



Dott.ssa Lidia Caporossi

## ESPOSIZIONE AD **AGENTI CHIMICI**

Concetti base di  
valutazione del rischio  
cumulativo







**A.N.FO.S.**



ASSOCIAZIONE NAZIONALE FORMATORI DELLA SICUREZZA SUL LAVORO

ESPOSIZIONE AD AGENTI CHIMICI - Concetti base di valutazione del rischio cumulativo  
Opuscolo di approfondimento per il lavoratore  
© Anfos Edizioni 2016 - riproduzione vietata  
[www.anfos.it](http://www.anfos.it)

**[www.anfos.it](http://www.anfos.it) - [info@anfos.it](mailto:info@anfos.it)**



## IL PRESIDENTE

Carissimi,

A.N.Fo.S. è l'Associazione Nazionale Formatori per la Sicurezza, nata con l'obiettivo della Promozione, l'Attuazione e il Coordinamento delle iniziative di formazione, orientamento, ricerca, addestramento, qualificazione e riqualificazione professionale in tema di sicurezza sul lavoro.

Per il raggiungimento dei suoi scopi A.N.Fo.S. attua le iniziative decise congiuntamente tra le parti sociali costituenti in materia di formazione professionale; promuove e coordina la preparazione antinfortunistica degli associati, raccoglie ed elabora i dati, le notizie, e gli elementi che possano interessare la formazione professionale, redige i programmi, pubblicazioni periodiche a carattere divulgativo e tecnico, promuove convegni ed incontri per lo studio dei problemi interessanti la Formazione Professionale ed è inserita nell'elenco, pubblicato dal Ministero dello Sviluppo Economico, delle Associazioni Professionali che rilasciano l'Attestato di Qualità ai sensi della Legge n. 4/2013 in tema di professioni non ancora organizzate in Ordini o Collegi.

Sul nostro sito [www.anfos.it](http://www.anfos.it) puoi avere tutte le informazioni per conoscerci meglio!

“

A.N.Fo.S. sensibilizza gli associati sui temi della sicurezza e i processi di formazione, mettendo a loro disposizione i mezzi più idonei per poter rappresentare idee e proposte, e ricevere consigli e temi di approfondimento.

”

**Rolando Morelli**  
Presidente A.N.Fo.S.

# SOMMARIO

04	Il Presidente	19	.interazione diretta chimica
05	Sommario	19	.interazioni tossicocinetiche
06	Premessa	20	.interazioni tossicodinamiche
07	Concetti base di tossicologia	21	Esiti possibili dell'esposizione a più sostanze contemporaneamente
07	.effetti avversi per la salute	22	.effetti additivo ( $2+2=4$ )
08	.relazione dose/risposta	22	.effetti sinergico ( $2+2=20$ )
11	Valutazione dell'esposizione	22	.effetti di potenziamento ( $0+2=10$ )
13	.assorbimento	22	.antagonismo
15	.distribuzione	23	Alcuni metodi/procedure proposte da agenzie internazionali/nazionali
15	.metabolismo: biotrasformazione	23	.ACGIH
17	.escrezione	24	.WHO - Organizzazione Mondiale della Sanità
18	Valutazione del rischio cumulativo	26	.Norwegian Scientific Committee for Food Safety - VKM Vitenskapskemitten for Mattrygghet
18	.esposizione a miscele di sostanze	29	Criticità nella valutazione del rischio cumulativo
30	Bibliografia essenziale		



# D.LGS 81/08

Titolo IX "Sostanze Pericolose"



Capo I "Protezione da Agenti Chimici"



## PREMESSA

La valutazione del rischio chimico in ambiente di lavoro, particolarmente per la salute umana, richiede competenze e conoscenze specifiche a partire dallo studio dettagliato e concreto delle condizioni espositive del singolo lavoratore fino all'individuazione dei potenziali effetti avversi per la salute. In numerosi cicli produttivi i lavoratori non sono soggetti alla manipolazione di singole sostanze ma si trovano "in contatto" con miscele, più o meno complesse, o con situazione di utilizzo di più prodotti in tempi ravvicinati, se

non contemporaneamente; questa situazione è stata prontamente identificata dal legislatore, che infatti richiede (D.lgs 81/08- Titolo IX "Sostanze Pericolose", Capo I "Protezione da agenti chimici", Art. 223. - Valutazione dei rischi- Punto 3) *"Nel caso di attività lavorative che comportano l'esposizione a più agenti chimici pericolosi, i rischi sono valutati in base al rischio che comporta la combinazione di tutti i suddetti agenti chimici."*

Le modalità per condurre uno studio della "combinazione" di più agenti chimici pericolosi non viene però illustrata in normativa né definita univocamente in normative tecniche, questo perché le situazioni che possono realizzarsi possono essere molto diverse e richiedere considerazioni specifiche caso per caso.

Il presente opuscolo vuole presentare un breve richiamo ai concetti base di tossicologia occupazionale, strumenti conoscitivi essenziali per considerazioni successive di valutazione del rischio cumulativo, ed illustrare brevemente alcune procedure di valutazione proposte da organismi internazionali per l'ottenimento di una entità del rischio associato alle condizioni espositive più oggettivo e completo possibile.

# CONCETTI BASE DI TOSSICOLOGIA

## EFFETTI AVVERSI PER LA SALUTE

La capacità di una sostanza chimica di produrre effetti avversi per la salute può dipendere da numerosi fattori, in generale si parla di “tossina” quando la sostanza chimica che produce il danno proviene da sistemi biologici come funghi, piante, animali; si parla invece di “tossico” quando la sostanza chimica proviene da prodotti o sottoprodotti dell’attività umana. Sono identificati diversi parametri sperimentali per comprendere la potenzialità tossica di una sostanza chimica, un esempio è il DL<sub>50</sub>, dose letale al 50% (dose somministrata ad una popolazione di animali di laboratorio che ne determina la morte del 50%) tanto più è basso tale parametro tanto maggiore è la tossicità della sostanza. In tabella n. 1 vengono riportati a titolo di esempio alcuni valori di DL<sub>50</sub>.

AGENTE CHIMICO	DL <sub>50</sub> (MG/KG PESO CORPOREO)
Alcol etilico	10.000
Cloruro di sodio	4.000
Solfato ferroso	1.500
Solfato di morfina	900
Fenobarbitale sodico	150
Picrotossina	5
Solfato di stricnina	2
Nicotina	1
Tubocurarina	0,5
Emicolinio-3	0,2
Tetrodotossina	0,1
Diossina (TCDD)	0,001
Tossina butolinica	0,00001

Tab. n.1 Valori orientativi di DL50 di alcuni agenti chimici (tratta da “Elementi di Tossicologia” C.D. Klaassen, J.B. Watkins, Casarett&Doull, C.E.A. Casa Editrice Ambrosiana 2013).

Gli elementi che incidono sulla registrazione dell'effetto avverso/tossico sono certamente:

- Le proprietà chimico/fisiche della sostanza;
- La sede di esposizione (possibilità di assorbimento);
- Il metabolismo dell'agente (possibilità di distribuzione e trasformazione della molecola)
- Il raggiungimento dell'organo bersaglio e la suscettibilità del sistema biologico (sistema/ organo: quale concentrazione deve essere presente a livello di organo bersaglio perché si inizi a registrare un effetto avverso?):
- La suscettibilità dell'individuo in generale;

Gli effetti negativi su un sistema biologico si registrano esclusivamente se la sostanza chimica, o eventualmente i suoi metaboliti, raggiungono:

1. i siti appropriati dell'organismo;
2. ad una certa concentrazione;
3. per un tempo sufficientemente lungo.

## RELAZIONE DOSE/RISPOSTA

Dagli studi tossicologici sugli animali vengono definite delle curve di correlazione dose/risposta in cui sull'asse delle ascisse vengono fissati i valori di dose somministrata agli animali e sulle ordinate l'entità degli effetti registrabili.

Questi modelli, che vengono definiti per ogni singola sostanza, permettono di stimare una "dose accettabile" e cioè quel valore di dose per cui, statisticamente, non dovrebbero registrarsi effetti avversi per la salute. Si ricorda che comunque esistono situazioni di suscettibilità individuale (che il medico competente è chiamato ad identificare per quanto possibile) che possono comportare reazioni anche a livelli di dose altrimenti considerate "sicure".

Talvolta possono essere disponibili dati sull'uomo, desunti da indagini epidemiologiche, in questi casi la stima della "dose accettabile" è certamente di maggiore efficacia. In figura n.1 viene illustrato l'andamento generale di una curva dose/risposta per i tossici non cancerogeni/mutageni e non sensibilizzanti.

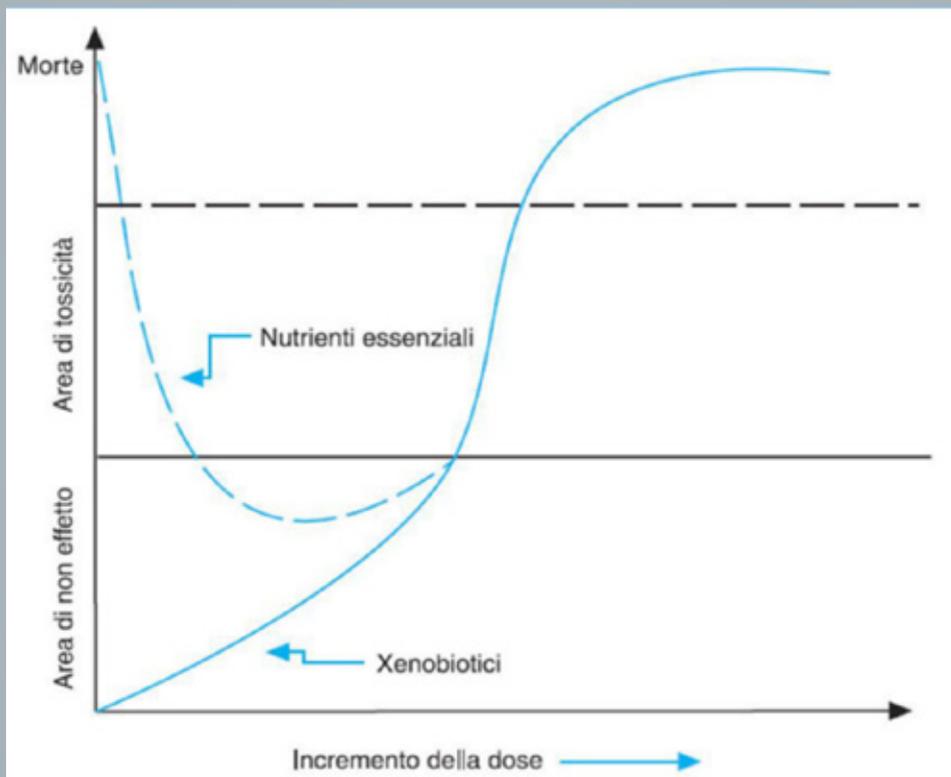


Fig. n.1 Relazione dose/risposta

Per le sostanze sensibilizzanti la curva dose/risposta ha un andamento praticamente verticale, poiché in una prima esposizione non si verifica alcun effetto avverso mentre in una successiva esposizione si registra il massimo effetto prevedibile.

Per le sostanze cancerogene e mutagene in genere non si ritiene si possano identificare dei valori di dose realmente "accettabili", cioè al di sotto della quale non esistano effetti potenzialmente avversi; di fatto si ritiene che non esista una concentrazione tale che non presenti una probabilità, per quanto minima, di generare una risposta negativa dell'organismo. La curva dose/risposta infatti possiede un andamento diverso, non sinusoidale ma più vicino alla linearità, soprattutto a bassi valori di dose come illustrato in figura n.2.

Queste curve sono essenziali per poter identificare delle dosi soglia, propriamente vengono definiti alcuni livelli specifici che diventano importanti nelle valutazioni di potenziali effetti tossici:

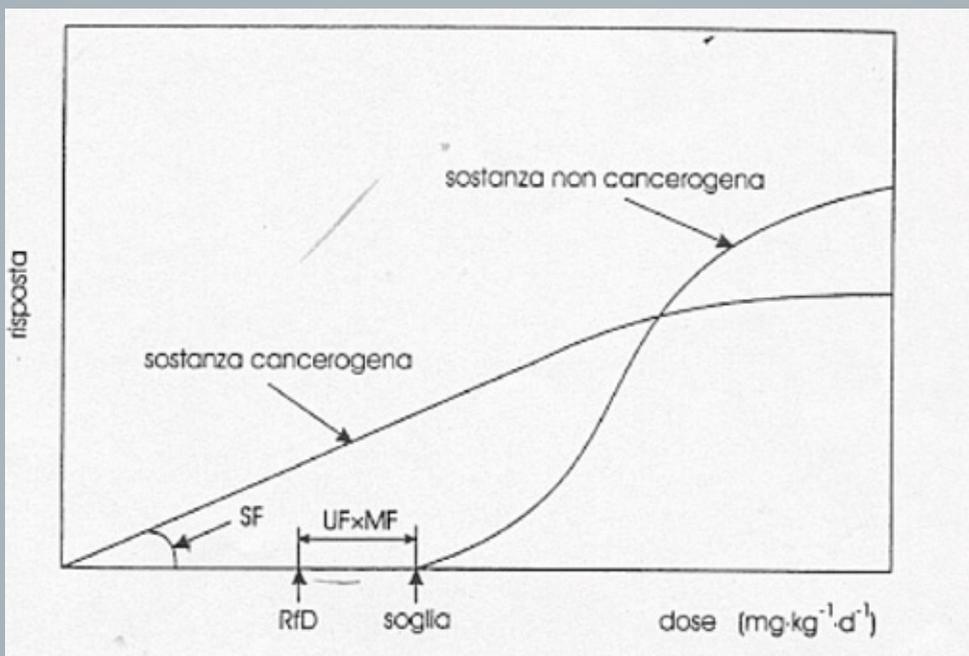


Fig. n.2 relazioni dose risposta per sostanze cancerogene/mutagene e non

- LOAEL –Lowest Observed Adverse Effect Level: il più basso livello di dose (esposizione) in cui si osserva un effetto;
- NOAEL – No Observed Effect Level: il più alto livello di dose (esposizione) in cui si osserva assenza di effetti;

Tanto LOAEL che NOAEL si esprimono in mg/Kg di peso corporeo/giorno. La tossicità di una sostanza va ad aumentare, una volta identificata la dose, con la durata e frequenza dell'esposizione e questo può causare due fenomeni:

1. accumulo del tossico nell'organismo: questa situazione generalmente si realizza quando la frequenza di esposizione risulta maggiore della velocità di eliminazione del tossico, questo comporta che la concentrazione del tossico nell'organismo può superare, con elevata probabilità, la soglia di tossicità a livello di organi bersaglio (è necessario conoscere la tossicocinetica e la tossicodinamica della singola sostanza);
2. accumulo del danno: la velocità di "somministrazione" del tossico è maggiore alla velocità di riparazione del danno, che in molti casi l'organismo è in grado di operare.

Si registrano anche casi di accumulo del danno in assenza di accumulo del tossico, questo perché il tempo di recupero del danno è spesso maggiore del tempo di eliminazione del tossico dall'organismo.

Volendo fare un esempio: la somministrazione di etanolo causa il deposito di lipidi nel fegato (steatosi); il tempo necessario per la scomparsa dei depositi lipidici è molto più lungo di quello necessario all'eliminazione dell'etanolo (comparsa di effetti cronici, come ad esempio la cirrosi).

## VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE

L'identificazione del livello di esposizione è centrale per la comprensione della reale dose (dose interna) a cui un soggetto può essere stato esposto.

Si definisce infatti esposizione esterna il livello di concentrazione di una sostanza presente nell'ambiente in cui opera il soggetto (es. in aria) e dose interna la quantità di sostanza chimica che realmente penetra nell'organismo del soggetto e che quindi si distribuisce nel corpo fino a raggiungere l'eventuale organo bersaglio. Chiaramente è la dose interna quella che permette di comprendere in dettaglio le potenzialità di rischio della singola esposizione.

Nella valutazione dell'esposizione, quindi, sarà importante identificare:

- a quali sostanze il soggetto è esposto,
- in quali condizioni si verifica l'esposizione,
- attraverso quali vie si può realizzare l'assorbimento del tossico,
- conoscere quale sia il destino dello xenobiotico all'interno del corpo umano, per comprendere se, a seguito di opportuna distribuzione nei compartimenti dell'organismo e partecipazione alle reazioni metaboliche specifiche, si raggiunga la concentrazione utile, a livello di organo bersaglio, per registrare un effetto avverso.

Queste considerazioni richiedono l'approfondimento dei concetti di tossicocinetica e di tossicodinamica.

Nello schema seguente viene illustrato il percorso che può seguire una sostanza chimica.

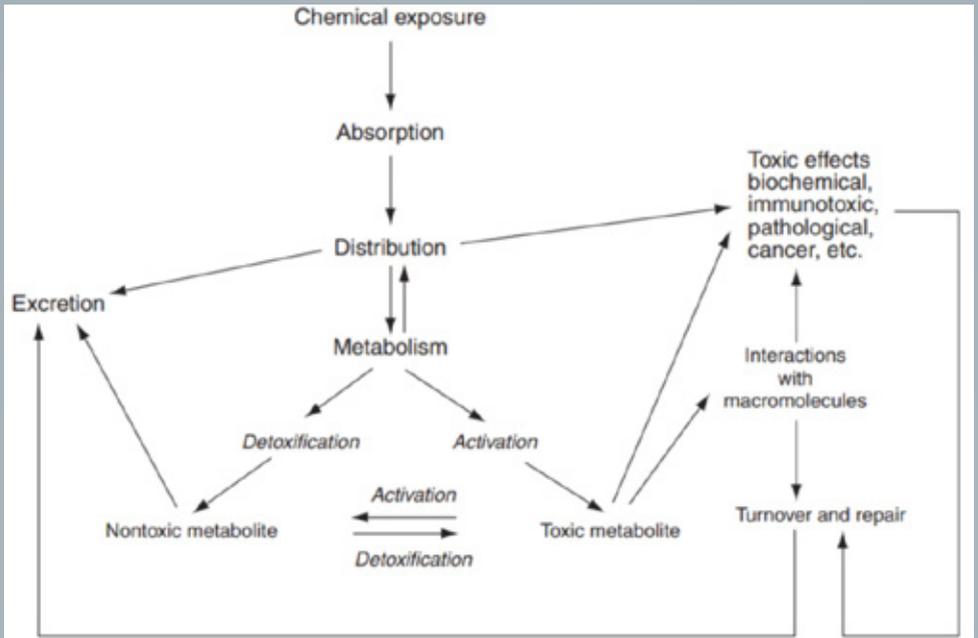


Fig. n.3 schema del destino di uno xenobiotico a seguito di esposizione

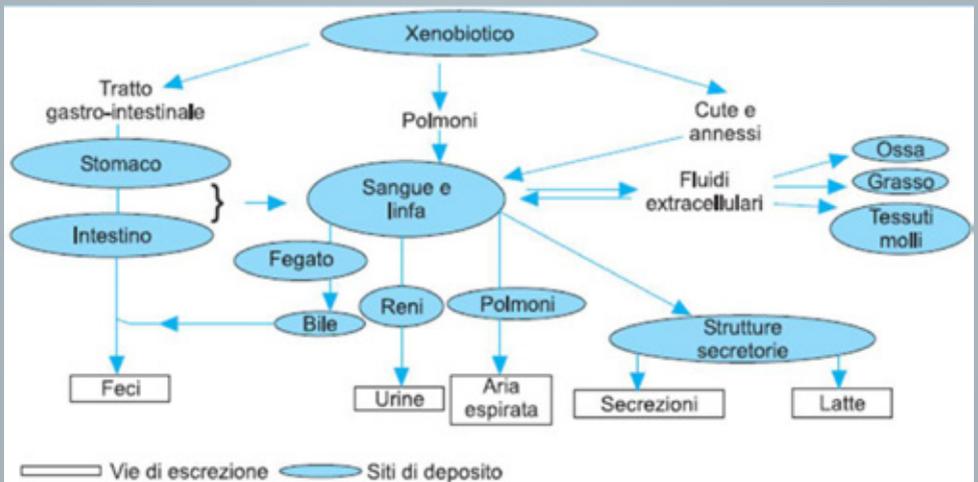


Fig. n.4 Schema della distribuzione di uno xenobiotico con dettaglio sui potenziali siti di deposito e vie di escrezione

# VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE

## ASSORBIMENTO

Pelle, polmoni e tratto gastrointestinale sono le principali barriere di separazione dall'ambiente esterno per l'organismo umano. Ad eccezione degli agenti irritanti/corrosivi che agiscono essenzialmente a livello topico, le altre sostanze vengono assorbite in una delle tre vie (inalazione, ingestione e assorbimento cutaneo) e vengono quindi distribuite nell'organismo.

I parametri che condizionano l'assorbimento di uno xenobiotico sono, a livello molecolare:

- il grado di ionizzazione;
- la grandezza e la struttura della molecola;
- l'affinità per i lipidi; in particolare la capacità di una sostanza di ripartirsi tra una fase "oleosa" e una acquosa è un elemento centrale che condiziona la possibilità di assorbimento e successiva distribuzione dello xenobiotico nell'organismo. Viene identificato il coefficiente di ripartizione  $K_{ow}$  (coefficiente ottanolo/acqua) il cui valore identifica la lipofilia della molecola: se  $K_{ow}$  è  $>1$  lo xenobiotico è lipofilo e diffonde con una certa facilità, se invece il  $K_{ow} < 1$  lo xenobiotico è più idrofilo e diffonde con minore facilità.

Il coefficiente di ripartizione può variare in relazione al pH ambientale o a processi di metabolizzazione che portano a trasformazioni della molecola. Si riportano in tabella n. 2 alcuni esempi di differente assorbimento in relazioni a diversi valori di  $K_{ow}$  (il pH a cui si è operato per ottenere i valori riportati di assorbimento era tale da consentire l'esistenza della sostanza in forma non-ionizzata)

SOSTANZA CHIMICA	ASSORBIMENTO	$K_{ow}$
Tiopental	67	100
Anilina	54	25
Acetanilide	43	7
Acido acetilsalicilico	21	2
Acido barbiturico	5	0,05
Mannitolo	<2	<0.02

Tab. n.2 Esempi di differente grado di assorbimento rispetto al valore di coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua

L'assorbimento transcutaneo è di tipo passivo, dose e grado di liposolubilità influenzano moltissimo il grado di assorbimento.

Complessivamente la cute ha uno spessore di 150-200  $\mu\text{m}$ .

Lo strato più superficiale della cute, detto STRATO CORNEO, è cheratinizzato e ha una dimensione di circa 1000 Å, le sostanze con peso molecolare inferiore a 10.000 Dalton possono facilmente attraversarlo; in questo strato c'è la presenza di follicoli piliferi e ghiandole sebacee. Immediatamente più in profondità si trova il doppio strato che costituisce l'EPIDERMIDE quindi si trova la membrana sotto epidermica chiamata MATRICE DELLA CUTE al di sotto della quale si trovano i vasi sanguigni e linfatici attraverso cui uno xenobiotico entra nel circolo sanguigno ed inizia il suo iter di distribuzione corporea. La cute ha una dimensione di circa 18.500  $\text{cm}^2$ .

La principale via di assorbimento in ambiente di lavoro è quella inalatoria, quindi attraverso la superficie dei polmoni. L'epitelio alveolare è molto sottile (10 $\mu\text{m}$ ) e la superficie assorbente molto ampia (50-100 $\text{m}^2$ ). Questo tipo di assorbimento viene regolato da fattori come:

- la liposolubilità;
- il gradiente di concentrazione tra aria alveolare e sangue;
- il coefficiente di diffusione membrana alveolo/capillare;
- la solubilità nei lipidi plasmatici;
- la capacità di legarsi alle proteine plasmatiche
- la portata cardiaca.

L'assorbimento attraverso la via di ingestione non viene qui trattato in dettaglio poiché rappresenta esclusivamente un'ipotesi di evento accidentale in ambiente di lavoro e non una possibile via espositiva nelle comuni attività produttive.

# VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE

## DISTRIBUZIONE

Quando uno xenobiotico raggiunge la circolazione sistemica può, potenzialmente, essere distribuito in tutti i compartimenti dell'organismo umano e quindi arrivare a raggiungere anche il proprio organo bersaglio.

La velocità di distribuzione e quindi di raggiungimento di organi e tessuti specifici dipenderà da una serie di fattori, primo tra tutto il flusso sanguigno (la portata cardiaca) e l'eventuale affinità specifica delle diverse sostanze per i tessuti/organi.

Nei casi in cui lo xenobiotico abbia caratteristiche molecolari tali da non consentire un agevole passaggio attraverso le membrane cellulari si verificano bassi livelli di distribuzione e maggiori velocità di escrezione.

Possano verificarsi, per alcune sostanze chimiche, situazioni biochimiche che favoriscono l'accumulo in specifici tessuti, tra questi siti preferenziali sono il tessuto osseo (es. Piombo), il tessuto adiposo (es. composti lipofili come gli organo-clorurati, diossine, PCB), fegato, reni o le proteine plasmatiche.

# VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE

## METABOLISMO: BIOTRASFORMAZIONE

Le reazioni metaboliche dell'organismo, nel caso di xenobiotici, sono finalizzate ad ottenere una trasformazione molecolare che porti a metaboliti più idrosolubili e quindi che possano essere escreti con maggiore facilità, in urina o feci.

Le modifiche molecolari che si realizzano in sede di metabolismo possono incidere in modo significativo sull'effetto biologico che può registrarsi: nella maggior parte dei casi le reazioni metaboliche producono composti chimici a più bassa tossicità rispetto agli xenobiotici di partenza, ma questa situazione non è sempre registrabile. Talvolta il metabolita mostra capacità tossiche maggiori rispetto allo xenobiotico di partenza e questo, in un'ottica di valutazione del rischio espositivo, deve essere ben conosciuto.

Un primo tipo di reazioni metaboliche sono essenzialmente di carattere enzimatico e vanno a

modificare strutturalmente i gruppi funzionali delle diverse molecole; un secondo gruppo di reazioni invece, chiamate di coniugazione, producono molecole più grandi perché "associate" a specifici composti, si parla allora di reazioni di glucuronidazione, solfatazione, acetilazione, metilazione, di coniugazione con aminoacidi o glutazione. I composti così modificati vengono generalmente più facilmente escreti.

In tabella n. 3 vengono riportati esempi di sostanze la cui metabolizzazione produce composti a maggiore tossicità.

SOSTANZA CHIMICA	REAZIONE DI BIOTRASFORMAZIONE	METABOLITA TOSSICO (EFFETTO TOSSICO)
Ammine aromatiche	N-idrossilazione	Idrossilamina (cancerogeno)
Anilina	N-idrossilazione	N- idrossilalina (metaemoglobinemia)
Idrocarburi aromatici	Epossidazione	Derivati epossidici policiclici (teratogeni, cancerogeni)
Metanolo	Ossidazione alcolica	Acido formico (retinopatia)
Isoniazide	Acetilazione e idrolisi	Acetilidrazina (epatossicità)

Tab. n.3 Esempi di sostanze chimiche i cui metaboliti mostrano maggiore tossicità dello xenobiotico di partenza

Le reazioni di biotrasformazione di una sostanza chimica possono essere influenzate da:

- dose e frequenza di esposizione
- specie e razza (sono state evidenziate differenze metaboliche e tossicogenetiche)
- dieta e stato nutrizionale
- età, sesso, peso; in particolare per alcune sostanze chimiche sono state evidenziate situazioni diverse tra esposizione di uomini ed esposizione di donne, sia in ottica di distribuzione che metabolizzazione dei tossici; ad esempio. l'esposizione a Piombo: gli studi di letteratura

hanno portato a definire dei valori limite biologici diversi tra uomo- 60µg/mL di sangue- e donna in età fertile – 40µg/mL di sangue-(Allegato XXXIX D.Lgs 81/08)- proprio a causa dei diversi effetti avversi che possono registrarsi in relazione alla differenza di genere.

- Via di esposizione
- Interazione con altre sostanze chimiche, che possono comportarsi da induttori o inibitori enzimatici, competitori, modificatori, fattori ormonali,...
- Conseguenze di interazioni con altri enzimi
- Gravidanza e "anomalie" fisiologiche (es. alterazioni di funzionalità d'organo).

## VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE ESCREZIONE

L'ultima fase della presenza di uno xenobiotico nell'organismo è quella dell'escrezione, in cui, una volta subite le eventuali modifiche molecolari ed essendo stata resa la molecola maggiormente idrofila si ottiene una eliminazione dall'organismo mediante diverse vie, di cui le principali sono:

- Urinaria: nei casi in cui la idrosolubilità del composto è aumentata significativamente e si ottiene così una filtrazione glomerulare a livello renale;
- Fecale (biliare e intestinale);
- Attraverso l'espiazione: via di escrezione esistente essenzialmente per sostanze gassose (es. la valutazione dell'esposizione a gas anestetici ha previsto per molto tempo la determinazione di protossido di azoto in aria espirata, poiché una percentuale considerevole del gas viene escreta attraverso questa via in tempi rapidi);
- In misura minore attraverso vie secretorie: sudore, saliva, latte,...

# VALUTAZIONE DEL RISCHIO CUMULATIVO

La normativa di tutela della salute dei lavoratori da esposizione ad agenti chimici sottolinea la necessità (D.Lgs. 81/08, titolo IX "Sostanze Pericolose" Capo I "Protezione da Agenti Chimici" art. 223- Valutazione dei rischi punto 3) di valutazione di rischio cumulativo, infatti cita: "Nel caso di attività lavorative che comportano l'esposizione a più agenti chimici pericolosi, i rischi sono valutati in base al rischio che comporta la combinazione di tutti i suddetti agenti chimici."

Partendo quindi da questa considerazione focalizziamo quali siano i casi in cui due o più composti possano generare degli effetti cumulativi [EPA- Guidance for identifying pesticide chemicals and other substances that have a common mechanism of toxicity, 1999]:

1. Quando causano lo stesso effetto avverso;
2. Quando agiscono sullo stesso organo bersaglio molecolare, nello stesso tessuto bersaglio;
3. Quando agiscono con lo stesso meccanismo tossicologico d'azione e/o possono condividere un intermedio in comune.

## VALUTAZIONE DEL RISCHIO CUMULATIVO ESPOSIZIONE A MISCELE DI SOSTANZE

Secondo le indicazioni dell'Environmental Protection Agency -EPA (1986) le miscele di sostanze chimiche possono essere distinte in:

- Miscele semplici: composte da poche (<10) sostanze, qualitativamente e quantitativamente note (es. miscele di pesticidi);
- Miscele complesse: composte da decine/centinaia di sostanze insieme la cui composizione e quantità non è completamente nota (es. fumi di saldatura, inquinamento aria urbana,...);
- Miscele simili: miscele leggermente differenti nei componenti o nelle proporzioni tra i componenti ma che hanno caratteristiche paragonabili per destino, trasporto, processi fisiologici e tossicità.

Le sostanze chimiche possono interagire tra loro essenzialmente attraverso 4 meccanismi di base: interazione diretta chimica; interazione tossicocinetica; interazione tossicodinamica; tossicità combinata.

## INTERAZIONE DIRETTA CHIMICA

In generale una interazione diretta tra due sostanze chimiche di fatto consiste in una reazione che comporta una modifica molecolare di entrambi i reagenti e una conseguente inattivazione/riduzione di tossicità. Questo tipo di situazione è però poco frequente e raramente identificabile in ambiente di lavoro.

## INTERAZIONE TOSSICOCINETICHE

Questo tipo di interazioni prevedono che uno xenobiotico vada ad incidere in varia misura sull'assorbimento, la distribuzione, il metabolismo o l'escrezione di un altro tossico e di conseguenza incide sulla potenzialità di effetto avverso (in positivo o negativo).

I meccanismi principali attraverso cui una sostanza chimica può interferire con la DISTRIBUZIONE di un altro tossico sono essenzialmente due:

1. La competizione per il legame con le proteine: ad esempio la competizione per il legame con l'albumina plasmatica incide fortemente sulla concentrazione libera di composto, con minore affinità, che va a trovarsi nel flusso ematico;
2. La alterazione del pH extracellulare; il pH è un fattore regolatorio importante nella distribuzione degli xenobiotici all'interno delle cellule, quindi una modifica di pH ambientale dovuta al composto interferente può incidere significativamente sulla possibilità di penetrazione della barriera cellulare e quindi, in certa misura, sulla entità dell'effetto avverso registrabile.

Le interferenze a livello METABOLICO sono quelle che incidono maggiormente, e in modo più complesso, sulla tossicità dei composti chimici; alcuni xenobiotici possono aumentare il metabolismo di altre sostanze inducendo, ad esempio, la sintesi di enzimi epatici propri del metabolismo dell'altra sostanza; in altri casi alcuni composti possono comportarsi come veri e propri inibitori enzimatici riducendo di fatto le reazioni metaboliche cui normalmente l'altra sostanza sarebbe stata coinvolta.

### N.B.

La tossicocinetica studia, nel paziente intossicato, i processi di assorbimento, di distribuzione, di metabolizzazione e di eliminazione delle sostanze tossiche.

Infine possono esserci fenomeni di interferenza nella fase di ESCREZIONE di un tossico, l'alterazione del tempo di escrezione di una sostanza chimica comporta la possibilità di un maggiore tempo di contatto, di una concentrazione elevata, del tossico con l'organo bersaglio e quindi un ampliamento dell'effetto avverso.

I meccanismi attraverso cui si può realizzare una modifica dei tempi di escrezione sono diversi ad esempio:

- un tossico va a ridurre la gittata cardiaca, si ottiene così una riduzione del flusso sanguigno renale che produrrà una ulteriore riduzione della filtrazione da parte del glomerulo renale;
- l'eventuale alterazione da parte di uno xenobiotico del pH urinario può alterare la ionizzazione di altre molecole e portare ad una riduzione, o incremento, della quantità di sostanza che va incontro a riassorbimento tubulare passivo;
- la competizione tra due sostanze chimiche per la secrezione tubulare attiva può diminuire l'escrezione renale di entrambi gli xenobiotici.

## INTERAZIONE TOSSICODINAMICHE

Le interazioni tossicodinamiche possono essere ricondotte a due tipi: interazioni in cui le sostanze interagiscono al livello dello stesso sito oppure interazioni che si verificano in siti diversi. Gli esiti di interazioni tossicodinamiche possono produrre tanto effetti potenzianti quanto inibitori dell'attività tossica e possono rivestire un importante significato tossicologico.

Le interazioni che si verificano a livello dello stesso recettore si mostrano nella quasi totalità dei casi, di tipo inibitorio (una sostanza blocca l'accesso al sito specifico ad un'altra sostanza).

Nel secondo caso si realizzano situazioni per cui due tossici, anche nell'eventualità di meccanismi di azione diversi ed azione in siti separati, sono in grado di andare ad influenzare lo stesso processo fisiologico, in questi casi un tossico può incidere ed influenzare l'azione dell'altro tossico e tale interazione può risultare di potenziamento o inibitoria rispetto alla registrazione degli effetti avversi.

### **N.B.**

La tossidinamica studia la capacità del tossico di raggiungere ed interagire con il suo organo bersaglio, ed espletare quindi il suo effetto avverso

SOSTANZA CHIMICA	EFFETTO DI INIBIZIONE
Etanolo	Inibisce il metabolismo di toluene, xilene, metiletilchetone, tricloroetilene, cicloesano
Dimetilformammide, solfuro di carbonio e tricloroetilene	Inibiscono il metabolismo dell'etanolo e dell'acetaldeide
Toluene	Inibisce il metabolismo dell'esano
Tetracloroetilene	Inibisce il metabolismo del tricloroetilene
Metiletilchetone	Inibisce il metabolismo dell'esano
Metanolo	Inibisce il metabolismo del diclorometano

Tab. n.4- esempi di inibizione del metabolismo dovuto a co-esposizione [M. Koller, C. Pletscher, M. Jost, SUVA 2013 fact sheet di Medicina del Lavoro]

SOSTANZA CHIMICA	EFFETTO DI ACCELERAZIONE
Toluene	Accelera il metabolismo dell'etilacetato
Xilene	Accelera il metabolismo del butilacetato
Acetone	Accelera il metabolismo dello stirene

Tab. n.4- esempi di inibizione del metabolismo dovuto a co-esposizione [M. Koller, C. Pletscher, M. Jost, SUVA 2013 fact sheet di Medicina del Lavoro]

**ESITI POSSIBILI  
DELL'ESPOSIZIONE A PIÙ  
SOSTANZE CONTEMPORANEAMENTE**

## **EFFETTO ADDITIVO (2+2=4)**

### **Azione congiunta indipendente o additività**

**di risposta:** è il caso in cui più sostanze agiscono in modo indipendente ed hanno effetti tali che la presenza di una sostanza non influenzerà la tossicità dell'altra o la tossicità combinata è pari alla somma delle risposte dei singoli componenti.

### **Simile azione congiunta o additività di dose**

**o di concentrazione:** è il caso di sostanze che causano effetti simili attraverso meccanismi d'azione simili; ad esempio: un composto produce gli stessi effetti di un'altra sostanza diluita.

## **EFFETTO ADDITIVO (0+2=10)**

L'**effetto di potenziamento** descrive la situazione in cui una sostanza, se somministrata singolarmente, non produce effetti avversi per uno specifico organo/tessuto, ciononostante nel caso di esposizione combinata con altre sostanze queste ultime rendono il primo composto tossico, in entità maggiore che la seconda sostanza singolarmente.

## **EFFETTO SINERGICO (2+2=20)**

L'**effetto sinergico** si registra nei casi in cui di fatto si ottengono delle situazioni di potenziamento della risposta tossica, in questi casi quindi l'effetto tossico dell'esposizione a più sostanze è maggiore

della somma degli effetti che si avrebbero considerando le sostanze separatamente.

## **ANTAGONISMO (4+8=6)**

L'antagonismo è la situazione in cui due sostanze interferiscono tra di loro determinando una tossicità osservata minore rispetto alla somma degli effetti delle due sostanze singolarmente.

### **Esistono 4 tipi di antagonismo possibile:**

**FUNZIONALE:** è il caso in cui due composti possiedono effetti contrapposti sulla stessa funzione fisiologica;

**CHIMICO:** è il caso in cui due molecole tendono a reagire tra loro producendo la formazione di una sostanza chimica meno tossica. Ad es: l'esposizione ad agenti chelanti concomitante all'esposizione a metalli pesanti. (è il principio alla base degli antidoti per le tossine animali)

**CINETICO:** è il caso in cui vengono alterati i tempi di assorbimento/ metabolismo/ distribuzione ed escrezione di una sostanza, comportando una variazione della concentrazione all'organo bersaglio ed una corrispondente riduzione della durata degli effetti.

**RECETTORIALE:** i due xenobiotici si legano, e competono per il legame, con lo stesso recettore, questo comporta una riduzione del legame della sostanza tossica e una conseguente riduzione dell'effetto avverso registrabile.

# ALCUNI METODI/PROCEDURE PROPOSTE DA AGENZIE INTERNAZIONI/NAZIONALI

## ACGIH

Dal 1963 l'ACGIH si è interessata alla valutazione dell'esposizione multipla a sostanze chimiche in ambiente di lavoro ed ha proposto, poi aggiornato nel 2000, un approccio all'additività di dose per la valutazione del rischio occupazionale.

Essenzialmente tale approccio parte dalle seguenti considerazioni:

- Per 2 o più sostanze chimiche con lo **stesso meccanismo di azione e lo stesso organo bersaglio** si calcola un Hazard Index, che prevede di sommare per ciascun componente i rapporti tra le concentrazioni presenti e i corrispondenti TLV (Threshold Limit Value):
- Se la somma di questi elementi risulta  $>1$  si deve considerare la presenza di una situazione di rischio per la salute;
- qualora la somma dovesse risultare  $< 0.5$  il rischio viene considerato comunque "apprezzabile";
- nel caso in cui la somma dovesse risultare  $<0.1$  la condizione dell'ambiente di lavoro è "del tutto accettabile".

$$IR = \sum (C_i / TLV_i)$$

Dove:

**IR**= indice di Rischio (Hazard Index)

**C<sub>i</sub>**= i livelli di concentrazione ambientale rilevati nelle 8 ore lavorative per l'i-esima sostanza

**TLV<sub>i</sub>**= i valori limite ambientali (Threshold limit value) esistenti per le 8 ore lavorative per la i-esima sostanza.

Viene sottolineato che nel caso in cui ci siano buone ragioni per ritenere che le sostanze chimiche agiscano attraverso diversi meccanismi di azione l'approccio con Hazard Index dovrebbe essere applicato con dovuta cautela perché potrebbe non essere accurato.

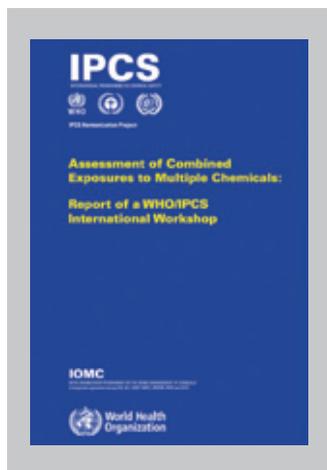
Viene sottolineato inoltre che eventuali situazioni di sinergismo o potenziamento richiedono valutazione caso per caso poiché non possono essere fatte rientrare in considerazioni di semplice additività.

Come è evidente la possibilità di applicare l'approccio di additività di dose proposto dall'ACGIH richiede la conduzione di un piano di campionamento e analisi degli inquinanti di interesse e l'esistenza di valori limite per ambiente di lavoro per le stesse sostanze chimiche, questi due requisiti non sempre sono presenti, soprattutto per l'assenza di valori limite ambientali per tutti i composti chimici impiegati nei cicli produttivi.

Nel caso in cui ci sia la presenza di sostanze con più di un effetto critico dovranno essere calcolati tanti indici di rischio quanti sono gli effetti avversi identificati. Questa attività è finalizzata ad identificare con maggiore precisione gli organi/sistemi maggiormente a rischio anche se l'indice calcolato possiederà meno addendi.

In caso di sostanze chimiche veicolate da particolato sospeso l'applicazione dell'approccio proposto dall'ACGIH presenterebbe delle difficoltà metodologiche ed interpretative importanti, anche a causa del diverso livello di azione nell'apparato respiratorio per particelle con diversa granulometria.

## WHO- ORGANIZZAZIONE MONDIALE DELLA SANITA'



Anche l'Organizzazione mondiale della Sanità (World Health Organization) ha proposto, attraverso il lavoro condotto dall'International Program on chemical safety- IPCS, una metodologia procedurale per la conduzione della valutazione del rischio cumulativo ad agenti chimici.

L'approccio prevede la risposta ad alcune domande preliminari per orientare poi la valutazione.

Le domande proposte sono quelle riportate in tabella n. 6.

	DOMANDA	DETTAGLI	CONSIDERAZIONI
1	Qual'è la natura dell'esposizione?	<p>Sono noti i componenti della miscela?</p> <p>Sono disponibili i dati sui rischi associati ad una miscela così composta (estrapolati o meno dai rischi associati ai singoli componenti)?</p>	<p>La mancanza di queste informazioni preclude la possibilità di utilizzare la procedura.</p> <p>Questo non vuol dire che non possano essere necessarie delle misure di prevenzione e protezione per i lavoratori, al fine di gestire il potenziale rischio presente, ma semplicemente che la sua entità è più difficilmente identificabile.</p>
2	È probabile l'esposizione considerando il contesto?	<p>La situazione ambientale e di utilizzo determina una improbabile esposizione? Ciclo chiuso? Intermedi di reazione che subiscono modifiche molecolari prima di venire in contatto eventualmente con il lavoratore?</p> <p>Ci sono diluizioni o degradazioni possibili che vanno a precludere la possibilità di assorbimento? L'assorbimento di ritiene improbabile? (Peso molecolare particolarmente alto? Materiali in pellet? Assenza di penetrazione cutanea?</p>	<p>Se le risposte a queste domande fanno ritenere che una o più sostanze di fatto hanno scarsa probabilità di essere assorbite si evita di utilizzarle nella procedura di valutazione della co-esposizione.</p>
3	C'è rischio di co-esposizione in un arco di tempo rilevante?	<p>Gli aspetti temporali dell'esposizione, della tossicocinetica o della tossicodinamica, precludono la possibilità di co-esposizione? Le sostanze hanno una emivita breve (cinetica)? Gli effetti hanno una durata ridotta (dinamica)?</p> <p>È il tempo tra l'esposizione ad una sostanza e l'esposizione ad un'altra tale da ritenere che la co-esposizione vada a realizzarsi?</p>	<p>La tempistica di esposizione è un fattore da valutare, che può in taluni casi escludere la possibilità di co-esposizione.</p>

4	<p>Quale è il razionale per considerare i composti in un gruppo aggregato?</p>	<p>Informazioni predittive possono essere desunte anche da informazioni di struttura/attività (QSAR ad esempio), modellistica strutturale e/o classificazioni di pericolosità, dai dati biologici e biochimici.</p> <p>Gli effetti si osservano a carico dello stesso organo bersaglio?</p> <p>È l'esito biologico lo stesso?</p> <p>Le sostanze utilizzate per applicazioni simili (as es. antiossidanti) possono far pensare a simili modalità di azione?</p>	<p>La decisione deve discendere dalla considerazioni precedentemente fatte (i componenti agiscono in modo simile, hanno tempistiche di utilizzo compatibili...)</p>
---	--	---	---

Tab. n. 6- Domande preliminari per l'applicazione della valutazione della co-esposizione ad agenti chimici proposta dal WHO

Una volta risposto alle domande si procederà raggruppando le domande in base alle caratteristiche omogenee identificate (simili meccanismi di azione, simili organi bersaglio, situazioni di tempistica espositiva concomitante in relazione alle emivita di ciascuna sostanza, possibilità di reale esposizione) e si procederà, dove possibile con l'approccio dell'Hazard Index (già visto per l'ACGIH), quindi misurando i livelli di concentrazione e rapportandoli ai rispettivi valori limite, dove disponibili, applicando comunque le dovute cautele.

## NORWEGIAN SCIENTIFIC COMMITTEE FOR FOOD SAFETY- VKM VITENSKAPSKEMITTEN FOR MATTRYGGHET

L'Esposizione ad agenti chimici multipli è un tema di grande interesse non soltanto per coloro che si occupano di sicurezza in ambiente di Lavoro ma anche per coloro che si occupano di salute pubblica, in generale, e di sicurezza alimentare.

Per questo motivo, a conclusione di questo opuscolo, si vuole presentare anche una flow-chart proposta dall'ente norvegese finalizzata ad orientare in questo particolare tipo di valutazione del rischio, che può in larga misura essere utilizzata anche, concettualmente, nella valutazione del rischio in ambiente di lavoro.

Vengono specificate alcune considerazioni preliminari rispetto alla flow chart che riportiamo di seguito:

1. Si fanno considerazioni in merito a sostanze con «simile modalità di azione» e non soltanto «simile meccanismo di azione», questo perché la prima definizione include situazioni in cui i meccanismi possono essere diversi ma portano comunque ad un effetto comune.
2. Inoltre nei casi in cui il meccanismo non fosse esattamente noto, ma fossero noti gli effetti registrabili a carico di specifici organi bersaglio comunque la procedura potrebbe essere utilizzata
3. Se l'esposizione di tutte le sostanze o di tutti i componenti della miscela è al di sotto dei rispettivi valori di NOAELs e tutti gli xenobiotici agiscono con una simile modalità di azione, ci si aspetta che gli effetti siano esclusivamente di tipo additivo semplice.
4. Se invece il valore di uno o più componenti della miscela cui si è esposti è superiore al rispettivo NOAEL eventuali effetti combinati devono essere valutati e considerati
5. Se è presente una «simple similar action» per tutte le sostanze chimiche, una valutazione complessiva di rischio da co-esposizione può essere condotta nei modi seguenti:
  - Se si hanno dei valori limite ambientale identificati, si può procedere con l'approccio dell'Hazard Index (misurando le rispettive concentrazioni ambientali);
  - Nel caso in cui si conoscano molto dettagliatamente i meccanismi di azione, che risultano molto simili per tutti i componenti della miscela, si potrebbe anche procedere con l'identificazione di un composto che diventa indicatore degli effetti potenziali registrabili;
6. Se i componenti della miscela cui si è esposti hanno dissimili modalità di azione ma comunque semplici:
  - Non ci si aspettano effetti combinati se l'esposizione di tutti i componenti è al di sotto dei rispettivi valori di NOAELs.
  - Effetti combinati dovuti all'interazione tra gli xenobiotici può verificarsi se l'esposizione ad uno o più componenti della miscela è al di sopra del rispettivo NOAEL.

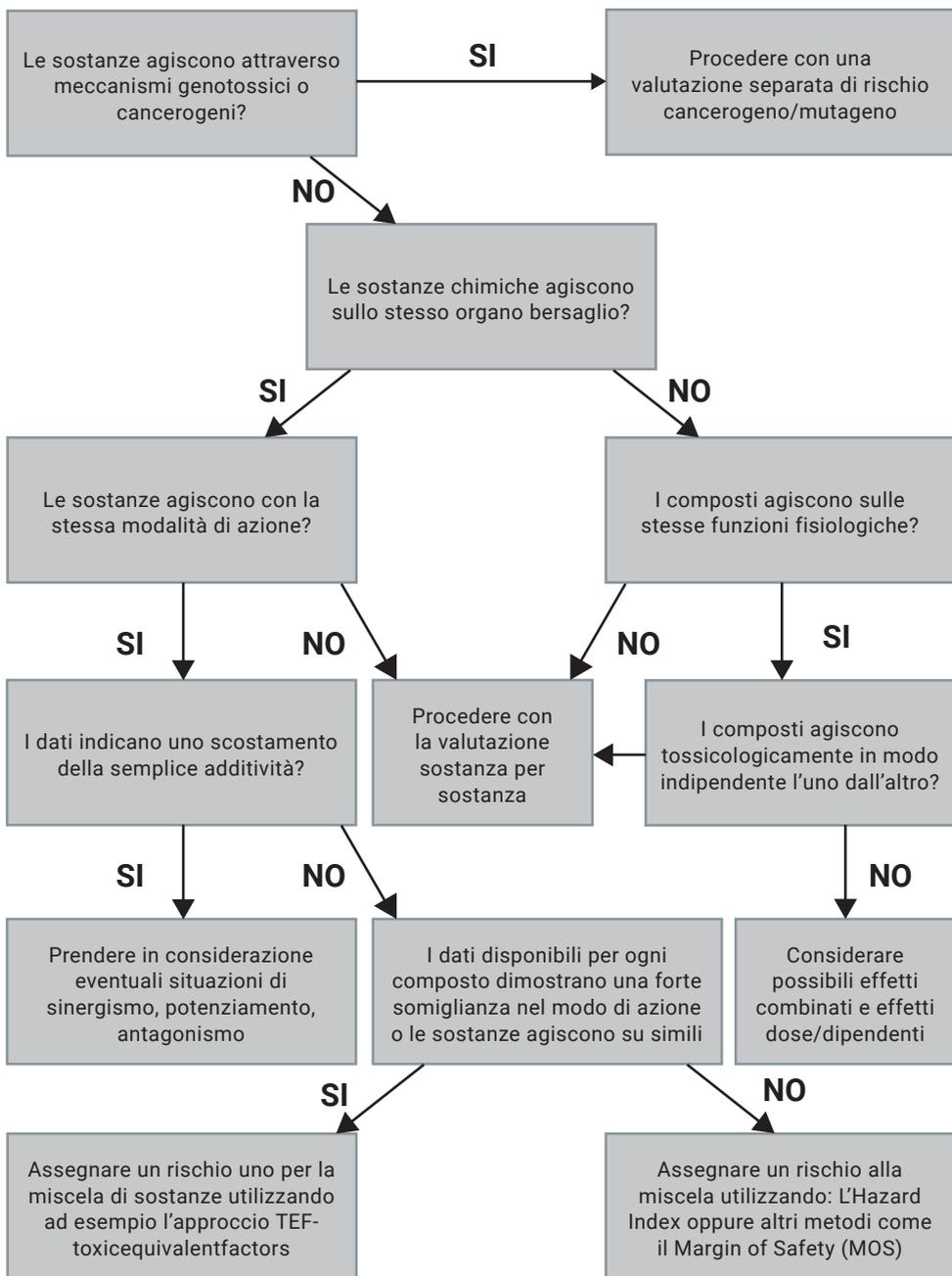


Fig. n. 5- Flow-chart adattata dalla proposta del KVM norvegese

Esistono numerose metodologie di valutazione del rischio, l'istituto norvegese suggerisce, oltre eventualmente all'applicazione dell'Hazard Index, già illustrato, ad esempio l'applicazione del:

- TEF (Toxic equivalent factors), procedura che va a valutare il «grado» di tossicità confrontandola con scale di tossicità predefinite, (molto utilizzata è quella delle diossine in cui la Tetraclorodibenzo-P-diossina ha tossicità pari a 1 e gli altri composti (simili per azione) vengono rapportati alla capacità tossica di questa molecola);
- MOS: Margin of Safety. calcolato come rapporto tra il valore di NOAEL e il valore di dose dovuto all'esposizione. Sono identificati dei MOS di riferimento dai dati sperimentali per le diverse sostanze e si procede con un confronto tra i due MOS, se il calcolato è inferiore al MOS di riferimento non si evidenziano rischi particolari).



## CRITICITÀ NELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO CUMULATIVO

Nella pratica comune della valutazione del rischio chimico in ambiente di lavoro, nonostante l'esplicita richiesta della normativa, l'applicazione di procedure di valutazione di co-esposizione rimane ancora una pratica marginale e spesso non eseguita. Vengono di seguito evidenziate delle criticità identificate che richiederebbero approfondimento e confronto maggiore:

- L'utilizzo generalizzato di modelli di non interazione (di additività di dose/risposta) che non tengono conto del possibile verificarsi di interazioni;
- Poche considerazioni in merito ai fattori temporali di esposizione;
- Il trascurare che i meccanismi di



azione ed interazione delle sostanze chimiche sono dose dipendenti con differenti effetti e/o interazioni possibili a differenti intervalli di dose (spesso si misura una dose esterna e non interna)

- La necessità di maggiori studi sui meccanismi di azione a livello molecolare delle diverse sostanze chimiche;
- La mancanza di un sistema di classificazione globalmente accettato relativo ai modi/meccanismi di azione delle sostanze.

## BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

C.D. Klaassen, J.B. Watkins "Elementi di Tossicologia", Casarett&Doull, C.E.A. Casa Editrice Ambrosiana 2013. ISBN 978-88-08-18407-8.

U. S. Environmental Protection Agency- Guidance for identifying pesticide chemicals and other substances that have a common mechanism of toxicity, 1999

M. Koller, C. Pletscher, M. Jost, SUVA 2013 fact sheet di Medicina del Lavoro.

ICPS- Assessment of combined exposure to multiple chemicals: Report of a WHO/IPCS International workshop on aggregate/cumulative risk assessment. WHO 2009 ISBN 978 92 4 156383 3

"Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: a WHO/IPCS framework" Regul Toxicol Pharmacol, 2011, 60: S1-S14.

Flow chart from the VKM Opinion "Combined toxic effects of multiple chemical exposures" 2008. ISBN 978-82-8082-232-1





**A.N.Fo.S.**

Associazione Nazionale Formatori della  
Sicurezza sul Lavoro

Via Romana 10/G - 00061 - Anguillara  
Sabazia  
ROMA - ITALIA

Numero Verde. 800.58.92.56  
Ufficio Convenzionati. 06.99.68.740

**info@anfoss.it - www.anfoss.it**