



*Istituto Superiore di Sanità*

## ***Istituto Superiore di Sanità***

### ***Dipartimento Ambiente e Salute***

#### ***Accordo di Collaborazione tra Istituto Superiore di Sanità e Regione Basilicata***

***Valutazione dell'esposizione a diossine e policlorobifenili di donne in età  
riproduttiva residenti in diverse aree della provincia di Potenza, tramite l'analisi di  
campioni di latte materno" (16/9/2015-15/03/2018)***

### ***RELAZIONE SCIENTIFICA CONCLUSIVA***

Responsabile Scientifico: Elena De Felip

Maggio 2018



## *Istituto Superiore di Sanità*

### **Unità Operativa**

Reparto di Chimica Tossicologica (fino al 31 luglio 2017), attualmente Area "Esposizione Umana a Contaminanti Ambientali", Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità

### **Gruppo di lavoro**

Abate Vittorio  
Abballe Annalisa  
Dellatte Elena  
De Felip Elena  
De Luca Silvia  
Ferri Fabiola  
Fulgenzi Anna Rita  
Iacovella Nicola  
Iamiceli Anna laura  
Ingelido Anna Maria  
Marra Valentina  
Miniero Roberto



## *Istituto Superiore di Sanità*

### ***Introduzione***

L'accordo di collaborazione con la ASL di Potenza (Responsabile Scientifico per l'accordo Dr. Mario Negrone) era finalizzato alla valutazione dell'esposizione a diossine e policlorobifenili di donne in età riproduttiva residenti in diverse aree della provincia di Potenza, tramite l'analisi di campioni di latte materno.

Nell'accordo erano stati definiti quali compiti per l'ISS:

1. la definizione dei criteri di arruolamento delle donatrici;
2. la predisposizione del materiale per l'arruolamento e per il prelievo dei campioni;
3. l'analisi di diossine e PCB nei campioni di latte materno;
4. la valutazione, l'interpretazione e la presentazione dei risultati ottenuti.

### ***Obiettivo e disegno dello studio***

Lo studio aveva carattere esplorativo. Si proponeva infatti di verificare i livelli di esposizione a policlorodibenzodiossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF), comunemente indicati come "diossine", e policlorobifenili (PCB) di un piccolo gruppo di donne residenti in aree a possibile esposizione incrementale a questi inquinanti, perché caratterizzate dalla presenza di impianti industriali.

Il disegno dello studio prevedeva che la valutazione dell'esposizione venisse effettuata attraverso il biomonitoraggio, analizzando le concentrazioni degli inquinanti in campioni di latte materno donato da un gruppo di circa 20 donatrici aventi caratteristiche simili (primiparità, età compresa tra i 20 e i 35 anni, residenza nella zona da almeno 10 anni). Il campione di latte doveva essere raccolto da ogni donna nell'intervallo temporale compreso tra la quarta e l'ottava settimana dal parto.

### ***Attività sperimentale***

Il materiale da utilizzarsi per l'arruolamento delle donatrici è stato predisposto dall'ISS, e sottoposto per approvazione alla ASL e al pertinente Comitato Etico. Tale materiale consisteva in:

- Descrizione dello studio
- Informativa a tutela della riservatezza dei dati personali
- Istruzioni per il prelievo e la conservazione del latte materno
- Modulo di consenso informato



## *Istituto Superiore di Sanità*

- Questionario
- Lettera di invito per le donatrici

Sui campioni di latte ricevuti dall'ISS è stata effettuata un'analisi preparativa consistente in un'estrazione liquido-liquido con miscela di etere etilico e *n*-esano, un'eluizione degli estratti concentrati in *n*-esano su colonna di Extrelut impregnato di  $H_2SO_4$ , e una purificazione *multi-step* con DEXTech. L'analisi strumentale è effettuata tramite gas cromatografia ad alta risoluzione abbinata a spettrometria di massa a bassa (HRGC-LRMS) e ad alta risoluzione (HRGC-HRMS), rispettivamente per NDL-PCB e per PCDD, PCDF, e DL-PCB.

PCDF, e PCB costituiscono tre famiglie di sostanze chimiche organoclorurate composte da numerosi congeneri. Di questi, solo sette PCDD e 10 PCDF sono ritenuti altamente tossici. Per quanto riguarda i PCB, solo 12 congeneri presentano un'azione tossica assimilabile a quella delle diossine e vengono identificati come PCB diossina-simili (DL-PCB) mentre tutti gli altri, caratterizzati da una diversa gamma di attività a livello tossicologico, vengono identificati come non diossina-simili (NDL-PCB). Sono stati analizzati nei campioni, in aggiunta ai 29 congeneri ad azione diossina-simile, i sei NDL-PCB cosiddetti "indicatori" (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180), che rappresentano i congeneri a maggiore interesse espositivo per le matrici biologiche.

### **Risultati e discussione**

I risultati di seguito descritti si riferiscono ai 19 campioni di latte, corrispondenti ad altrettante donatrici, raccolti dalla ASL di Potenza ed inviati a questo Istituto. I risultati relativi alle singole donatrici sono riportati nelle schede individuali allegate alla presente relazione (Allegati 1-19).

Si ricorda che, per esprimere il potenziale tossicologico dei 29 congeneri ad azione diossina-simile, la concentrazione di ogni congenere deve essere moltiplicata per un fattore di conversione (TEF, *Toxicity Equivalency Factor*), che esprime il suo potenziale tossico relativo al congenere più attivo (2,3,7,8-tetraclorodibenzodiossina, TEF = 1). Si ottiene così una concentrazione analitico-tossicologica espressa in TEQ o unità TE (*Toxic Equivalents*). Il procedimento di normalizzazione mediante l'uso dei TEF consente di esprimere il contenuto di diossine e/o DL-PCB come somma di tutte le concentrazioni analitico-tossicologiche dei singoli congeneri. Ai fini del presente studio, per consentire un confronto il più possibile ampio con quanto disponibile in letteratura, i risultati delle determinazioni analitiche effettuate sono stati convertiti in unità TE applicando sia la scala TEF stabilita del WHO nel 1998, che la più recente scala TEF stabilita dal WHO nel 2005.

Relativamente ai PCB ad azione non diossina-simile, viene riportata la concentrazione cumulativa dei sei congeneri indicatori (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180).

Come richiesto dal disegno dello studio, le donne che hanno donato il campione di latte sono primipare e residenti nell'area di interesse da almeno dieci anni. Il valore medio dell'età è di circa 29 anni.



## *Istituto Superiore di Sanità*

I risultati delle determinazioni analitiche effettuate sono riassunti in Tabella 1. La Tabella 2 riporta la statistica descrittiva dei 19 campioni.

Per facilitare l'interpretazione dei dati ottenuti, sono riportati in Tabella 3 gli intervalli di concentrazione rilevati nel latte materno in altri studi condotti su donne italiane dal Reparto di Chimica Tossicologica (1,2).

Vengono inoltre riportati in Tabella 4 i valori di concentrazione di diossine e PCB osservati nel più vasto studio ad oggi condotto sui livelli ematici di questi contaminanti in donne italiane. In questo studio (Progetto Life Plus "Womenbiopop"), condotto dal Reparto di Chimica Tossicologica nel periodo 2011-2013, sono state misurate le concentrazioni di diossine, PCB e altri inquinanti organici persistenti in un gruppo di 476 donne nullipare, di età compresa tra i 20 e i 40 anni, residenti in diverse regioni italiane (3). Poiché diversi studi (4) condotti sulla distribuzione congenere-specifica di diossine e PCB nei tessuti e fluidi del corpo umano hanno dimostrato che c'è una correlazione altamente significativa tra le concentrazioni nel sangue e quelle nel latte materno (in particolare, il rapporto siero ematico/latte è intorno a 1 per quei congeneri che maggiormente contribuiscono al TE totale), le concentrazioni rilevate nel siero possono essere ritenute predittive, in modo quantitativo, di quelle presenti nel latte. E' quindi possibile confrontare i valori di concentrazione determinati nel presente studio anche con quelli osservati nello studio "Womenbiopop".

Dal confronto con i valori riportati nelle Tabelle 3 e 4 si osserva che la concentrazione cumulativa media di PCDD+PCDF+DL-PCB rilevata nel presente studio, pari a 6.46 pgWHO-TE<sub>1998</sub>/g grasso, rappresenta il valore più basso tra i valori osservati. Anche per quanto riguarda la concentrazione dei sei PCB indicatori, il valore medio osservato, pari a 34.3 ng/g grasso, rappresenta il valore più basso tra i valori medi rilevati negli stessi studi.

Per quanto riguarda lo studio dell'associazione tra le variabili investigate dal questionario e i livelli di concentrazione osservati, questo è stato effettuato con l'applicazione del coefficiente di Kendall (utilizzato in questo contesto invece del test di Spearman data la bassa numerosità del campione (5)). Dall'analisi effettuata l'età si conferma il fattore individuale che maggiormente influenza il carico corporeo degli inquinanti in studio ( $p \ll 0.05$ , coefficienti di Kendall  $> 0.3$  per tutti gli analiti). Non si osserva un'associazione significativa con le concentrazioni degli inquinanti né per le variabili relative alla residenza, né con quella relativa all'impiego. Tra le variabili alimentari considerate, l'unica associazione degna di nota sembra essere quella relativa al consumo di pesce ( $p < 0.5$ , coefficienti di Kendall  $> 0.3$  per tutti gli analiti).

Come osservato in altri studi (6), anche in questo si osserva una correlazione inversa tra l'abitudine al fumo e i livelli osservati ( $p \ll 0.05$ , coefficienti di Kendall  $> 0.3$  per tutti gli analiti). Tale correlazione sarebbe determinata secondo alcuni autori (7,8) dall'induzione, associata al fumo, di specifici enzimi coinvolti nella degradazione degli inquinanti in studio.



## *Istituto Superiore di Sanità*

**Tabella 2.** Statistica descrittiva delle concentrazioni cumulative di PCDD, PCDF, DL-PCB (esprese in pgWHO-TE<sub>1998</sub>/g grasso e in pgWHO-TE<sub>2005</sub>/g grasso) e  $\Sigma_6$ PCB indicatori (ng/g grasso) nel latte delle donne di questo studio

| Contaminante                                             | Media | Mediana | Min  | Max  |
|----------------------------------------------------------|-------|---------|------|------|
| PCDD+PCDF+DL-PCB<br>(pgWHO-TE <sub>1998</sub> /g grasso) | 6.46  | 6.35    | 3.75 | 10.2 |
| PCDD+PCDF<br>(pgWHO-TE <sub>1998</sub> /g grasso)        | 3.62  | 3.54    | 2.04 | 6.05 |
| DL-PCB<br>(pgWHO-TE <sub>1998</sub> /g grasso)           | 2.84  | 2.80    | 0.85 | 5.24 |
| $\Sigma_6$ PCB<br>(ng/g grasso)                          | 34.3  | 29.6    | 11.0 | 66.3 |
| PCDD+PCDF+DL-PCB<br>(pgWHO-TE <sub>2005</sub> /g grasso) | 4.65  | 4.60    | 2.92 | 7.23 |
| PCDD+PCDF<br>(pgWHO-TE <sub>2005</sub> /g grasso)        | 2.96  | 2.90    | 1.69 | 4.28 |
| DL-PCB<br>(pgWHO-TE <sub>2005</sub> /g grasso)           | 1.69  | 1.52    | 0.47 | 3.05 |

**Tabella 3.** Concentrazioni cumulative di PCDD, PCDF, DL-PCB (pgWHO-TE<sub>1998</sub>/g grasso) e  $\Sigma_6$ PCB indicatori (ng/g grasso) in latte di donne Italiane rilevate in studi condotti dall'ISS nel periodo 2000-2009

| Località                           | N              | PCDD+PCDF+<br>DL-PCB |      |      | DL-PCB |      |      | PCDD+PCDF |      |      | $\Sigma_6$ PCB |      |      |
|------------------------------------|----------------|----------------------|------|------|--------|------|------|-----------|------|------|----------------|------|------|
|                                    |                | Media                | Min  | Max  | Media  | Min  | Max  | Media     | Min  | Max  | Media          | Min  | Max  |
| 10 Comuni<br>campani <sup>2</sup>  | 52<br>(6 pool) | 12.1                 | 10   | 14.2 | 5.31   | 4.02 | 6.15 | 6.75      | 5.99 | 8.77 | 62.5           | 48.7 | 74.2 |
| Roma <sup>2</sup>                  | 10<br>(1pool)  | 14.2                 |      |      | 6.97   |      |      | 7.26      |      |      | 108            |      |      |
| Trentino<br>AltoAdige <sup>3</sup> | 20             | 13.4                 | 7.47 | 23.4 | 6.30   | 2.91 | 12.1 | 7.13      | 4.10 | 13.2 | 74.6           | 27.1 | 188  |



## *Istituto Superiore di Sanità*

**Tabella 4.** Concentrazioni cumulative di PCDD, PCDF, DL-PCB ( pgWHO-TE<sub>1998</sub>/g grasso) e  $\Sigma_6$ PCB indicatori (ng/g grasso) nel siero di donne Italiane, progetto “Womenbiopop” (2011-2013)

| Contaminante                                             | Media | Mediana | Min  | Max |
|----------------------------------------------------------|-------|---------|------|-----|
| PCDD+PCDF+DL-PCB<br>(pgWHO-TE <sub>1998</sub> /g grasso) | 14    | 13      | 3.6  | 43  |
| PCDD+PCDF<br>(pgWHO-TE <sub>1998</sub> /g grasso)        | 7.7   | 7.1     | 2.7  | 21  |
| DL-PCB<br>(pgWHO-TE <sub>1998</sub> /g grasso)           | 6.4   | 5.7     | 0.31 | 24  |
| $\Sigma_6$ PCB<br>(ng/g grasso)                          | 88    | 75      | 7.7  | 411 |
| PCDD+PCDF+DL-PCB<br>(pgWHO-TE <sub>2005</sub> /g grasso) | 10    | 9.6     | 3.1  | 33  |
| PCDD+PCDF<br>(pgWHO-TE <sub>2005</sub> /g grasso)        | 6.4   | 6.0     | 2.4  | 19  |
| DL-PCB<br>(pgWHO-TE <sub>2005</sub> /g grasso)           | 4.0   | 3.5     | 0.23 | 16  |



## *Istituto Superiore di Sanità*

### Riferimenti bibliografici

- 1) De Felip E, Bianchi F, Bove C, Cori L, D'Argenzio A, D'Orsi G, Fusco M, Miniero R, Ortolani R, Palombino R, Parlato A, Pelliccia MG, Peluso F, Piscopo G, Pizzuti R, Porpora MG, Protano D, Senofonte O, Spina SR, Simonetti A, di Domenico A. Priority persistent contaminants in people dwelling in critical areas of Campania Region, Italy (SEBIOREC biomonitoring study). *Sci Total Environ.* 2014 Jul 15;487:420-35.
- 2) Miniero R., Ferri F., Carraro V., Franchini S., Fulgenzi AR, Iacovella N., Ingelido AM. and De Felip E. Chemical indicators of exposure to polychlorodibenzo-p-dioxins, polychlorodibenzofurans and polychlorobiphenyls in breast milk samples from mothers residing in Trento, Italy, and neighboring country municipalities. *J. Environ. Sci. Health, Part B*, 2018, <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1462920>.
- 3) Ingelido AM, Abate V, Abballe A, Albano FL, Battista T, Carraro V, Conversano M, Corvetti R, De Luca S, Franchini S, Fulgenzi AR, Giambanco L, Iacovella N, Iamiceli AL, Maiorana A, Maneschi F, Marra V, Pirola F, Porpora MG, Procopio E, Suma N, Valentini S, Valsenti L, Vecchiè V, De Felip E. Concentrations of polychlorinated dibenzodioxins, polychlorodibenzofurans, and polychlorobiphenyls in women of reproductive age in Italy: A human biomonitoring study. *Int J Hyg Environ Health* 2017 Apr;220(2 Pt B):378-386.
- 4) Mannetje, A., Coakley, J., Mueller, J., Harden, F., Toms, L., Douwes, J., 2012. Partitioning of persistent organic pollutants (POPs) between human serum and breast milk: a literature review. *Chemosphere* 89, 911–918.
- 5) Bender R. and Lange S. (2001). Adjusting for multiple testing — When and how? *Journal of Clinical Epidemiology* 54, 343–349.
- 6) Miyashita, C., Sasaki, S., Saijo, Y., Okada, E., Kobayashi, S, Baba, T., Kajiwara, J., Todaka, T., Iwasaki, Y., Nakazawa, H., Hachiya, N., Yasutake, A., Murata, K., Kishi, R., 2015. Demographic, behavioral, dietary, and socioeconomic characteristics related to persistent organic pollutants and mercury levels in pregnant women in Japan. *Chemosphere* 133, 13–21.
- 7) O'Grady Milbrath, M., Wenger, Y., Chang, W., Emond, C., Garabrant, D., Gillespei, B., et al., 2009. Apparent half-lives of dioxins, furans, and polychlorinated biphenyls as a function of age, body fat, smoking status, and Breast feeding. *Environ. Health Perspect.* 117 (3), 417–425.
- 8) Pavuk, M., Olson, J.R., Wattigney, W.A., Dutton, N.D., Sjödin, A., Shelton, C., Turner, W.E., Bartell, S.M.; Predictors of serum polychlorinated biphenyl concentrations in Anniston residents. *Sci. Total Environ.* 496, 624–34.



## *Istituto Superiore di Sanità*

Allegati: Schede individuali dei risultati di analisi, n. 1-19

Roma, 16 maggio 2018

Il Responsabile Scientifico dell'Accordo

Dott.ssa Elena De Felip

A handwritten signature in black ink, reading "Elena De Felip". The signature is written in a cursive style with a small dot above the 'i' in Felip.