

**SOCIETÀ ITALIANA VALORI DI RIFERIMENTO**  
**Atti 4° Congresso Nazionale**  
**“1ª LISTA S.I.V.R. DEI VALORI DI RIFERIMENTO”**  
**CASTELLO DI S. GAUDENZIO (PV)**  
**14-16 dicembre 2000**  
*a cura di Giovanni Catenacci e Cristina Aprea*

**Richiesta estratti:**

1. *Gli atti potranno essere richiesti a:*

Redazione  
“Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia”  
Fondazione Salvatore Maugeri  
Istituto di Pavia  
Via A. Ferrata, 4  
27100 PAVIA  
All’attenzione del Prof. M. Imbriani  
tel. 0382/592990-598  
fax 0382/592514-090

2. *Il testo delle relazioni comparirà sul sito dell’Associazione all’indirizzo:*  
[www.fsm.it/assolombarda/medlav](http://www.fsm.it/assolombarda/medlav)

Pagina 14  
Bianca

C. Minoia<sup>1</sup>, P. Apostoli<sup>2</sup>

## 1<sup>a</sup> lista SIVR dei valori di riferimento: definizioni, criteri metodologici e strategie analitiche

<sup>1</sup> Laboratorio di Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale, Fondazione "S. Maugeri", Clinica del Lavoro e della Riabilitazione, IRCCS, Istituto Scientifico di Pavia

<sup>2</sup> Cattedra di Igiene Industriale, Università di Brescia

**RIASSUNTO.** Viene presentata la 1<sup>a</sup> lista SIVR 2001 dei valori di riferimento (VR) di elementi in traccia e dei principali xenobiotici organici e/o loro metaboliti in fluidi biologici (urina, siero, sangue intero) e i relativi fattori di variabilità (sesso, alimenti, alcol, fumo, farmaci, zona di residenza). Viene rivalutata la strategia dei progetti SIVR in funzione dell'impiego di tecniche multielementari o della possibilità di determinare sullo stesso campione biologico un elevato numero di analiti. Nella definizione dei valori di riferimento dei PCB vengono discusse alcune strategie analitiche relative ai criteri di selezione degli analiti (congeneri tossici e di-orto non planari). Infine vengono sintetizzati i risultati di 2 Progetti SIVR relativi alla determinazione del Pb ematico e del Hg urinario.

**Parole chiave:** valori di riferimento, indicatori biologici.

**ABSTRACT.** *www.gimle.fsm.it* - In this paper, a list of reference values for trace elements and some of the main organic xenobiotics and/or their metabolites in biological matrices (urine, serum or blood) is presented. This list has been made out taking into account several variables, such as sex, diet, alcohol and drugs consumption, smoking habits, living area, etc. and it is referred to as the 1<sup>st</sup> SIVR list 2001. In addition, the SIVR research activity is reassessed on the basis of the availability of multielement techniques and new analytical approaches. In particular, to define the reference values for PCB, selection criteria and analytical methodologies are discussed with a view to choosing the more significant congeners and the most suitable technique. In the end, the results from two SIVR projects concerning the determination of haematic Pb and urinary Hg are synthesized.

**Key words:** *reference values, biomarkers.*

### Introduzione

L'attività della Società Italiana Valori di Riferimento (SIVR) è incentrata sulla messa a punto e lo sviluppo di Progetti finalizzati a produrre valori di riferimento (VR) per diverse categorie di xenobiotici o metaboliti, come sintetizzato in un recente lavoro di Minoia e Apostoli (Tabella I) (1).

La peculiarità dell'attività SIVR è sempre stata quella di produrre VR attraverso una serie successiva di fasi operative (Progetto) così sintetizzabili: a) valutazione metalitica dei VR già disponibili in letteratura per l'indicatore biologico considerato; b) valutazione comparativa, teorica e sperimentale, delle tecniche strumentali ottimali e disponibili; c) studio e controllo dei fattori preanalitici (ad es. contaminazione accidentale del campione in fase di prelievo e modalità di conservazione); d) studio delle variabili biologiche e influenza delle abitudini alimentari e voluttuarie; e) elaborazione statistica dei dati ottenuti. In questo percorso, cronicamente afflitto da una "sindrome dell'accuratezza", la misura prevede sempre l'utilizzo di materiali certificati e l'attivazione di controlli interlaboratoriali (laboratori partecipanti ai progetti SIVR) (2). Nel richiamare alcuni dei passaggi ritenuti fondamentali appare altresì opportuno ricordare che sono stati pubblicati numerosi articoli sul "significato e sull'utilità" dei VR (3). Ciò anche rispetto a posizioni critiche, alle quali si è sempre cercato di dare una valenza costruttiva, anche se espressa da chi, nell'ambito della medicina ambientale e occupazionale, era inizialmente orientato a considerare i VR una sorta di esercizio di laboratorio, con scarse e limitate ricadute sull'interpretazione dei valori ottenuti. Con ogni probabilità il termine *background* che nella *legenda* dei BEI ACGIH indica la presenza di una specifica sostanza o metabolita nei fluidi biologici della popolazione generale è stata inizialmente considerata un'indicazione esaustiva anche se, in modo poco scientifico e accurato, sottintende il valore di riferimento. Questo scetticismo, oltre che indebolito dalla letteratura internazionale che ha al contrario in questi anni rafforzato l'importanza dei VR, in non poche occasioni è stato contrastato proprio dalla produzione dei dati sperimentali SIVR. Aprea e Coll. (4, 5, 6) in ricerche che miravano a definire VR dell'etilenteo urinaria e del 3,5,6-tricloro-2-piridinolo urinario,

**Tabella I. Riassunto dei risultati di alcuni studi della SIVR sui Valori di Riferimento**

Xenobiotico Metabolita	Matrice	Numero di soggetti	Media	Mediana	Percentile	
					5°	95°
2,5-esandione	Urina (mg/l)	123	0,22	0,25	ND	0,8
Benzene <sup>a,b</sup>	Urina (ng/l)	149	175	159	66	347
		139	136	113	38	296
Toluene		147	576	435	128	1361
		139	326	204	55	1260
Xilene		144	316	233	75	909
		139	113	95	42	332
ETU	Urina (µg/l)	167	2,7	1,8	0,8	83
1°H-pirene	Urina (µg/g creat.)	419	0,273	0,173	0,054	0,744
Cra	Urina (µg/l)	233	0,06	(media geom.) ("''')	ND	0,18
		657	0,08		ND	0,26

ND: non determinato

<sup>a</sup> VR per gruppi residenti in aree differenti<sup>b</sup> VR per un gruppo particolare di popolazione (bambini)**Tabella II. Congeneri proposti dalla WHO per la determinazione del Valore di Tossicità Equivalente TEQ**

Congenero	TEF	Congenero	TEF
77	0,0005	156	0,0005
81	0,0001	157	0,0005
105	0,0001	167	0,00001
114	0,0005	169	0,01
118	0,0001	170	0,0001
123	0,0001	180	0,00001
126	0,1	189	0,0001

**Tabella III. Impiego di tecniche accoppiate nella determinazione di VR di terre rare in urina (n = 58) [da Bettinelli e Coll., modificato (12)]**

Elemento	Concentrazione urina (ng/l)		
	Media ± DS	Mediana	Intervallo
Ce	15,7 ± 9,2	14,2	> 7,0 – 58,8
Dy	10,3 ± 8,6	7,8	3,3 – 55,4
Er	7,5 ± 5,8	5,6	> 3,0 – 35,0
Eu	4,3 ± 3,0	3,6	> 1,5 – 17,8
Gd	14,5 ± 5,3	15,1	> 9,0 – 31,0
Ho	3,7 ± 3,5	2,4	> 1,5 – 19,8
La	16,0 ± 9,8	12,2	> 6,0 – 49,7
Lu	2,8 ± 2,0	2,3	> 1,5 – 11,8
Nd	19,6 ± 6,3	18,2	5,0 – 37,7
Pr	7,5 ± 4,4	6,2	3,0 – 25,6
Sm	18,4 ± 12,0	15,7	4,6 – 69,2
Tb	4,7 ± 3,3	3,9	> 2,0 – 18,1
Tm	2,5 ± 2,3	1,7	> 1,0 – 13,2
Yb	7,2 ± 5,2	5,2	2,4 – 33,4

hanno ad es. dimostrato come le variazioni di un indicatore biologico possono talvolta essere anche l'espressione di variabili di origine alimentare, sino a produrre valori prossimi a quelli rilevabili in soggetti professionalmente esposti ad antiparassitari. È interessante osservare che per il 3,5,6-tricloro-2-piridinolo urinario i dati ottenuti nello studio italiano sono risultati simili, nei livelli di concentrazione e nelle percentuali di positività dell'indicatore, a quelli ottenuti nel Progetto Nhanes III (*National Health and Nutrition Examination Survey*) (7).

Proprio per ribadire l'importanza dell'utilizzo dei VR è stata proposta nell'ultimo Convegno Nazionale SIVR la 1<sup>a</sup> Lista SIVR dei valori di riferimento per l'anno 2001, riportata nelle Tabelle IV e V, da sottoporre ad annuale aggiornamento e revisione in funzione dei nuovi dati resi disponibili dai progetti in corso e attraverso un costante aggiornamento della letteratura nazionale e internazionale. Si sono nel contempo rese necessarie alcune riflessioni auto-critiche sull'attività SIVR, tese ad accelerare la produzione dei VR, mantenendo come obiettivo primario la ricerca e garanzia dell'accuratezza del dato analitico. L'evoluzione tecnico-strumentale e la domanda di disporre, spesso in tempi brevi, di VR di indicatori biologici, spingono infatti a riconsiderare la struttura dei progetti SIVR, anche per un contenimento dei costi analitici. In questo contributo verranno quindi formulate alcune riflessioni e avanzate proposte operative che non hanno la pretesa di costruire un punto di arrivo ma un terreno di confronto nell'ambito dell'attività tecnico-scientifica SIVR nel suo complesso, a partire dagli specifici gruppi di lavoro.

#### **Evoluzione del Progetto SIVR: dall'analisi monoelementare a quella multielementare**

La crescente diffusione di tecniche multielementari o in grado di garantire la determinazione di un ampio spettro di analiti sul medesimo campione biologico, unitamente alla necessità di contenere i costi analitici dei Progetti

**Tabella IV. Valori di riferimento degli elementi di interesse biologico e tossicologico (1ª lista SIVR 2001)**

	Intervallo di concentrazione (µg/l)			Fattori di variabilità
	Sangue	Siero	Urina	
Al	-	1,5 - 10	1 - 15	D
As totale (inorganico ed organico)	1 - 12	-	5 - 350	Al, R
As tri e pentavalente e specie mono-dimetilate	-	-	2 - 25	D, Al, R
As tri e pentavalente	-	-	n.d. - 1,5	D, R
B	-	-	250 - 1700	D
Ba	-	-	0,1 - 10	Al, D
Be	-	-	n.d. - 0,1	R
Cd	0,1 - 3	-	0,1 - 4	R, F
Co	0,1 - 1	-	0,2 - 2	Al
Cr	-	0,1 - 1	n.d. - 2 (T)	E, R, F
Cu	-	500 - 1500	5 - 60	S, E
Hg	1 - 5	0,5 - 3	n.d. - 9 (T)	Al, D, E
Mn	3 - 10	0,5 - 3	0,5 - 5	Al, Ct, F, R
Mo	-	-	11,1 - 155,8	E, A, F, S
Ni	0,5 - 4	0,2 - 2	0,1 - 4	F, S, E
Pb	5 - 160 (T)	n.d. - 1	5 - 30	R, A, E, S, D
Pt	-	-	n.d. - 0,01	R
Sb	0,1 - 3	-	0,2 - 5	R
Se	30 - 150 (T)	15 - 100 (T)	1 - 25	D, Al, E
Tl	n.d. - 0,1	-	n.d. - 1	R, F
V	-	-	n.d. - 2	R
W	-	-	n.d. - 2	R
Zn	3500 - 8000	300 - 1000	250 - 1500	Al, E, S

n.d. = inferiore al limite di rilevabilità

I valori sono stati ottenuti attraverso specifiche indagini, esperienze dei laboratori del circuito SIVR (T), o attraverso valutazioni dei dati di letteratura.

Fattori di variabilità: i valori possono essere condizionati da variabili quali sesso (S); età (E); fumo di tabacco (F); consumo di alcool (A); consumo di caffè-tè (Ct); alimentazione, acqua (Al); consumo di farmaci o medicamenti (D); residenza (R).

Consultare la letteratura per valutarne la specifica influenza.

SIVR, stanno imponendo un diverso orientamento agli studi di definizione dei VR in fluidi biologici. Utilizzando la stessa casistica (popolazione di riferimento) e contenendo i volumi di campione (urina, siero, sangue intero) si sta, analogamente a quanto già sperimentato in studi americani come il Nhanes III (7), cercando di identificare e analizzare un elevato numero di xenobiotici e/o loro metaboliti nel tentativo di definirne un "profilo" caratteristico per gruppi di soggetti residenti in differenti aree. Questo approccio agevola studi di confronto che, se ripetuti, permettono di valutare criticamente le variazioni temporali eventualmente intervenute, ad es. nella ecodispersione dei tossici. Inoltre, se per un medesimo gruppo di popolazione generale si dispone di dati sull'esposizione ambientale, in particolare della stima dell'*intake* alimentare per gli stessi xenobiotici, può risultare più agevole orientare azioni preventive di sanità pubblica. Ci si riferisce all'evoluzione della composizione dei carburanti o al rinnovamento del parco autoveicolare. Nel caso del Pt, ad es., per cui l'aero-

dispersione in ambiente è dovuta al rilascio dalle marmitte catalitiche, sarebbe interessante monitorarne l'esposizione ambientale individuale (livelli ematici e urinari) per verificare eventuali modifiche nel tempo della concentrazione di questi indicatori. Questo permetterebbe tra l'altro di porre sotto controllo un'altra importante sorgente ambientale di Pt (utilizzo di farmaci antineoplastici a base di Pt) in grado di costituire una fonte significativa di contaminazione ambientale, con prevedibili ricadute a medio e lungo termine sulla quota di metallo introdotta con la dieta (8).

#### **Analisi di miscele di composti: l'esempio della determinazione di PCB nel siero**

In funzione del numero di atomi di cloro e della loro posizione nella molecola possono essere presenti nell'ambiente sino a 209 PCB per cui è evidente che la determinazione analitica sarà limitata a quelli a più elevata tossicità e diffusione. L'esigenza di disporre di VR di PCB nel siero è oggi particolarmente sentita anche perché non sono

**Tabella V. Valori di riferimento di alcuni dei principali xenobiotici organici e/o dei loro metaboliti (1ª lista SIVR 2001)**

	Unità di Misura	Intervallo di concentrazione		Fattori di variabilità
		Sangue	Urina	
Acetone	mg/l	0,1 – 2	0,2 – 2,5	Al
Ammine aromatiche totali	mg/l	–	n.d. – 1,8	D
Anilina	µg/l	–	n.d. – 12,7 (T)	D
4-aminobifenile	µg/l	–	n.d. – 0,7	D
Benzene	ng/l	7 – 2240 (T)	65 – 1450 (T)	F, R
Fenolo	mg/l	–	10 – 100	A, R, F
Acido t,t-muconico	µg/g creat.	–	10 – 605 (T)	F, A, R
2,5-esandione	mg/l	–	0,1 – 1 (T)	–
<b>Stirene</b>	ng/l	n.d. – 1000	n.d. – 2700	R
Acido mandelico	mg/g creat.	–	n.d. – 5	–
Acido fenilglicosilico	mg/g creat.	–	n.d. – 5	–
Toluene	ng/l	n.d. – 3000 (T)	130 – 1350 (T)	R
Acido ippurico	mg/g creat.	–	100 – 1400 (T)	Ct
o-Cresolo	µg/l	–	30 – 350	R, F
Xileni	ng/l	35 – 1830 (T)	75 – 910 (T)	R, F
Acidi metilippurici	mg/g creat.	–	n.d. – 10	–
Tricloroetilene	ng/l	n.d. – 1500	25 – 1250	–
Percloroetilene	ng/l	15 – 2500	25 – 1150	–
Acido tricloroacetico	mg/l	0,01 – 0,16	n.d. – 0,2	–
1-naftolo	µg/l	–	n.d. – 11,04	F, Al, R
1-Ildrossipirene	µg/g creat.	–	n.d. – 1,40 (T)	F, Al, R
Etilentiourea	µg/l	–	n.d. – 10 (T)	A, Al, F
3,5,6 tricloro-2-piridinolo	µg/l	–	n.d. – 15 (T)	A, Al
PCB	µg/l	1,0 – 7,4 (plasma)	–	Al, R

n.d.= inferiore al limite di rilevabilità

I valori sono stati ottenuti attraverso specifiche indagini, esperienze dei laboratori del circuito SIVR (T) o attraverso valutazioni dei dati di letteratura.

Fattori di variabilità: i valori possono essere condizionati da variabili quali sesso (S); età (E); fumo di tabacco (F); consumo di vino, alcool (A); consumo di caffè-tè (Ct); alimentazione, acqua (Al); consumo di farmaci o medicinali (D); residenza (R).

Consultare la letteratura per valutarne la specifica influenza.

infrequenti situazioni di inquinamento ambientale, con ricadute significative sull'*intake* alimentare. Pur trattandosi di un'esposizione ad un elevato numero di composti, se l'interesse è per i congeneri con tossicità simile alle diossine è logico prevedere un VR per ciascuno dei singoli PCB per i quali l'Organizzazione Mondiale della Sanità nel Congresso di Stoccolma del 1997 (9) ha indicato una tossicità equivalente alle diossine di riferimento. Parimenti, potrebbe essere proposto un VR per la totalità dei congeneri tossici, cui è stato attribuito un TEF o fattore di tossicità equivalente (Tabella II).

Questo tipo di approccio potrebbe favorire il confronto tra VR sia su base nazionale sia internazionale, anche tenuto conto dell'influenza del diverso tipo di dieta dei soggetti residenti in diverse aree geografiche. Inoltre, nel caso in cui venissero identificati gruppi di soggetti particolarmente esposti per motivi ambientali e/o alimentari potrebbe risultare facilitata, attraverso la lettura del profilo di PCB rilevati in quantità anomale, la identificazione delle

sorgente inquinanti (ad es. attraverso l'analisi di singoli alimenti o di *pools* di campioni alimentari). Accanto al VR dei PCB tossici potrebbe però essere necessario prevedere un VR dei PCB totali, indicatore biologico molto utile per indagini di *screening*. Questo comporta la necessità di definire in modo puntuale il profilo e il numero dei congeneri tossici e identificare quelli maggiormente diffusi e rappresentativi. Una possibile ipotesi di lavoro è quella di includere la totalità dei congeneri tossici e i congeneri non planari presenti in quantità più elevate nel siero di individui non professionalmente esposti, in modo da garantire una rappresentatività superiore ad almeno il 90% rispetto alla totalità dei PCB presenti nella matrice biologica.

Dall'altra parte potrebbe essere necessario disporre di VR di singoli congeneri come il 153, che alcune recenti indagini hanno messo in relazione a specifiche azioni endocrine, per la individuazione dei metodi più idonei nello studio dei VR. Ci si riferisce in particolare alle seguenti problematiche:

- specificità e sensibilità della tecnica utilizzata;
- rischio di coeluizione di congeneri sul tracciato cromatografico, con la possibilità di incorrere in errori di sovrastima;
- il rischio di coeluizione permane anche dopo avere identificato e ottimizzato le condizioni strumentali per cui la validazione del metodo può risultare difficoltosa in quanto i congeneri presenti nel campione di siero possono variare in termini qualitativi e/o quantitativi, da soggetto a soggetto. Inoltre non necessariamente il profilo dei congeneri determinati coinciderà con quello dei PCB per i quali in metodo è stato preventivamente validato, in quanto non si possono a priori escludere oltre alla variabilità interindividuale gli effetti interferenti (coeluizione) in precedenza enunciati.

Da quanto esposto si evidenzia di quale complessità può risultare la definizione dei VR dei PCB nel siero per cui il relativo Progetto SIVR, attivato nel gennaio 2002, necessita di un'accurata valutazione critica della letteratura esistente, per gli aspetti preanalitici e analitico. È comunque presumibile che si dovranno impiegare più tecniche strumentali (dalla GC con cattura di elettroni alla GC-MS con ionizzazione negativa) per le quali dovranno essere valutati con estrema attenzione vantaggi e limiti di utilizzo, grado di specificità e costi. Un aspetto analitico particolarmente importante è relativo alla coeluizione dei congeneri che dovrà essere accuratamente verificato rispetto al profilo dei congeneri selezionati, ricorrendo alle opportune tecniche di conferma (ad es. impiego di doppia colonna cromatografica). Ciò anche al fine di garantire un adeguato controllo inter ed intralaboratorio, non escludendo l'utilizzo di congeneri marcati o perdeuterati come standard interni. Un'ulteriore fase di sviluppo del Progetto SIVR sui PCB dovrà altresì prevedere un'analogo studio della Concentrazione di Riferimento dell'Assunzione Alimentare di queste sostanze.

#### Accoppiamento di tecniche e analisi multielementare

L'impiego dell'ICP-MS nel laboratorio chimico-tossicologico ha notevolmente contribuito allo sviluppo di metodi multielementari per la determinazione di elementi in traccia al punto che anche il *Working Group Analytical Chemistry* della DFG ha dedicato ampio spazio alle possibilità che questa tecnica offre nel monitoraggio biologico (10). Lo stesso gruppo di lavoro ha peraltro proposto un metodo per la determinazione contemporanea di 10 elementi in traccia mediante ICP-MS (Bi, Cd, Hg, Pb, Pt, Sb, Sn, Te, Th, W) (11) con limiti di rivelabilità che per l'analisi dell'urina sono compresi tra 0,005 µg/l per Bi e Tl e 0,05 µg/l per Sn. Come si può dedurre questi valori sono ampiamente compatibili con i VR per cui l'ICP-MS è l'esempio tipico di come l'analisi multielementare possa ridurre significativamente i tempi e i costi di analisi, anche considerando l'esigua fase di preparazione del campione che viene richiesta.

Un'espansione delle possibilità applicative dell'ICP-MS è quella data dalla possibilità di accoppiamento con altre tecniche strumentali, come ad es. la spettrometria ad assorbimento atomico con fornetto di grafite (GFAAS). In un lavoro di Bettinelli e Coll. (12) questa soluzione tecnica è

stata recentemente applicata alla determinazione di 14 elementi del gruppo delle terre rare (REE) in campioni di urina. Come si può desumere dai dati riportati in Tabella III l'accoppiamento GFAAS/ICP-MS consente di determinare i livelli di REE in campioni di urina ottenuti da un gruppo di popolazione generale. Dei 14 elementi considerati il valore medio più elevato è stato riscontrato per il samario (18,4 ng/l) mentre il tullio presentava una concentrazione media di 2,5 ng/l.

Tra le possibilità di interfacciamento dell'ICP-MS con altre tecniche una particolare attenzione merita l'arsenico, in particolare per quelle forme come le arsenobetaine che non sono facilmente ridotte col sistema di generazione degli idruri e che pertanto vengono normalmente determinate per differenza tra il contenuto totale dell'analita e dell'elemento nelle sue forme riducibili. L'accoppiamento HPLC/ICP-MS supera queste difficoltà e fornisce un adeguato livello di sensibilità per la determinazione di As, arseniato, arsenito, dimetilarsenito e acido monometilarsenico in campioni di urina (13). Come si può dedurre il trasferimento di queste tecniche allo studio dei VR degli elementi in traccia rappresenta quindi un "passo obbligato", con vantaggi facilmente intuibili. L'aspetto più rilevante è l'ampio spettro di analiti, il che permetterà di "esplorare" anche settori industriali nei quali l'esposizione professionale a REE non è mai stata monitorata attraverso il monitoraggio ambientale o biologico. Al riguardo si segnala che in una *review* sull'esposizione, metabolismo e tossicità delle REE Hirano e Suzuki hanno evidenziato l'elevato numero di attività produttive nelle quali questi elementi in traccia trovano utilizzo (14).

---

#### L'importanza della concentrazione di riferimento dell'assunzione alimentare

Se si esaminano i dati sull'*intake* alimentare di elementi in traccia e xenobiotici organici pubblicati nel nostro Paese negli ultimi venti anni l'impressione che se ne ricava è di relativo sconcerto. Le strategie di indagine (sul singolo elemento o bevanda o su diete *pooled*) risultano notevolmente diversificate e anche il campo degli analiti non è particolarmente esteso. Già nel 1° Convegno Nazionale SIVR del 1993 era stato proposto l'utilizzo della Concentrazione di Riferimento della Assunzione Alimentare (CRAA), da intendersi come dose media di un elemento in traccia o di uno xenobiotico organico giornalmente assunto con la dieta (2).

Con l'attivazione del Progetto PCB si ripropone la necessità di disporre di valori di CRAA, anche differenziando il contenuto di congeneri tossici e non, analogamente a quanto proposto per l'analisi di PCB nel siero.

Ad es. in un lavoro di Zuccato e Coll. (16) l'*intake* alimentare di PCB è stato valutato analizzando diete *pooled* di 24 h e ripetendo il campionamento in 3 giorni non consecutivi. L'indagine ha interessato 13 congeneri tossici non-orto e 18 congeneri di-orto.

L'*intake* alimentare medio di PCB totali è risultato pari a  $3,72 \pm 1,51$  µg/persona/giorno con un valore di TEQ compreso tra 4,6 e 119 pg/persona/giorno. Va altresì rile-

vato che la presenza di 3 congeneri tossici (77, 126, 169) è stata stimata pari allo 0,5% dei PCB totali mentre i congeneri 138, 153 e 18 corrispondevano al 35,1% della concentrazione totale di PCB.

La disponibilità di dati sull'*intake* alimentare di PCB, se si tratta di dati molto recenti, permette di ottenere informazioni sull'esposizione attuale per cui il profilo qualitativo degli analiti nel siero non necessariamente risulterà corrispondente, anche tenendo conto della lunga emivita dei diversi congeneri e dell'esposizione pregressa. Tuttavia l'analisi della dieta per il contenuto di PCB assume un forte significato preventivo in quanto l'analisi *pooled* permette una stima accurata del potenziale rischio espositivo con la dieta.

---

### la Lista SIVR 2001 dei Valori di Riferimento

Nelle Tabelle IV e V sono riportati, rispettivamente per gli elementi in traccia e per i principali xenobiotici organici e i loro metaboliti i VR SIVR per il 2001. Questi quadri sinottici rappresentano lo sforzo dei Gruppi di lavoro SIVR di mettere a disposizione dati recenti e affidabili. In parte sono stati ottenuti nell'ambito dei Progetti SIVR e in parte sono di derivazione metanalitica. Per ulteriori analiti i VR riportati rappresentano l'esperienza di uno o più laboratori italiani appartenenti al circuito SIVR.

Si è spesso dibattuto sulle definizioni da utilizzare per le varie tipologie di VR (2). Una proposta li classifica nel seguente modo:

- Valore di Riferimento SIVR.
- Valore di Riferimento di tipo metanalitico, ricavato dalla letteratura internazionale recente e "affidabile" degli ultimi dieci anni.
- Tentativo di Valore di Riferimento, riferito alle esperienze condotte in Italia, in accordo con le strategie preanalitiche e analitiche SIVR.

È prevedibile attendersi nei prossimi anni definizioni più rigorose dei VR: l'obiettivo a lungo termine è di arrivare a una proposta SIVR per la totalità dei VR. Per quanto riguarda i VR ottenuti per metanalisi si osserva che una selezione accurata dei lavori pubblicati richiederebbe una loro valutazione attraverso requisiti prestabiliti (numero di campioni di riferimento, controllo dei fattori preanalitici, impiego di materiali certificati, validazione del metodo, etc.) analogamente ai criteri impiegati nel Progetto Tracy (15). Un limite ai VR di tipo metanalitico è che sono riferibili a popolazioni di vari paesi europei ed extraeuropei, per cui non si possono escludere differenze significative che ne possono limitare l'utilizzo. Tuttavia essi rappresentano, se gli studi sono stati condotti in modo rigoroso, un utile termine di confronto. Non a caso nell'attuazione di nuovi progetti SIVR l'esame preventivo della letteratura è indispensabile in quanto permette di confrontare limiti e vantaggi della diversa "cultura" analitica dei vari autori.

Il tentativo di Valori di Riferimento, se segue le strategie SIVR, può rappresentare la fase preliminare di un nuovo progetto. In alcuni casi rispecchia l'esigenza di un singolo laboratorio (ad es. per interpretare valori di analiti "inconsueti" ottenuti nel monitoraggio biologico di sog-

getti esposti). In altri casi lo studio dei VR da parte di uno o più laboratori è finalizzato a evidenziare eventuali differenze tra i VR in differenti gruppi di popolazione generale, ad es. per verificare l'influenza di specifiche attività industriali o agricole. Si ribadisce che in certe condizioni il tentativo di VR può rappresentare un'esperienza propeudeutica all'attuazione di un nuovo progetto SIVR.

---

### I progetti SIVR 2001-2002

Nel corso del 2001 sono stati conclusi due importanti Progetti SIVR relativi a due studi policentrici sui VR del piombo ematico e del mercurio urinario (17, 18).

Per quanto riguarda la piombemia lo studio ha interessato 7 differenti aree (Bari, Brescia, Desio, Empoli, Genova, Novafeltria e Reggio Emilia), con una casistica complessiva di 1164 soggetti (642 maschi e 522 femmine). La media aritmetica di Pb nel sangue è risultata di 45,1 µg/l nei maschi e di 30,6 µg/l nelle femmine. Tra le altre variabili significative sono risultate l'età, il consumo di alcol, l'abitudine al fumo, la pratica sportiva in ambiente esterno e il BMI. Viceversa la zona geografica e la residenza in area urbana non sono risultate variabili statisticamente significative (17).

Per quanto riguarda invece i VR del mercurio urinario (18) sono stati selezionati, utilizzando uno specifico questionario, 383 soggetti residenti in quattro città italiane (Bari, Brescia, Genova e Siena). La concentrazione media di Hg-U è risultata di 0,78 µg/g creatinina (0,75 µg/g creat. per i maschi e 0,83 µg/g creat. per le femmine) con il 5° e il 95° percentile pari rispettivamente a 0,12 e 5,02 µg/g di creatinina. Tra le variabili studiate è emerso che la città di origine, la superficie delle amalgame dentarie, il consumo di pesce e l'abitudine al fumo influenzano in modo statisticamente significativo i valori di Hg urinario.

Nel corso del 2002 saranno avviati 2 nuovi Progetti, il primo dei quali è relativo ai VR dei PCB nel siero. Il secondo Progetto prevede un profilo di analiti elevato (da 20 a 40) e sarà condotto con tecniche multielementari mantenendo comunque l'utilizzo di tecniche convenzionali nelle procedure di controllo di qualità. Il *pattern* analitico prevede la determinazione di elementi in traccia, antiparassitari, idrocarburi policiclici aromatici, solventi aromatici (e loro metaboliti) in campioni di sangue e urina.

---

### Conclusioni

La presentazione della prima lista SIVR 2001 è l'inizio di un processo che intende valorizzare l'utilizzo dei VR nel campo della medicina ambientale e occupazionale. Accanto alla produzione dei VR occorre evidenziare che la ricerca del dato analitico accurato si accompagna alla validazione di metodi di analisi e all'attivazione di controlli di qualità, che sono agevolmente trasferibili al monitoraggio biologico dei soggetti professionalmente esposti. È anzi logico prevedere che la presentazione di VR per nuovi *bio-markers* sarà accompagnata dalla pubblicazione dettagliata delle procedure di analisi utilizzate. Con l'eccezione del

circuito attivato dall'Istituto Superiore di Sanità il controllo interlaboratoriale è una pratica "rara" nel campo della tossicologia industriale e ciò contrasta fortemente con la tendenza ormai consolidata che pone come requisito di affidabilità l'accreditamento e la certificazione dei laboratori, il calcolo dell'incertezza dei metodi di analisi, etc. Per questi motivi la SIVR, nell'ambito dei progetti mirati alla definizione dei VR, è aperta alla collaborazione dei laboratori che intendono svolgere attività di controllo interlaboratoriale, nell'ottica di fornire un contributo al miglioramento della qualità del dato analitico, per favorire lo scambio di esperienze tecniche e l'aggiornamento culturale e scientifico di tutti gli operatori.

## Bibliografia

- 1) Minoia C, Apostoli P. Activity of the Italian Society of Reference Values. *Int Arch Occup Environ Health* 1999; 72: 268-270.
- 2) Minoia C, Apostoli P, Sabbioni E. Dal gruppo italiano alla Società Italiana Valori di Riferimento (SIVR): Basi e metodi di studio per elementi in traccia e sostanze organiche. In: *Valori di Riferimento di Elementi in Traccia e Sostanze di Interesse Biotossicologico*, Minoia C, Apostoli P, Sabbioni E (Edri), Morgan Ed. Tecniche, Milano, 1994: 3-12.
- 3) Apostoli P, Minoia C, Hamilton EI. Significance and utility of reference values in occupational Health. *Sci Total Environ* 1998; 209: 69-77.
- 4) Aprea C, Betta A, Catenacci G, Lotti A, Magnaghi S et al. Reference values of urinary 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in the Italian population Validation of Analytical Method and preliminary results (Multicentric Study). *J AOAC Int* 1999; 82: 305-312.
- 5) Aprea C, Betta A, Catenacci G, Lotti A, Minoia C, Passini W, Pavan I. Reference values of urinary ethylentiourea in four regions of Italy (Multicentric Study). *Sci Tot Environ* 1993; 192: 83-93.
- 6) Aprea C, Betta A, Catenacci G, Colli A, Lotti A, Minoia C et al. Urinary excretion of ethylentiourea in five volunteers on a controlled diet (Multicentric Study). *Sci Tot Environ* 1997; 203: 167-179.
- 7) Hill R H jr, Head SL, Baker S, Gregg M, Shealy DB et al. Pesticide residues in urine of adults living in the United States: Reference range concentrations. *Environ Res* 1995; 71(2): 99-108.
- 8) Kümmerer K, Helmers E, Hubner P, Mascart G, Milandri M et al. European Hospitals as a source for platinum in the environment in comparison with other sources. *Sci Tot Environ* 1999; 225: 155-165.
- 9) Who European Centre for Environment and Health. Assessment of the health risk of dioxin: Re-evaluation of the Tolerable daily intake (TDI), May 25-29 1998, Geneva, Switzerland.
- 10) DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) The use of ICP-MS for human biomonitoring. In: *Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials*, Angerer J & Schaller K Z (Eds), Vol. 6, Wiley-VCH, 1999: 1-46.
- 11) DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) ICP-MS Collective Method. In: *Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials*, Angerer J & Shaller K Z (Eds), Vol. 6, Wiley-VCH, 1999: 79-110.
- 12) Bettinelli M, Spezia S, Terni C, Ronchi A, Balducci C, Minoia C Determination of REEs in urine by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry *Rapid Commun Mass Spectrom* (in press 2002).
- 13) Bettinelli M, Minoia C, Spezia S, Ronchi A. L'analisi in ICP-MS: realtà acquisite e prospettive future. In: *Applicazioni dell'ICP-MS nel Laboratorio Chimico e Tossicologico*, Minoia C, Bettinelli M, Ronchi A, Spezia S (Edri), Morgan Edizioni Tecniche, 2000: 427-444.
- 14) Hirano S, Suzuki K T Exposure, metabolism and toxicity of rare earths and related compounds. *Environ Health Perspectiv* 1996; 104 (Supplement 1): 85-95.
- 15) Herber RF, Cristensen JM, Sabbioni E. Critical evaluation and review of cadmium concentrations in blood for use in occupational health according to the Tracy protocol. *Int Arch Occup Environ Health*, 1997; 69(6): 372-378.
- 16) Zuccato E, Calvarese S, Mariani G, Mangiapan S et al. Level, sources and toxicity of polychlorinated biphenyls in the Italian diet. *Chemosphere*, 1999; 38(12): 2753-2765.
- 17) Apostoli P, Baj A, Bavazzano P, Ganzi A, Neri G et al. Blood lead reference values: the results of an Italian polycentric study. *Sci Tot Environ* (in press).
- 18) Apostoli P, Cortesi I, Mangili I, Elia G, Drago I et al. Assessment of reference values for mercury in urine: the results of an Italian polycentric study. *Sci Tot Environ* (in press).