

Convegno «Inquinamento e Salute»: valutazione degli impatti strategia di comunicazione

Bergamo, 02/10/2015

ESPERIENZE NELLA VALUTAZIONE E GESTIONE DEL RISCHIO CHIMICO IN CONDIZIONI DI CARENZA CONOSCITIVA

Federico Maria Rubino e Claudio Colosio



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI MILANO



Azienda Ospedaliera
SAN PAOLO
POLO UNIVERSITARIO



WHO Collaborating
Centre
for Occupational Health

Esempi di Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

Strategie conoscitive e di intervento



Risk Assessment: la procedura standard

per la Valutazione di Rischio

**Raccolta delle informazioni generali:
proprietà chimiche, proprietà tossicologiche**

**Raccolta dei dati per la stima del rischio:
Consumi di acqua potabile, dati tossicologici**

STIME & CALCOLI

ESITO DELLA VALUTAZIONE

Richieste di collaborazione da parte della ASL di Bergamo, 2008-2015

Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

Esperienze recenti

nell'acqua potabile:

- **Cromo (VI)**
- **Contaminanti organici inconsueti**

esempi ...



Esperienze recenti

In un vortice di complessità crescente:

- Cromo (VI)
- Contaminanti organici inconsueti

Esiste un valore limite
Stima della dose

Non esiste un valore limite
Esistono informazioni tossicologiche
Stima della dose

Non esiste un valore limite
NON esistono informazioni tossicologiche
Stima della dose

Correva l'anno ... 2010

Valutazione del rischio tossicologico conseguente alla presenza di Cromo(VI) nelle acque potabili del territorio delle ASL di Bergamo

Claudio Colosio, Federico Maria Rubino



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI MILANO



Azienda Ospedaliera
SAN PAOLO
POLO UNIVERSITARIO



WHO Collaborating
Centre
for Occupational Health

Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

Premessa

- Campionamenti di acqua potabile effettuati nel territorio della ASL di Bergamo
- Concentrazione di Cromo totale variabile tra 5 e 20 µg/L
- Limite di potabilità per il Cromo totale di 50 µg/L (D.Lsg 31/2001)

Sono ipotizzabili rischi per la salute della popolazione generale a livelli inferiori ?

1- verificare il rischio tossicologico anche nel caso in cui i limiti per la potabilità siano rispettati;

2- verificare se si evidenzia un rischio tossicologico per inalazione o per contatto con le mucose di aerosol contaminati da Cromo.

Richieste di collaborazione da parte della ASL di Bergamo, 2008-2015

Esposizione per via inalatoria a Cr(VI) presente nelle acque per uso civile

La doccia di pulizia giornaliera rappresenta l'evento nel quale si verifica la massima esposizione ad aerosoli di acqua nell'ambito dell'intera giornata.

Condizioni peggiori di esposizione a Cr(VI)

- tutto il Cromo è presente nell'acqua come Cr(VI) in forma interamente solubile (la peggiore ipotesi)
- una persona di kg 50 (piuttosto minuta)
- doccia con l'uso di 80 litri di acqua (quantità standard);
- esposta a 20 µg/L (la più alta misurata) di Cr(VI)
- in un locale di 20 metri cubi (improbabilmente piccolo), privo di aereazione (improbabile)
- una permanenza di 1 ora nel locale (improbabilmente lunga).
- L'uso della doccia comporta l'aerosolizzazione dell'1% (quantità default) del volume di acqua usata
- la persona compie 18 atti respiratori per minuto (quasi affannosamente), inalando 380 litri di aria in un'ora (0,38m³/h).



Richieste di collaborazione da parte della ASL di Bergamo, 2008-2015

Esposizione per via inalatoria a Cr(VI) presente nelle acque per uso civile

... equazioni di scenario ...

1 - Calcolo della concentrazione di Cr (VI) nell'aerosol

$$Cr_{\text{aerosol}} = [Cr]_{\text{H}_2\text{O}} * V_{\text{doccia}} * \text{fraz. aerosol (\%)}$$

2 - Calcolo della concentrazione aerodispersa di Cr(VI)

$$[Cr]_{\text{aerodisp}} = Cr_{\text{aerodisp}} / V_{\text{locale}}$$

3- Calcolo della dose di Cr (VI) assunta per via inalatoria

$$V_{\text{aria resp doccia}} = V_{\text{aria resp/ora}} * \text{durata doccia}$$

4 - Calcolo della dose di Cr (VI) assunta per via inalatoria

$$[Cr]_{\text{resp.}} = V_{\text{aria resp.doccia}} * [Cr]_{\text{aria}}$$

5 - Calcolo della dose di Cr (VI) assunta per via inalatoria

$$\text{Dose ass} = [Cr]_{\text{resp}} / bw$$

Richieste di collaborazione da parte della ASL di Bergamo, 2008-2015

Esposizione per via inalatoria a Cr(VI) presente nelle acque per uso civile

... al termine dei calcoli ...

Confronto con i valori di riferimento

$$[\text{Cr}] \text{ aria} = 16\mu\text{g} / 0,8 \text{ m}^3 = 17,8\mu\text{g}/\text{m}^3$$

$$[\text{Cr}] \text{ aria} = 16\mu\text{g} / 20 \text{ m}^3 = 0,8\mu\text{g}/\text{m}^3$$

Valore limite di soglia TLV-TWA (ACGIH) = $50\mu\text{g}/\text{m}^3$

IL FATTORE DI SICUREZZA E' COMPRESO TRA 6 E 60 VOLTE

Ad abundantiam ...

Dose giornaliera assorbita = $0,304 \mu\text{g}$

LARN Cr = 25-35 microgrammi/die per pop.adulta

FATTORE DI SICUREZZA rispetto ad un sovradosaggio dell'assunzione di Cr con la Dieta di OLTRE 100 VOLTE

Correva l'anno ... 2010

Valutazione del rischio tossicologico conseguente all'assunzione di acqua potabile contaminata da dimetridazolo

Claudio Colosio, Federico Maria Rubino

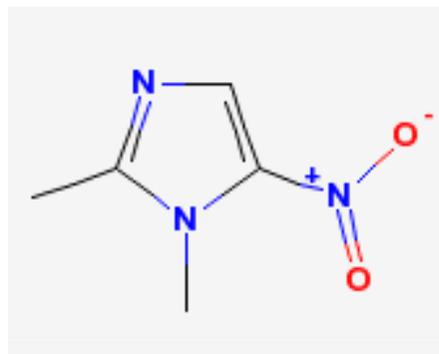
- Campionamenti di acqua potabile nel territorio della ASL di Bergamo;
- Misurato in due località il dimetridazolo a concentrazioni variabili tra 0,4 e 35 $\mu\text{g/L}$

**Sono ipotizzabili rischi per la salute
della popolazione generale?**

Richieste di collaborazione da parte della ASL di Bergamo, 2008-2015

Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

« ... dimetridazolo ... chi era costui ... ? »



DIMETRIDAZOLO:  **1,2-dimetil-5-nitroimidazolo**

Solubilità in acqua: $\cong 0,5 - 5 \text{ g/L (TA)}$ \rightarrow elevata

Principale metabolita:
2-idrossimetil-1-metil-5-nitroimidazolo (DMZ-OH).

PREOCCUPAZIONI

- 1976: il Comitato Scientifico per la Nutrizione Animale (SCAN) rileva un aumento del numero di tumori mammari benigni e maligni nell'animale da esperimento, oltre a effetti mutageni per una serie di composti imidazolici tra cui il DMZ
- 1997 :la Germania fa richiesta alla CE di sospendere l'utilizzo del DMZ poiché sospettato di attività genotossica e cancerogena e in ragione dell'assenza di adeguate garanzie per il consumatore
- 1999: analogo provvedimento in Svezia

IMPIEGHI

ADDITIVO IN MANGIMI

**FARMACO ANTIPARASSITARIO
AD USO VETERINARIO**

**enteroepatite negli animali da
reddito (suinicoli, bovini) e
uccelli ornamentali**

Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

stima della dose

Dimetridazolo nell'acqua di rete a concentrazioni variabili tra 0,4 e 35 µg/L

Livelli misurati

Acqua di rete mediana 0,1 mg/L

Acqua di pozzo non filtrata mediana: 0,8 µg/L

Consumo giornaliero di acqua (OMS)

➤ Adulto (60 kg di peso corporeo) → 2 L

➤ Bambino (10 kg di peso corporeo) → 1 L

➤ Neonato (5 kg di peso corporeo) → 0.75 L


$$\frac{0,8 \mu\text{g} / \text{L} * 0,75 \text{ L}}{5 \text{ kg}} = 0,12 \mu\text{g} / \text{kg}_{\text{pc}} \text{ die}$$

$$\frac{0,8 \mu\text{g} / \text{L} * 2 \text{ L}}{60 \text{ kg}} = 0,03 \mu\text{g} / \text{kg}_{\text{pc}} \text{ die}$$

?
*Sarà
troppo*
?

Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

Entità degli end points tossicologici di riferimento per la definizione di un

ADI provvisorio:

NOEL = 4,6 mg / kg_{pc}]_{die}

diviso 1000

= 0,004 mg/kg_{pc}]_{die}

studio di tossicità
a lungo termine
(122 settimane)
sul ratto CFY

ARfD provvisoria

NOEL = 33 mg / kg_{pc}]_{die}

Margine
di
incertezza

diviso 1000

= 0,03 mg/kg_{pc} /die

studio subacuto
degli effetti neurotossici
sul cane

Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

Conclusioni sui possibili effetti

rischio cronico e acuto per la popolazione
correlato al consumo di acqua potabile DI RETE:
NON VEROSIMILE:

Popolazione	TMDI* (mg/kg _{pc} /die)	%ADI
Adulto	1,0	21,7
Bambino	3,0	65,2
Neonato	4,5	97,8



CAUTELA!
Assumendo acqua
con **DMZ \geq 30 μ g/L**
un neonato può
superare
la dose ADI
calcolata con il
modello TMDI

Se l'acqua di pozzo **non filtrata** è utilizzata per uso alimentare si consiglia di monitorare i pozzi che hanno fornito valori di DMZ superiori a 30 μ g/L

Correva l'anno ... 2011

Valutazione del rischio tossicologico conseguente all'assunzione di acque potabili contaminate da esteri fosforici

Claudio Colosio, Federico Maria Rubino



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI MILANO



Azienda Ospedaliera
SAN PAOLO
POLO UNIVERSITARIO



WHO Collaborating
Centre
for Occupational Health

Esempi di Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

Un contaminante organico inconsueto nell'acqua potabile

L'inizio della storia ...

- Analisi di routine dell'acqua potabile nel territorio della ASL di Bergamo;
- Le analisi strumentali mostrano la presenza di segnali estranei a quelli dei composti naturalmente o ordinariamente presenti in tracce
- La spettrometria di massa consente di identificare tentativamente e poi di confermare la presenza di ...

Tricloroetilene + Tetracloroetilene	< 1	µg/L (somma parametri)	MT.BG.005	10
Triisopropilfosfato	1,60	µg/L		

Parere di conformità

Poco, ma non irrilevante

Giudizio

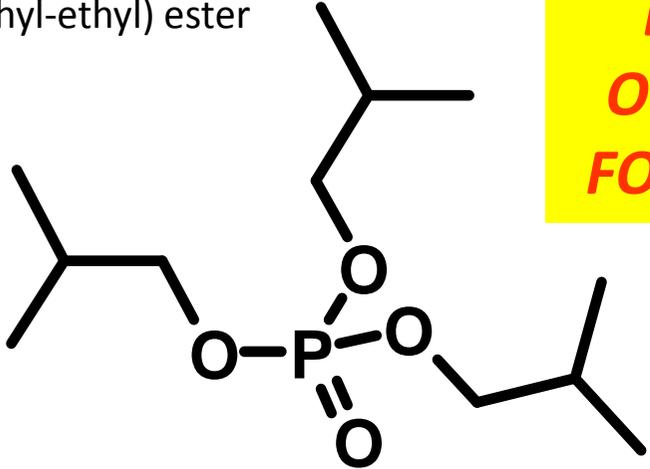
Per i parametri a referto il campione è NON ESPRESSO al D.Lgs. 31/2001

Note

Giudizio non espresso per presenza di Triisopropilfosfato

Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

Triisopropilfosfato TIP

Nome	Phosphoric acid, tris(1-methyl-ethyl) ester	 <p>CAS Number: 513-02-0</p>	ESTERE ORGANO- FOSFORICO
Formula	C ₉ H ₂₁ O ₄ P		
Massa molecolare	224.24		
Temperature di ebollizione	224 °C		
Flash point	23 °C - closed cup		
Tensione di vapore, mmHg	0.15 (25 °C)		
Densità	0.9867 g/cm ³ (20 °C)		
Solubilità in acqua	6.5 g/L (25 °C)		
Indice di rifrazione	1.4057 (20 °C)		
coefficiente di partizione, pK _{ow}	2.12		
Fattore di bioconcentrazione	14.6		
Calore di vaporizzazione	44.00 kJ/mol		

- **Liquido altobollente – poco volatile in condizioni ambiente**
- **Scarsamente miscibile con l'acqua – chiazze iridescenti**
- **150 volte più solubile nei grassi che in acqua**
- **Non si bio-concentra in misura apprezzabile**

Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

Un passo alla volta ...

- ***Prima stimiamo la dose realistica di esposizione***
 - ***Poi verificiamo se alla dose stimata possono verificarsi effetti biologici***

[alta]

[bassa]

• **Effetti acuti?**

- Inibizione AChE
- Fenomeno ben noto
- Esistono bio-indicatori

• **Effetti cronici?**

- Esterasi target ?
- Autoreferenziale
- Non esistono bio-indicatori accettati

Risk Assessment in condizioni di carenza conoscitiva

Prima stimiamo la dose ...

dose giornaliera assunta:

- quantità di acqua quotidianamente assunta
- concentrazione del TIP nell'acqua

Esposizione cronica:

- dose giornaliera assunta
- Potenziale di accumulo



? Effetti cronici ?

- Adulto (60 Kg pc) → 2 L/die
- Bambino (10 Kg pc) → 1 L/die
- Neonato (5 Kg pc) → 0,75 L/die

*

concentrazione max
nell'acqua potabile

2,7 µg/L

=

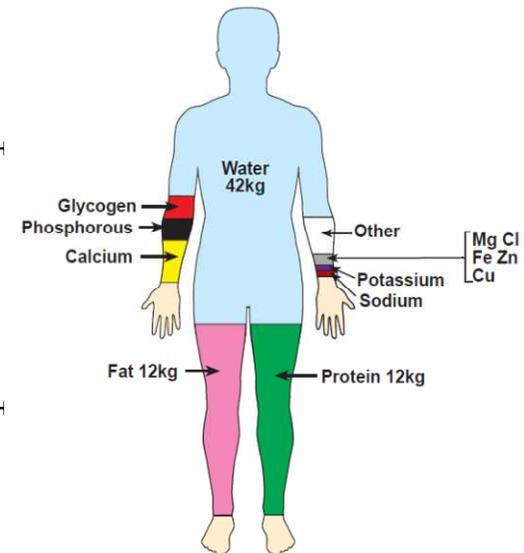
dose tipica giornaliera assunta

2,7 µg/L * 2 L = 5,4 µg / die

Come si ripartisce il TIP nell'organismo?

TIP è 158 volte più solubile nei grassi che nell'acqua corporea
quanto grasso e quanta acqua c'è nell'organismo?

	kg	% bw	densità kg/dm ³	volume (L)	% bV
Acqua	42	60%	1,0	42,0	60,4%
Proteine corporee	12	17%	1,1	10,9	15,7%
Grasso corporeo	12	17%	0,9	13,3	19,2%
Tessuti rimanenti	4	6%	1,2	3,3	4,8%
Totale	70		1,006	69,6	100,0%



per il calcolo delle concentrazioni

Come si ripartisce il TIP nell'organismo?

Stima della concentrazione di TIP nei compartimenti acquoso e lipidico dell'organismo umano
(maschio, 70 kg, normopeso)
per assunzione di una quantità pari a quella contenuta nell'acqua consumata giornalmente.

	kg	% bw	densità kg/dm ³	volume (L)	% bV	[TIP] µg/L	solub K _{ow}	TIP µg	[TIP] pmol/L
Acqua	42	60%	1,0	42,0	60,4%	0,0025	1	0,1	11
Proteine corporee	12	17%	1,1	10,9	15,7%				
Grasso corporeo	12	17%	0,9	13,3	19,2%	0,40	158	5,3	1761
Tessuti rimanenti	4	6%	1,2	3,3	4,8%				
Totale	70		1,006	69,6	100,0%				

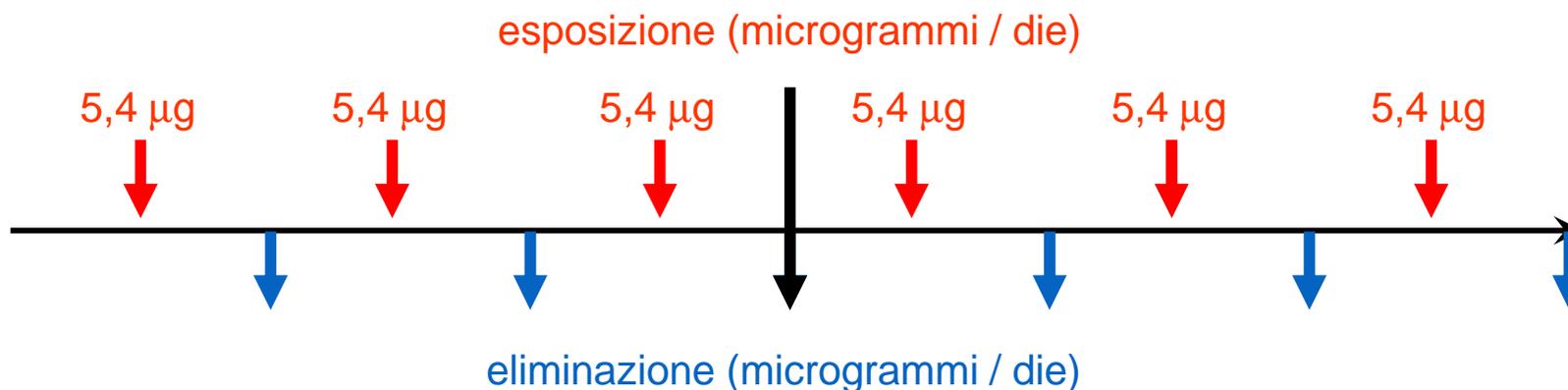
dose = volume * concentrazione
µg L * µg/L

TIP è 158 volte
più solubile nei grassi
che nell'acqua corporea

dose totale
giornaliera

5,4 µg

Calcolo della dose di TIP assunta per ingestione cronica di acqua contaminata



$$C_{ss} \text{ (microgrammi / litro)} = \frac{\text{tasso giornaliero di esposizione (microgrammi / die)}}{\text{tasso giornaliero di eliminazione o clearance (litri / die)}}$$

$$CL \text{ (litri / giorno)} = 0,693 * VD_{ss} \text{ (litri)} / t_{1/2} \text{ (giorni)}$$

$Ln(2)$



$$C_{ss} \text{ (microgrammi / litro)} = \frac{\text{tasso giornaliero di esposizione (microgrammi / die)} * t_{1/2} \text{ (giorni)}}{0,693 * VD_{ss} \text{ (litri)}}$$

Potenziale accumulo nell'organismo

$$C_{ss} = \frac{\text{tasso giornaliero di esposizione} * t_{1/2}}{0,693 * VD_{ss}}$$

La concentrazione (in microgrammi / litro) allo stato stazionario nel compartimento acquoso può essere calcolata sulla base:

- della dose giornaliera (5,4 microgrammi / die)
- dell'emivita biologica (in giorni; valori ipotetici)
- del volume di distribuzione (42 L, adulto di 70 kg)

Entità dell'accumulo

$$C_{ss} = \frac{\text{tasso giornaliero di esposizione} * t_{1/2}}{0,693 * VD_{ss}}$$

- della dose giornaliera (5,4 microgrammi / die)
- dell'emivita biologica (in giorni; valori ipotetici)
- del volume di distribuzione (42 L, adulto di 70 kg)

dose TIP mcg/die	[TIP] _{ss} mcg/L	t _{1/2} (giorni)	dose TIP _{ss} (mcg)	Dose TIP _{ss} (mcg/kg _{bw})	tempo accumulo (giorni)	water [TIP] _{ss} mcg/L	fat [TIP] _{ss} mcg/L	water [TIP] _{ss} pmol/L	fat [TIP] _{ss} pmol/L
5,37	0,18	1	398	5,7	74	0,19	29,23	825	130.351
5,37	0,92	5	1.988	28,4	370	0,93	146,15	4.125	651.757
5,37	1,85	10	3.977	56,8	740	1,86	293,88	8.295	1.310.560
5,37	5,54	30	11.930	170,4	2.221	5,56	878,48	24.795	3.917.588

Concentrazioni stimate nei compartimenti-bersaglio →

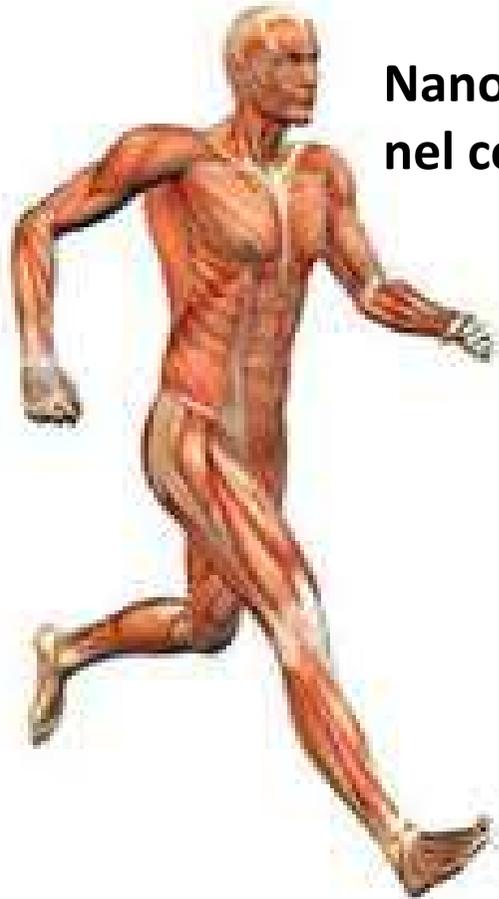
nM

μM

Prima abbiamo stimato la dose realistica di esposizione

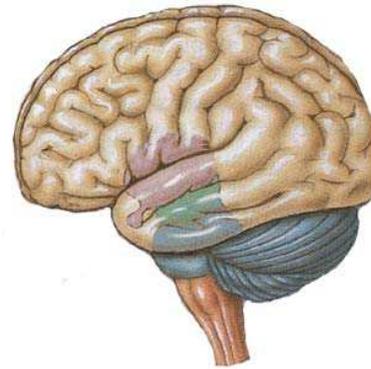
**Sistema neuromuscolare
Organi interni**

**Nanomolare
nel compartimento acquoso**



**Sistema nervoso
Centrale & Periferico
Sistema Ematopoietico**

**Micromolare
nel compartimento lipidico**



Effetti acuti / effetti cronici

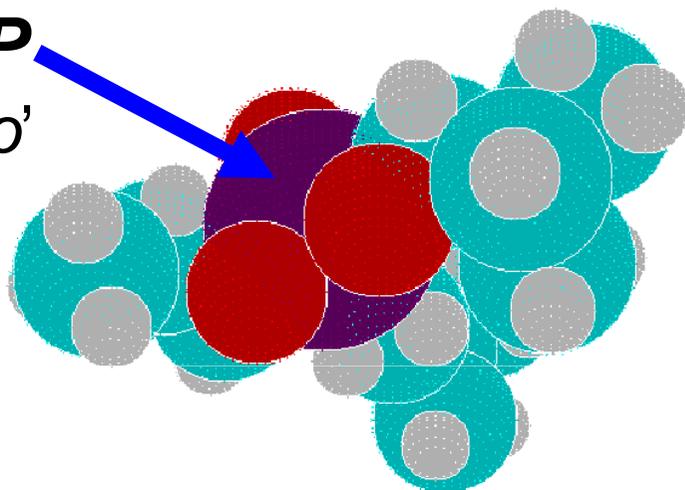
*Non verosimili
Concentrazione
troppo bassa*

*Concentrazione sufficiente
Carenza di informazioni*

Relazioni struttura-attività biologica del TIP

Il TIP osservato con gli occhi 'di un chimico'

atomo di *P*
'schermato'



- Poco reattivo nei confronti dell'idrolisi
- Non va incontro a biotrasformazione



**Attività anti-colinesterasica
*assente***

... e per conferma ...
Quantitative Structure-Activity Relationship
(QSAR)

Invece di esperimenti 'materiali',
esperimenti 'virtuali' → calcoli quantomeccanici

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE ANTICHLINESTERASE EFFECT

131

Table 1. The inhibitory effectiveness ($\log k_{11}$) [7] of the organophosphorous inhibitors (compounds I-IV) with respect to acetylcholinesterase (ACE) and butyrylcholinesterase (BCE)

Organophosphorous inhibitor	Cholinesterase	R						
		C ₂ H ₅	C ₃ H ₇	C ₄ H ₉	C ₅ H ₁₁	(CH ₃) ₂ CH	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	(CH ₃) ₂ CH(CH ₂) ₂
I	ACE	4.35	5.18	5.45	6.06	4.00	5.21	6.67
	BCE	7.38	7.48	8.77	8.11	6.65	7.08	8.52
II	ACE	4.30	5.80	6.28	6.26	6.00	6.73	6.85
	BCE	6.68	6.78	7.78	8.00	6.51	6.85	7.67
III	ACE	5.10	5.83	6.58	6.00	4.70	6.21	6.65
	BCE	5.90	6.35	6.80	6.85	6.66	6.33	7.10
IV	ACE	5.57	6.51	7.12	7.12	5.64	7.48	7.68
	BCE	6.18	6.70	7.40	7.29	7.11	7.48	7.68
V	ACE	6.08	6.30	6.61	6.41	4.50	6.32	6.78
	BCE	6.95	7.00	7.51	7.51	7.08	8.35	8.60
VI	ACE	6.70	7.00	7.51	7.28	5.13	7.48	7.68
	BCE	7.30	7.48	7.90	8.08	7.56	8.88	8.92

da 10 mila
a 36 milioni di volte
meno attivo

ESITO DELLA VALUTAZIONE

E dunque ...

*Possiamo presumere che il TIP
presente nell'acqua potabile
sia
SOSTANZIALMENTE INNOCUO*

*ancorchè la sua presenza
mostri gli effetti di una
gestione improvvida di una
risorsa preziosa*

- *la sostanza è utilizzata abbastanza largamente nell'industria senza particolari evidenze di effetti avversi*
- *le caratteristiche chimico-fisiche della sostanza ne giustificano la relativa inerzia e la mancanza di attività biologica*
- *gli studi tossicologici condotti su sostanze analoghe confermano l'assenza di proprietà biologiche di rilievo tossicologico*

**GRAZIE PER
LA GENTILE
ATTENZIONE!**