciale, a cui corrispondono recettori esclusivamente adulti.

Uno scenario di esposizione è considerato Residenziale quando al suo interno sono presenti delle abitazioni che sono o potranno essere abitate. In questo territorio, i residenti sono in frequente contatto con gli inquinanti presenti, l'assunzione di sostanze inquinanti è giornaliera e a lungo termine con possibilità quindi di generare elevati rischi di esposizione.

Nello scenario di esposizione Commerciale/Industriale, le persone esposte al maggior rischio di contaminazione sono i lavoratori presenti nel sito, i quali sono esposti alla contaminazione con frequenza giornaliera. Svolgendo attività fisiche impegnative i lavoratori presenti in sito saranno maggiormente esposti a determinate vie espositive.

Per Ricreativo si intende definire un qualsiasi terreno in cui la gente spende un limitato periodo di tempo giocando, nuotando, facendo la doccia...Dal momento che possono essere incluse attività molto differenti tra loro è necessaria una descrizione sito-specifica per definire i *range* di valore dei vari coefficienti di esposizione, che possono essere anche molto differenti tra loro.

Le equazioni inserite nel *tool* per il calcolo degli SL e del rischio sono disponibili al *link*:

<https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-generic-tables-may-2016>



R SNPA
18 2021

