

## LA NUOVA LISTA DEI VALORI DI RIFERIMENTO SIVR

M. Bettinelli, C. Aprea, A. Perico, C. Minoia e P. Apostoli

### ABSTRACT

La presentazione della seconda Lista SIVR 2005 fa seguito a un'iniziativa attivata nel corso dell'anno 2000, inteso a valorizzare l'utilizzo dei VR nell'ambito della medicina ambientale e occupazionale. In questi anni lo sforzo della Società è stato di fornire valori di riferimento, sia per gli elementi in traccia sia xenobiotici organici e loro metaboliti, che fossero caratterizzati da un'elevata accuratezza analitica. L'interesse dei diversi gruppi di lavoro (GdL) è stato rivolto alla validazione dei metodi analitici in accordo alle procedure previste dalle più recenti norme o linee guida europee e in particolare indirizzato alla stima dell'incertezza di misura. Il risultato tangibile è che diversi metodi oggi pubblicati sono validati e quindi sicuramente più affidabili rispetto al passato.

Nel 2005 è stata completata la revisione della precedente Lista per la quale sono stati aggiornati i valori di riferimento di alcuni xenobiotici tenendo presente le esperienze dei laboratori aderenti al circuito SIVR ma anche introducendo "nuovi" analiti quali ad es. gli elementi delle terre rare, il platino, l'antimonio, ecc. Ciò è stato possibile grazie alla diffusione crescente di tecniche multielementari in grado di determinare elementi/composti a livello di ultratracce.

La stesura della nuova edizione delle Lista non è stata facile e si è dibattuto diffusamente sulle definizioni da utilizzare per le diverse tipologie di VR, oltre che sul tipo di informazioni statistiche ritenute necessarie da inserire nelle tabelle dei valori di riferimento. Sulla base di queste esigenze un GdL costituito ad hoc ha lavorato intensamente per definire una nuova strategia di produzione dei VR i cui principi verranno illustrati da alcuni colleghi nel corso del presente Convegno. E' pertanto lecito aspettarsi, su base periodica una versione sempre più estesa e aggiornata della lista SIVR.

### INTRODUZIONE

Nel corso del 4° Congresso Nazionale SIVR tenutosi al Castello di S.Gaudenzio (PV) nel dicembre 2000 era stata proposta, per l'anno 2001 la 1° Lista SIVR dei Valori di Riferimento allo scopo finalizzata a rendere disponibili le concentrazioni di elementi in traccia e dei principali xenobiotici organici e loro metaboliti in fluidi biologici. I valori pubblicati in alcuni quadri sinottici relativi ad urina, sangue e siero erano derivati sia da esperienze effettuate nell'ambito dei progetti SIVR sia da valutazioni di tipo metanalitico. L'obiettivo originale era di aggiornare e di rivedere anche criticamente, con frequenza annuale, i VR pubblicati sulla base dei nuovi dati resi disponibili dai progetti in corso e attraverso un costante aggiornamento della letteratura nazionale e internazionale. Per la seconda Lista SIVR si sono dovuti però attendere ben 4 anni e quella che viene presentata oggi è certamente una revisione parziale, che nell'intenzione del Direttivo della Società dovrebbe essere aggiornata almeno su base annuale. Parallelamente si cercherà di proporre anche nuovi criteri e nuovi percorsi per la definizione dei valori di riferimento. Tali criteri sono stati messi a punto dal GdL della SIVR appositamente istituito, condivisi nell'ambito del Direttivo della Società e presentati dalla collega Aprea nel successivo intervento.

La nuova Lista di Valori di Riferimento è stata organizzata tenendo conto di quanto già pubblicato in precedenza, ovvero della necessità di fornire uno strumento semplice e di agevole consultazione che costituisse la naturale evoluzione di quanto precedentemente prodotto ma che nel contempo recepisce le nuove esigenze di una più attenta definizione degli intervalli di concentrazione.

### LISTA DEI VR SIVR 2005

Nella lista SIVR qui proposta sono state è stata inserita, come già in precedenza evidenziato, una serie di innovazioni che di seguito sono così sintetizzabili:

1. Si è mantenuta l'organizzazione della lista SIVR 2001 (1) che prevedeva quadri sinottici suddivisi per elementi in traccia e xenobiotici organici e loro metaboliti nelle matrici urina, sangue e siero.

2. Si è ritenuto opportuno non riportare l'intervallo di concentrazione espresso come valori minimo e massimo ma fare riferimento al 5o e 95° percentile. Tali indicatori, in accordo con la IUPAC (termine esteso) (2) e il NHANES (termine esteso) 2003 (3), forniscono un'indicazione più realistica dell'intervallo di concentrazione dei valori sperimentali la cui distribuzione risulta spesso asimmetrica e per lo più assimilabile a una distribuzione di tipo log-normale. Non sono ancora stati inseriti indicatori di tendenza centrale (ad es. media geometrica) e indicatori descrittivi della distribuzione reale dei dati (5o, 10o, 25o, 50o, 75o, 90o e 95o esimo percentile) in quanto ciò avrebbe comportato una notevole e complessa elaborazione della Lista SIVR.. Le modifiche apportate hanno comportato una rielaborazione dei dati sperimentali prodotti dai diversi Progetti SIVR, un riesame dei dati di letteratura che erano stati recepiti nel 2001 in mancanza di dati SIVR, un'analisi delle esperienze maturate in quest'ultimo quinquennio alla luce anche di strumentazioni più recentemente introdotte nei laboratori afferenti al Circuito SIVR. Purtroppo per alcuni xenobiotici (per fortuna in numero piuttosto limitato) viene riportato ancora l'intervallo minimo-massimo e non i percentili come precedentemente dichiarato, in quanto non si sono resi disponibili dati in altra forma.
3. E' stato aggiornato l'elenco dei fattori di variabilità che possono condizionare i singoli parametri. I valori riportati non sono stati suddivisi sulla base dei fattori di variabilità, anche se in alcuni casi la differenziazione sarebbe stata molto importante: un esempio in tal senso riguarda l'abitudine al fumo di tabacco per analiti quali cadmio, benzene e suoi metaboliti o per gli idrocarburi policiclici aromatici e loro metaboliti.
4. Nel caso specifico del benzene è stata riportata la segnalazione che il valore di riferimento può dipendere in modo significativo dal metodo utilizzato (in particolare dalla temperatura utilizzata per la termostatazione prima dell'analisi dello spazio di testa) anche se probabilmente ulteriori noti specifiche potrebbero essere forniti per altri indicatori biologici.

## CONSIDERAZIONI SPECIFICHE

### Elementi inorganici

L'intervallo di concentrazione riportato nella Lista 2005 mostra, per la quasi totalità degli elementi presenti, una significativa diminuzione dovuta principalmente alla nuova modalità di rappresentazione dei dati (95o percentile invece del valore massimo). A titolo di esempio vengono riportati i casi di Cd, Sb e Ni in quanto rappresentativi di situazioni diverse.

Analita	u.m.	Lista 2001	Lista 2005	Fattori di variabilità
<b>Cd</b>	µg/L	0,1 – 4	0,1 – 1,5	R, F, E, S
<b>Sb</b>	µg/L	0,2 – 5	0,01 – 0,15	R
<b>Ni</b>	µg/L	0,1 – 4	0,1 – 2	F, S, E

#### 1. Cadmio urinario: effetto 95° percentile

Per meglio illustrare il significato dei nuovi valori viene riportato il caso del cadmio urinario (Cd-U) determinato su una casistica di circa 240 soggetti maschi e femmine, fumatori e non. La determinazione è stata eseguita mediante spettrometria di assorbimento atomico con fornetto di grafite (GFAAS) quindi con una tecnica routinariamente utilizzata dai laboratori. Non sono pertanto ipotizzabili variazioni di concentrazione imputabili alle all'utilizzo di strumentazioni diverse. iverse caratteristiche della tecnica impiegata.

Come è logico attendersi per gli elementi in traccia la distribuzione dei dati si discosta significativamente dalla gaussiana e si adatta molto meglio a quella di tipo log-normale. La media ( $0,402 \pm 0,444 \mu\text{g/L}$ ) risulta significativamente più elevata della mediana ( $0,280 \mu\text{g/L}$ ) e della media geometrica ( $0,270 \mu\text{g/L}$ ) così come l'intervallo minimo-massimo ( $0,080 - 3,170 \mu\text{g/L}$ ) appare molto più ampio rispetto al 95° percentile ( $1,32 \mu\text{g/L}$ ).

Esprimere quindi i VR mediante il 5 e 95° percentile significa tagliare le code della distribuzione e affermare che su 100 soggetti esaminati 90 presentano una concentrazione di Cd-U compresa tra 0,08 e 1,5 µg/L di Cd mentre gli altri 10 sono al di fuori da queste fasce come illustrato nella Figura seguente.

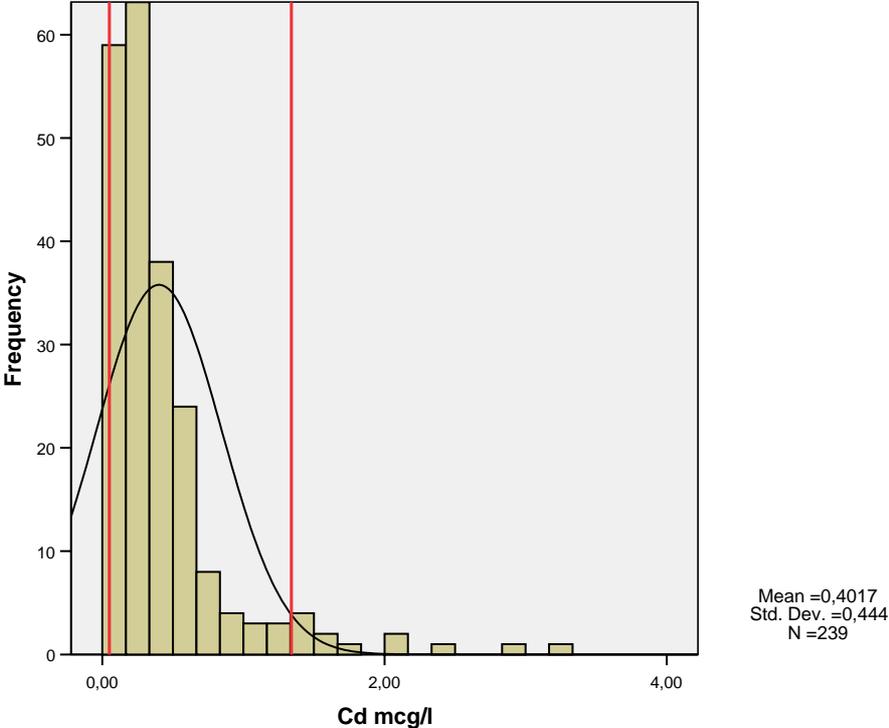


Figura 1. Distribuzione normale delle concentrazioni di Cd-U

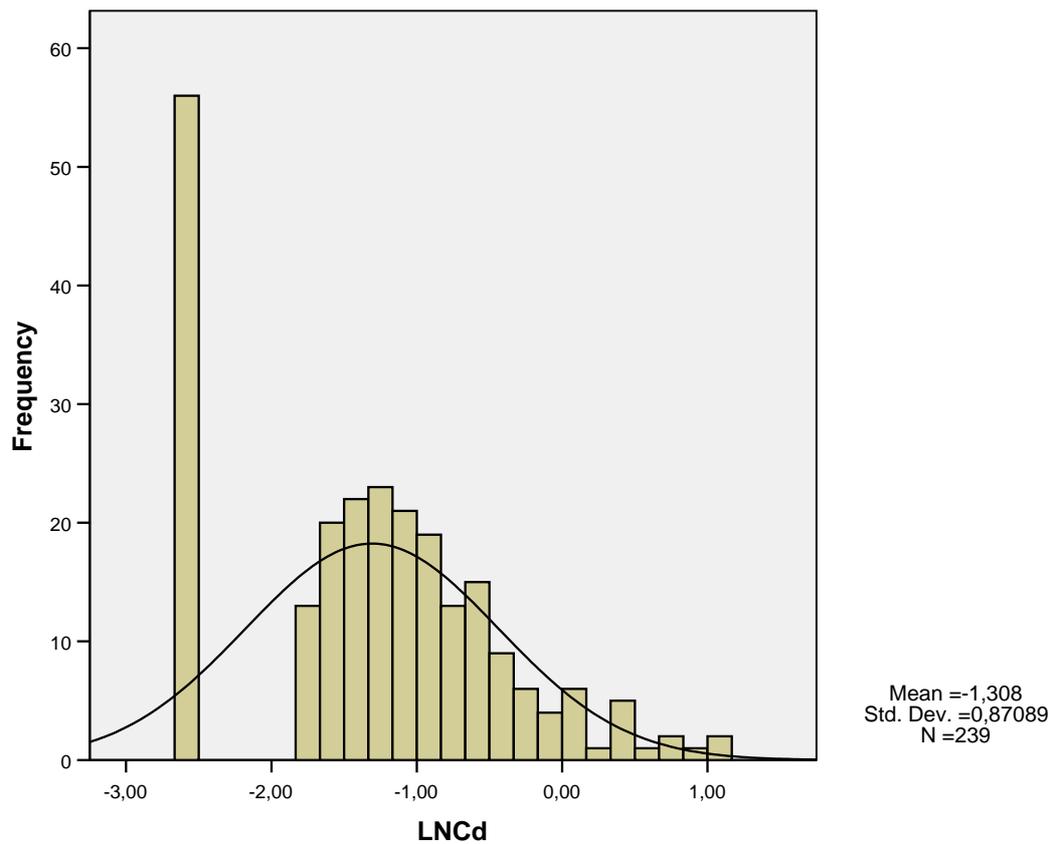


Figura 2. Distribuzione log-normale delle concentrazioni di Cd-U

Dalla distribuzione dei dati sperimentali si ottengono gli indici di localizzazione e di dispersione indicati nella tabella 1. mentre nelle figure 3 e 4 è mostrata un'analisi dei risultati raggruppati per sesso e abitudine al fumo

Tabella 1. Indici di localizzazione e dispersione per la distribuzione del Cd-U

CdU u.m. ( $\mu\text{g/L}$ )	
<b>Media</b>	0,402
<b>Dev. Std</b>	0,444
<b>Numero casi</b>	239
<b>Minimo</b>	0,080
<b>Massimo</b>	3,170
<b>Media geometrica</b>	0,270
<b>Mediana</b>	0,280
<b>Percentili</b>	
<b>5</b>	0,050
<b>10</b>	0,080
<b>25</b>	0,170
<b>50</b>	0,280
<b>75</b>	0,458
<b>90</b>	0,812
<b>95</b>	1,320

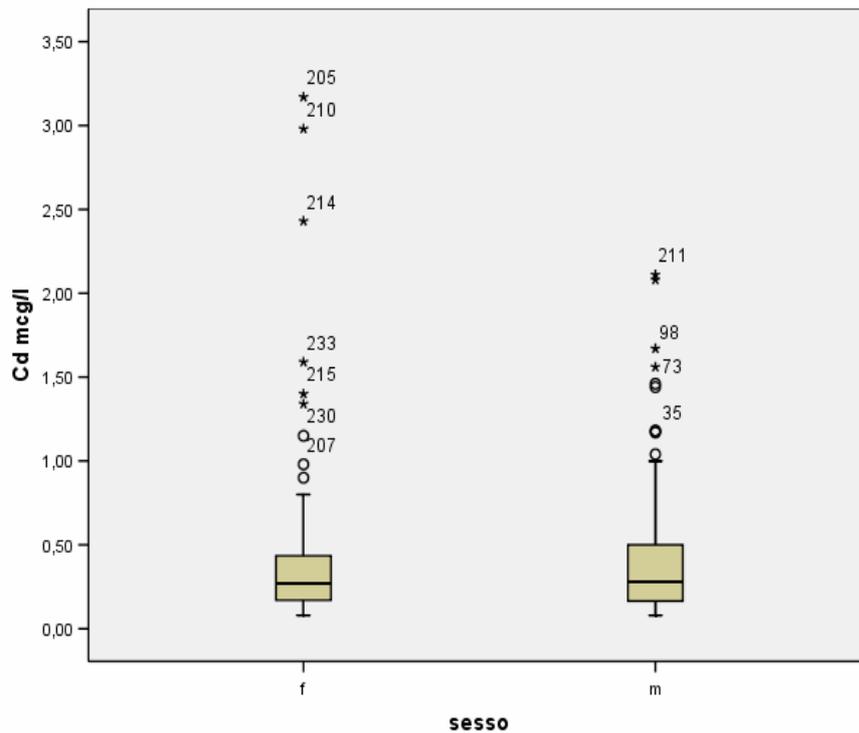


Figura 3. Valori di Cd-U raggruppati in funzione del sesso

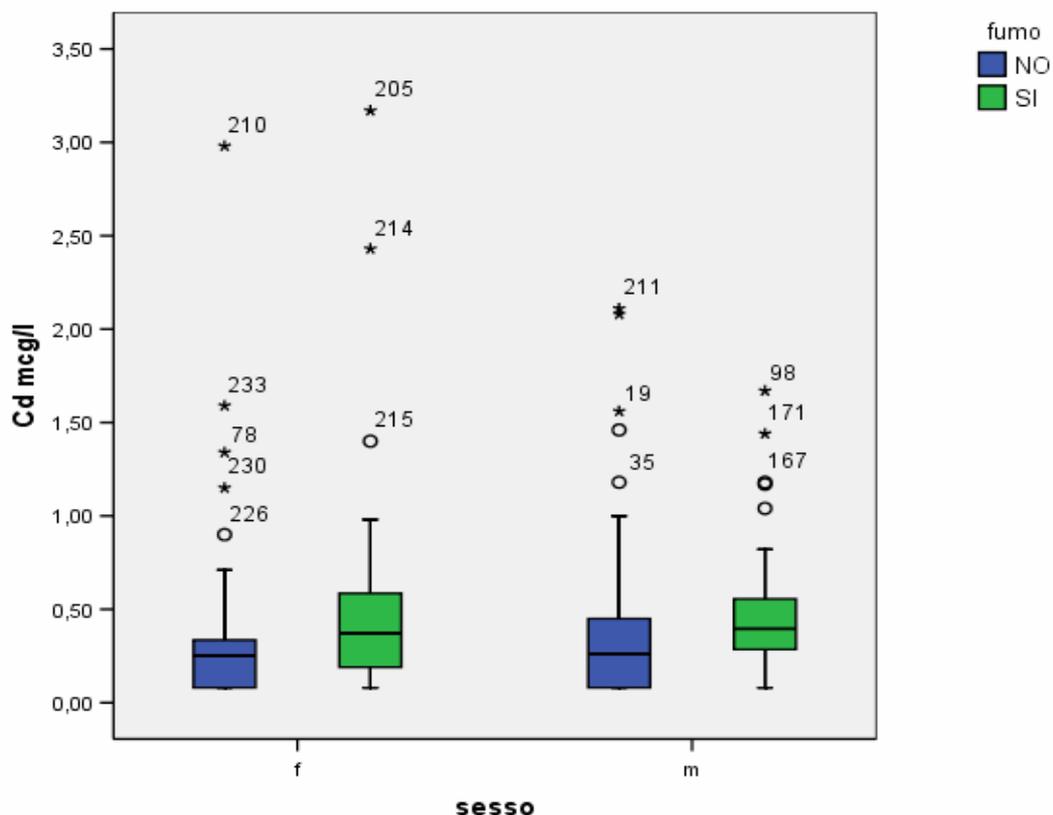


Figura 4. Valori di Cd-U raggruppati in funzione del sesso e dell'abitudine al fumo

## 2. Antimonio urinario : effetto 95<sup>o</sup> percentile e sensibilità analitica

I valori riportati nella LISTA 2001 originavano da indagini effettuate mediante spettrometria di assorbimento atomico con fornello di grafite (GFAAS) o mediante tecnica di generazione di idruri (HGAAS). Oggi la tecnica utilizzata correntemente dai laboratori SIVR è la spettrometria di massa con sorgente a plasma induttivo (ICP-MS) caratterizzata da limiti di rivelabilità molto più contenuti rispetto a quelli delle tecniche di spettroscopia atomica precedentemente citate e da poche interferenze poliatomiche per questo analita, grazie anche all'utilizzo della cella di reazione o di collisione.

Tabella 2. Limiti di rivelabilità per Sb-U

TECNICA	LR ( $\mu\text{g/L}$ )
<b>GFAAS – ZEEMAN (4)</b>	0,2
<b>HGAAS (4)</b>	0,08
<b>ICP-MS (5)</b>	0,001

Il risultato concreto è la possibilità di determinare concentrazioni di antimonio dell'ordine di 0,001  $\mu\text{g/L}$  con una precisione (RSD%) a 0,005  $\mu\text{g/L}$  Sb pari al 5%. Le esperienze di numerosi autori nella determinazione degli elementi in traccia hanno infine confermato che al basse concentrazioni, prossime al limite inferiore dell'intervallo dei VR, una tecnica analitica con LR peggiore "tende" a determinare concentrazioni più elevate rispetto a quelle realmente presenti a causa delle possibili interferenze positive che aumentano il segnale dell'analita. Per quanto riguarda invece il limite superiore dell'intervallo la diminuzione riportata per Sb (da 5 a 0,15  $\mu\text{g/L}$ ) è principalmente da attribuire all'utilizzo del 95<sup>o</sup> percentile invece che del valore massimo.

### 3. Nichel urinario : effetto sensibilità analitica e interferenze

I valori riportati nella LISTA 2001 erano provenienti da indagini effettuate mediante spettrometria di assorbimento atomico con fornello di grafite (GFAAS), sia per iniezione diretta del campione sia previa estrazione in fase organica (DMG/MIBK). In entrambi i casi, i LR dichiarati erano dell'ordine di 0,1 – 0,2 µg/L, quindi dello stesso ordine di grandezza delle concentrazioni caratteristiche della popolazione generale. Come discusso da Bettinelli in precedenti lavori (6,7), per la valutazione quantitativa delle concentrazioni degli elementi inorganici nei fluidi biologici dei soggetti non esposti, sarebbe più opportuno far riferimento al limite di rivelabilità del metodo (LRM) e non a quello strumentale (LRS). Il LRM dipende fortemente dai cosiddetti "fattori preanalitici" e può risultare significativamente superiore al LRS. Quanto appena detto si traduce nella possibilità concreta di quantificare concentrazioni dei vari analiti anche un ordine di grandezza superiori rispetto ai LR normalmente riportati in letteratura, con incertezze di misura che possono arrivare anche al 50-100% del valore indicato. Tali considerazioni inducono a ritenere che i valori di Ni urinario riportati in precedenza sono molto probabilmente affetti da *bias* significativi *positivi*. Oggi la tecnica utilizzata correntemente dai laboratori SIVR è la spettrometria di massa con sorgente a plasma induttivo (ICP-MS) caratterizzata da limiti di rivelabilità molto più contenuti rispetto a quelli dei metodi precedentemente citati ma, purtroppo caratterizzata dalla presenza di interferenze poliatomiche, in particolare attribuibili alla presenza di Fe (sull'isotopo  $^{58}\text{Ni}$ ) di  $^{44}\text{Ca}^{16}\text{O}$  e di  $^{27}\text{Na}^{37}\text{Cl}$  (sull'isotopo  $^{60}\text{Ni}$ ).

In considerazione di tutti questi motivi e del fatto che i campioni di urina sono analizzati dopo opportuna diluizione (circa 1+4) i valori di Ni a livello di 0,5 µg/L ottenuti mediante ICP-MS risultano probabilmente sovrastimati e sicuramente poco affidabili in quanto influenzati dal contenuto di Ca del campione. Sistemi alternativi di introduzione del campione quali il nebulizzatore ad ultrasuoni con desolvatazione (USN –ICPMS) hanno il vantaggio di ridurre l'effetto degli ossidi migliorando la sensibilità di un fattore 5-10 con evidenti riflessi sul LR.,.

Esperienze condotte nel circuito SIVR hanno evidenziato la possibilità di effettuare la determinazione di Ni in matrice urina nel campo 0-5 µg/L, con un LRM dell'ordine di 0,05 µg/L e una accuratezza e precisione accettabili a questi livelli di concentrazione (ordine di grandezza dei due parametri?).

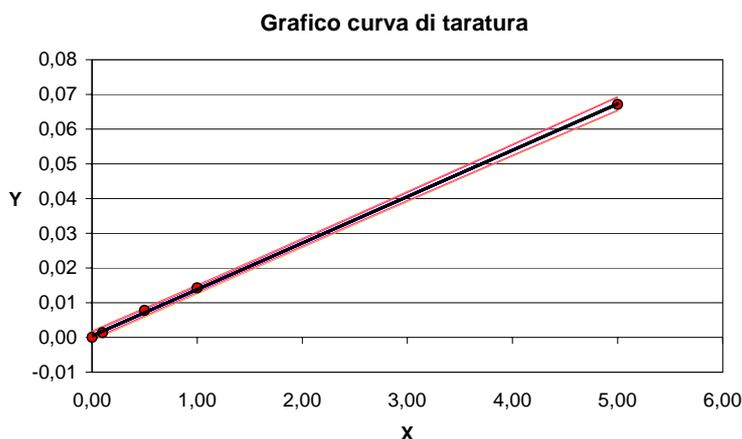


Figura 5. Curva di taratura per Ni-U mediante USN-ICPMS

Un valore sicuramente più vicino a quello "vero" può essere fornito dalla spettrometria al plasma-spettrometria di massa ad alta risoluzione (HR-ICPMS) che permette di risolvere le interferenze poliatomiche per i vari isotopi e quindi di assicurare LR molto più bassi.

Ci dobbiamo perciò aspettare per un prossimo futuro un'ulteriore variazione dei VR per il Ni-U con un probabile diminuzione del valore del 95<sup>o</sup> percentile

## Sostanze organiche

### 4. Orto-cresolo : effetto 95° percentile e confronto fra tecniche analitiche

Nella Lista 2001 era presente per questo metabolita urinario del toluene un VR di 30 – 350 µg/L. Si trattava di un dato, espresso come intervallo minimo-massimo, derivante da esperienze condotte da un un singolo laboratorio e da valori di letteratura. Il VR riportato nella presente Lista SIVR, espresso come 5 – 95° percentile, sono il risultato di una sperimentazione effettuata tra due laboratori del circuito SIVR che hanno utilizzato due metodi indipendenti così sintetizzabili:

- 1 idrolisi acida del campione, estrazione in fase solida (SPE), eluizione ed analisi in GC-MS.
2. idrolisi acida del campione, estrazione in fase solida (SPE), eluizione ed analisi in HPLC con rivelatore a fluorescenza.

I metodi sono stati validati in accordo al protocollo SIVR che verrà successivamente presentato ed è stata stimata l'incertezza estesa di misura che alle concentrazioni di interesse è risultata dell'ordine del 10-15%. Uno dei due laboratori ha effettuato la raccolta e la conservazione delle urine (n = 101), mentre entrambi hanno partecipato ad un controllo di qualità (confronto tra metodi indipendenti) analizzando la quasi totalità dei campioni.

L'esame dei dati ottenuti ha evidenziato differenze significative tra le due metodologie, un bias positivo sistematico a carico del metodo con LR più elevato (vedi Fig. 6), anche se, con l'eccezione di un solo valore anomalo (< LR per un laboratorio e 1061 µg/L per l'altro laboratorio) tutti i campioni con concentrazioni < LR dal Lab1 sono stati confermati anche per il Lab 2 (LR pari a 5 µg/L).

Per tale motivo sono stati assunti i valori forniti dal laboratorio con sensibilità più elevata che hanno fornito la distribuzione riportata in Fig.7

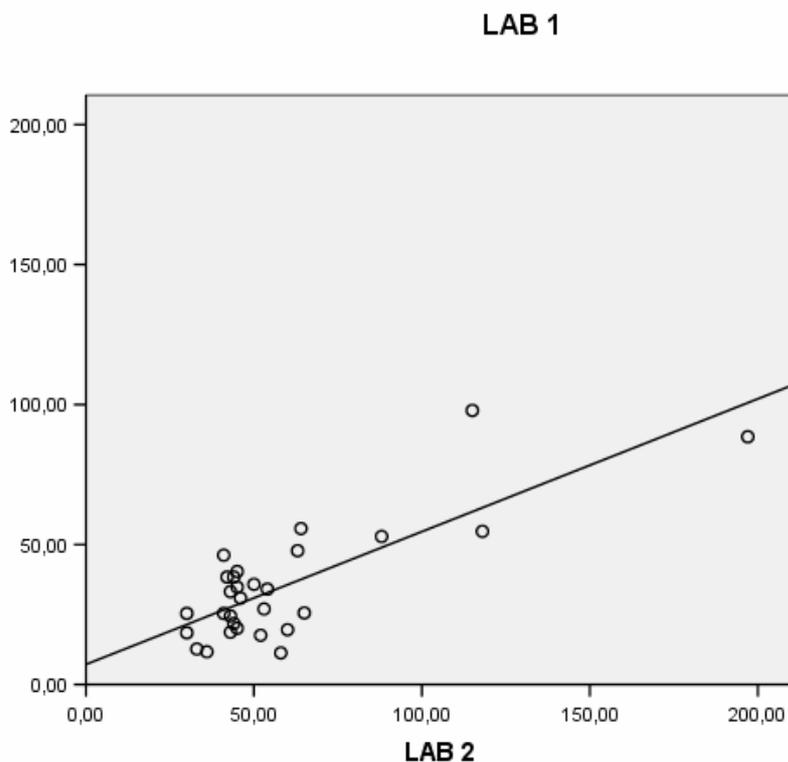


Figura 6. Correlazione tra i dati di o-cresolo ottenuti da due laboratori con metodi indipendenti

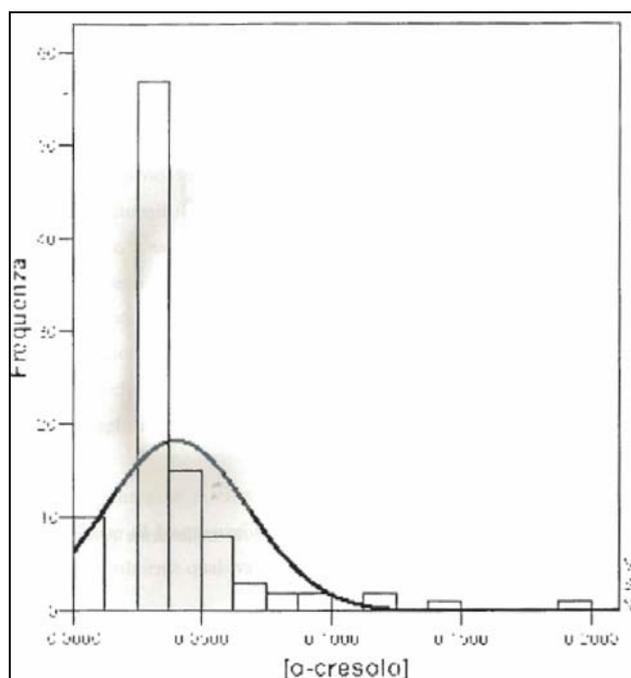


Figura 7 . Distribuzione dei dati di o-cresolo urinario

L'analisi delle principali variabili di influenza (sesso, fumo, alcool, esposizione al traffico veicolare) ha indicato come variabile significativa solo il "fumo".

### 3. Acido t,t-muconico : effetto 95° percentile e confronto Interlaboratoriale

Nella Lista 2001 era presente per questo metabolita un VR stimato di 10 – 605 µg/L. Questo intervallo di concentrazione derivava da precedenti esperienze di alcuni laboratori e da dati di letteratura. I valori riportati nella presente Lista (10 – 160 µg/L), espressi come 5 – 95° percentile, sono il risultato di una sperimentazione effettuata tra tre laboratori SIVR che hanno utilizzato metodi indipendenti basati rispettivamente su:

- a. purificazione del campione su colonnine SPE tipo SAX e su colonnine SPE C8, concentrazione dell'estratto metanolico e risolubilizzazione in tampone a pH2,4, analisi in HPLC con rivelazione spettrofotometrica (LAB 1 e LAB 3);
- b. purificazione del campione su colonnine SPE tipo SAX ed analisi dell'estratto in HPLC con rivelazione spettrofotometrica (LAB 2).

Nella Tabella 3 sono mostrati i risultati forniti dai 3 Laboratori che hanno partecipato ad un Controllo Interlaboratoriale SIVR analizzando 15 campioni di urina tra cui due campioni di controllo a concentrazione nota.

Tabella 3. Controllo interlaboratoriole SIVR 2005

Campione	Ac. t,t-muconico ( $\mu\text{g/l}$ )		
	LAB 1	LAB 2	LAB 3
L1	58.6	65.7	62.61
L2	201.7	214.9	193.41
C1	25.1	52.0	28.26
C2	33.3	51.5	57.32
C3	1178.8	1288.9	927.28
C4	44.5	46.0	31.05
C5	114.7	140.0	99.3
C6	42.4	68.4	46.04
C7	30.3	34.5	30.8
C8	95.1	110.5	92.84
C9	30.3	105.5	25.56
C10	41.3	44.9	33.74
<b>0503 finlandese</b> <b>target 14.63 <math>\mu\text{moli/l}</math></b> intervallo 11.64-17.62 $\mu\text{moli/l}$	14.02	11.94	15.05
<b>0503 finlandese</b> <b>target 10.64 <math>\mu\text{moli/l}</math></b> intervallo 8.44-12.84 $\mu\text{moli/l}$	9.78	8.6	10.18

I campioni L1 e L2 sono utilizzati routinariamente presso il LAB 3 come controlli di routine e pertanto è nota la precisione intralaboratorio entro e tra le serie analitiche:

L1 ripetibilità (stessa serie analitica 10 determinazioni)  $65,56 \pm 2,25 \mu\text{g/l}$

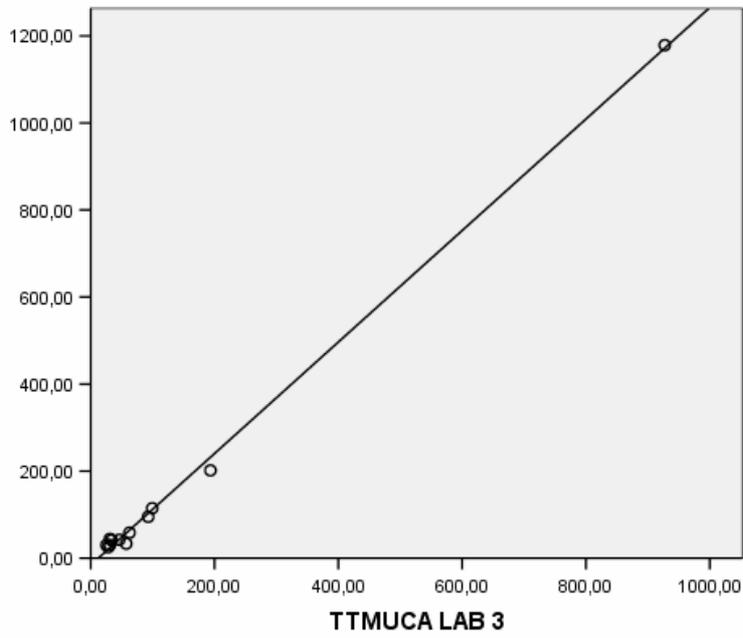
L2 ripetibilità (stessa serie analitica 10 determinazioni)  $206,28 \pm 18,58 \mu\text{g/l}$

L1 precisione intermedia (10 serie analitiche diverse)  $61,05 \pm 3,64 \mu\text{g/l}$

L2 precisione intermedia (10 serie analitiche diverse)  $217,79 \pm 21,41 \mu\text{g/l}$

I campioni C1-C10 sono invece campioni normali che sono stati suddivisi in tre aliquote e inviati ai LAB 1, 2 e 3 per le analisi. Infine sono presenti 2 campioni provenienti da un Controllo di Qualità finlandese per i quali sono noti i valori *target*.

**TTMUCA LAB 1**



**TTMUCA LAB 1**

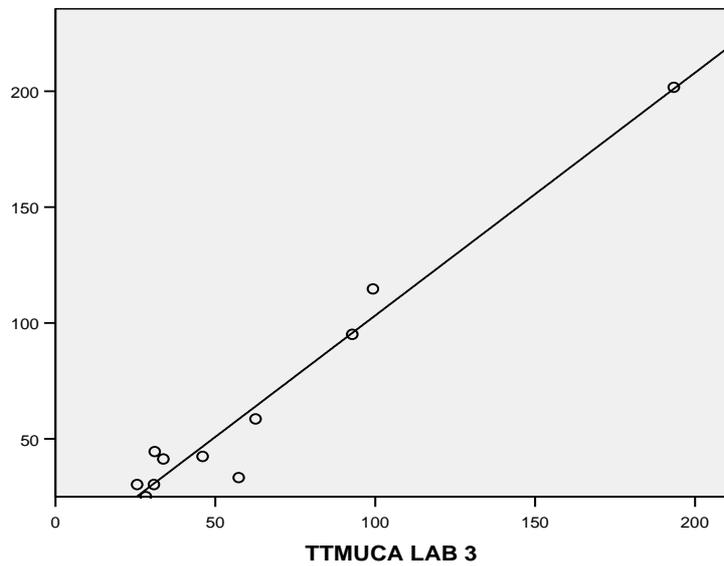
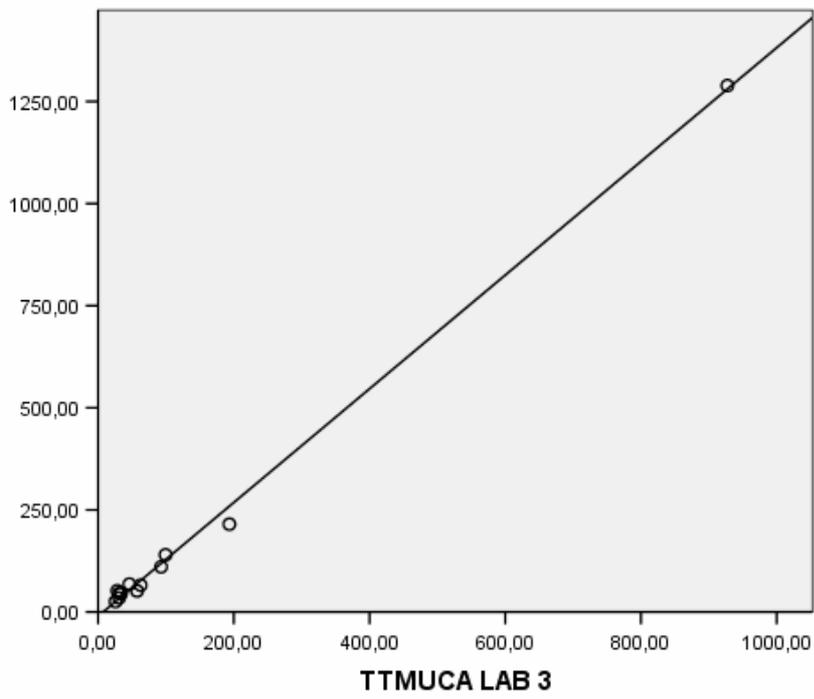


Figura 8 . Confronto tra i risultati ottenuti dal LAB 1 e LAB 3.

**TTMUCA LAB 2**



**TTMUCA LAB 2**

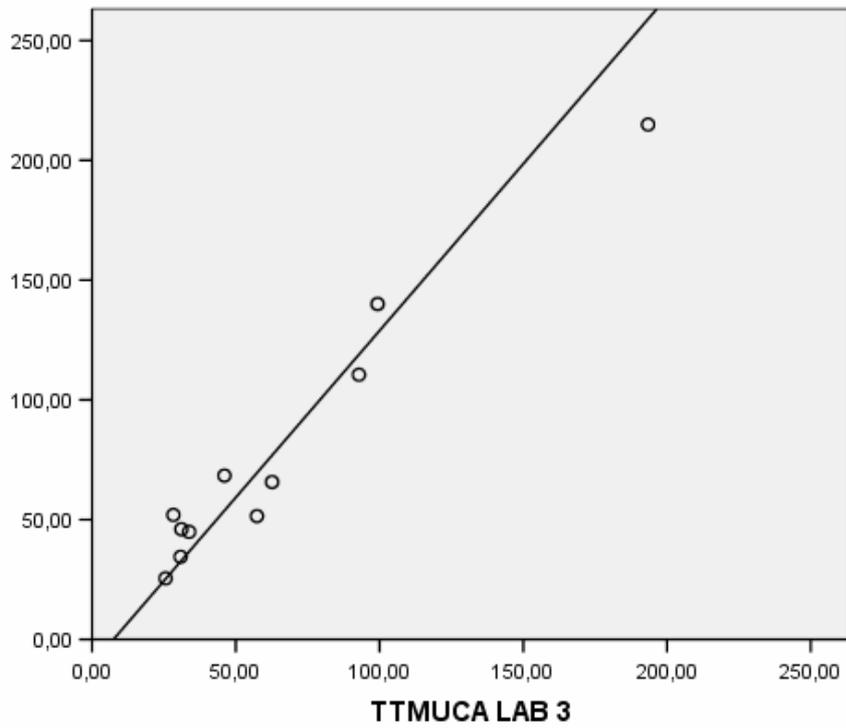


Figura 9 . Confronto tra i risultati ottenuti dal LAB 2 e LAB 3.

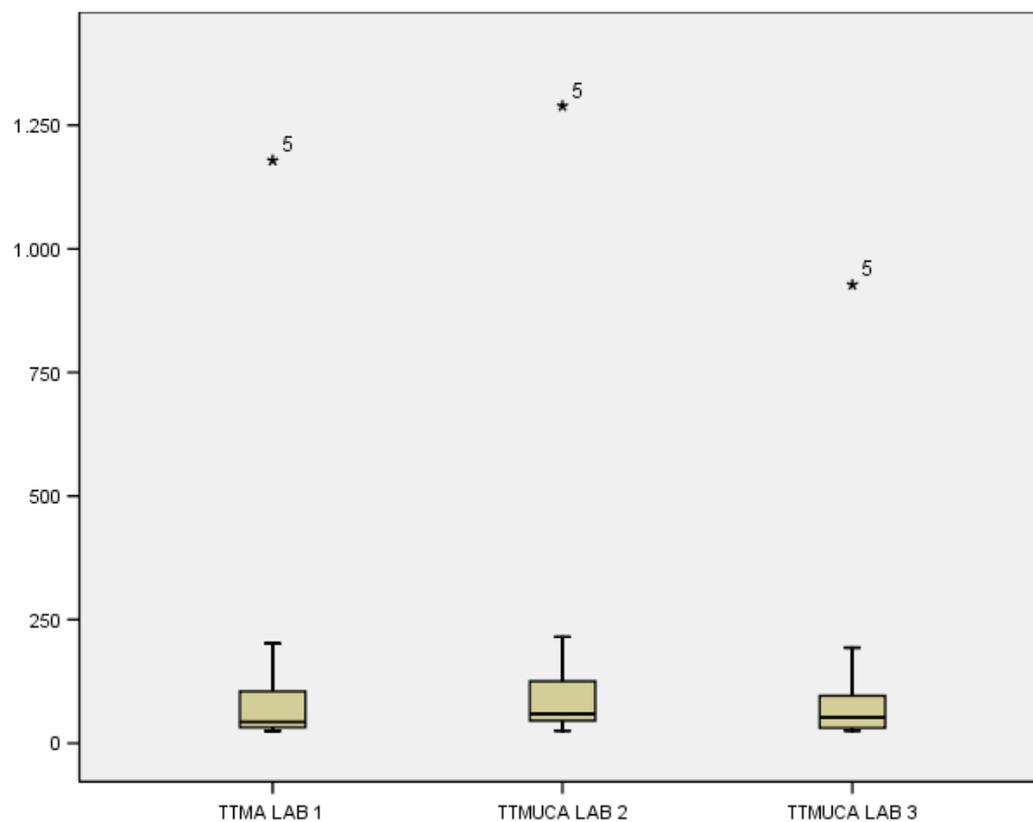


Figura 10. Confronto tra i risultati forniti dai 3 laboratori per i 12 campioni di urine analizzati

Dopo aver effettuato il controllo interlaboratoriale sono stati analizzati circa 270 soggetti di un gruppo di popolazione generale, che hanno confermato la distribuzione di frequenza mostrata in Fig. 11. Le concentrazioni corrispondenti al 5 e 95° percentile sono risultate pari rispettivamente a 10 e 160  $\mu\text{g/g creat.}$

In Fig. 12 sono invece mostrati i raggruppamenti degli stessi dati in funzione delle variabili sesso e abitudine al fumo.

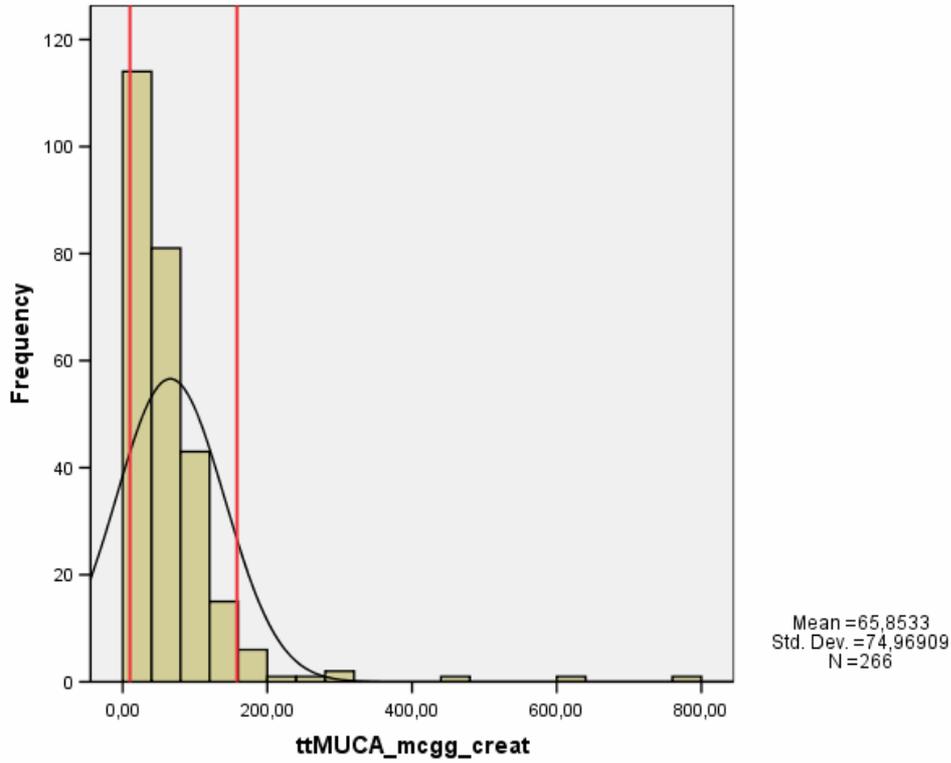


Figura 11. Distribuzione normale delle concentrazioni di acido t,t-muconico in urina

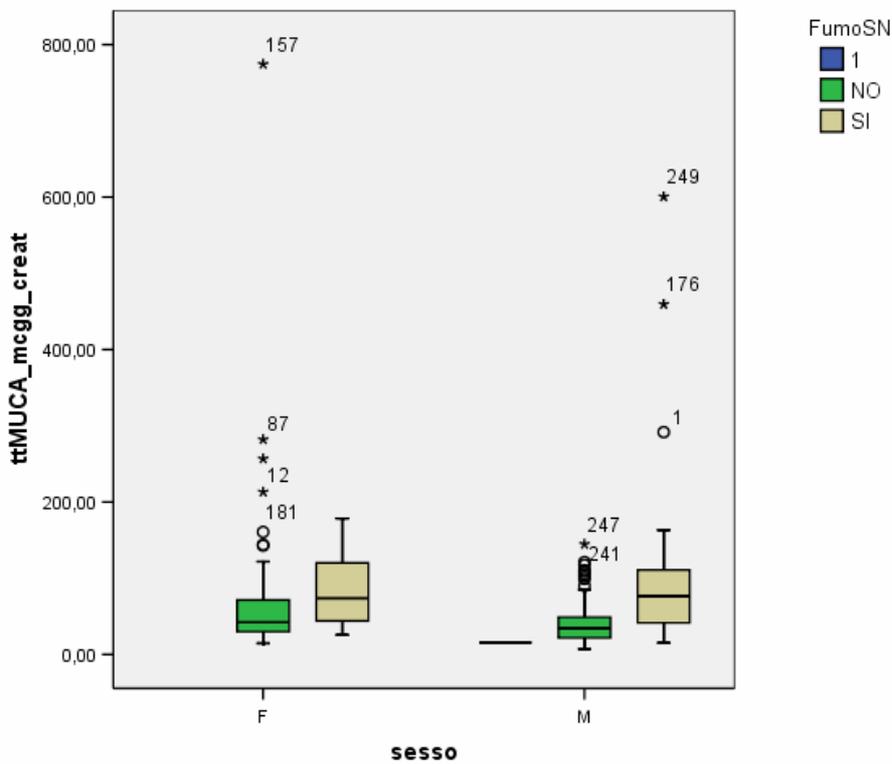


Figura 12. Valori di acido t,t-muconico raggruppati in funzione del sesso e dell'abitudine al fumo

## CONCLUSIONI

L'introduzione e soprattutto la diffusione di tecniche sempre più sensibili (di utilizzo routinario e non) costituisce un problema non solo di tipo metodologico ma coinvolge direttamente il significato dei Valori di Riferimento proposti. Ci potremmo infatti domandare se ha più senso, o meglio se è più utile ai fini dei successivi utilizzi, la definizione di un VR che si avvicini il più possibile al "valore vero", magari ottenuto in qualche laboratorio specializzato con strumentazione di elevato livello, oppure un VR prodotto da Circuiti di Intercalibrazione tra laboratori che utilizzano tecniche differenti con sensibilità e interferenze spesso non confrontabili. La domanda non prevede una risposta semplice o banale in quanto l'esperienza SIVR è tale da rispondere affermativamente o negativamente a seconda dei casi specifici. Nel caso di alcuni elementi in traccia è stato ed è possibile produrre sperimentalmente VR utilizzando i risultati forniti da diversi laboratori che utilizzano procedure e/o tecniche differenti in combinazione con strategie di controllo di qualità che passano attraverso un rigido controllo dei fattori preanalitici e una piena validazione dei metodi utilizzati. In altri casi, ad es. per la determinazione del contenuto di Pt, Pd, Rh nel siero e nell'urina, è inderogabile l'utilizzo di ICP-MS ad alta risoluzione (HR) o a bassa risoluzione (LR) ma con l'impiego di sistemi di introduzione del campione / concentrazione specifici. Le concentrazioni presenti, infatti, sono talmente basse (Fig. 13) che il ricorso ad altre tecniche conduce inevitabilmente ad un numero troppo elevato di valori inferiori al limite di rivelabilità oppure a concentrazioni sistematicamente sovrastimate.

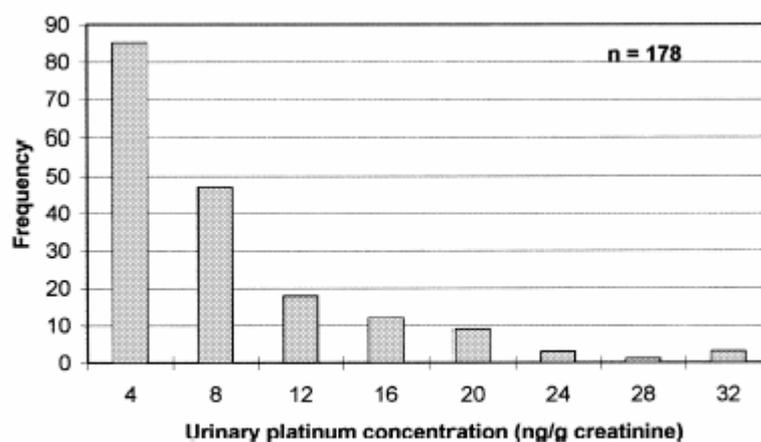


Fig. 2. Histogram of urinary platinum excretion from 178 individuals without occupational exposure.

Nel caso degli xenobiotici organici, e citiamo per tutti l'esperienza SIVR per la determinazione dei policlorobifenili nel sangue, i risultati di prove interlaboratorio hanno evidenziato i limiti della tecnica GC-ECD utilizzata a lungo nei laboratori di analisi ed hanno indicato la necessità di impiegare la spettrometria di massa a bassa risoluzione (GC-LRMS), operante nei modi a cattura elettronica negativa (ECNI) o ionizzazione elettronica (EI), o in alternativa la spettrometria di massa ad elevata risoluzione (GC-HRMS). Trattandosi di una famiglia ampia di composti con tossicità molto differente si è posto il problema di quali e quanti congeneri determinare e di come esprimere i VR. Nella lista 2005, nell'impossibilità di riportare tutti i singoli congeneri, si è deciso di esprimere il VR come somma dei PCB facendo riferimento al numero di congeneri determinati e a quelli definiti *Dioxine-like* dalla World Health Organization (WHO). Nel caso di questi xenobiotici la variabile residenza è risultata di così grande peso da consigliare la suddivisione dei VR in due fasce relative ad una "zona fortemente industrializzata" e "poco industrializzata".

Nel caso infine del benzene urinario, si è semplificato l'approccio non suddividendo i valori tra fumatori e non fumatori, ma si è indicata la forte influenza sui risultati dell'abitudine al fumo da tabacco e anche della metodica utilizzata.

Le tecniche multiparametriche se da un lato hanno ampliato l'informazione analitica disponibile consentendo la determinazione del "profilo" di composizione, dall'altro hanno reso più

complicate le procedure di controllo di qualità del dato in quanto sono aumentate a dismisura le variabili operative da ottimizzare e da tenere sotto controllo. Alla luce di queste considerazioni e in carenza di materiali certificati di riferimento adeguati alle concentrazioni in gioco, SIVR ha dato sempre maggior importanza alla validazione dei metodi e al controllo di qualità del dato introducendo nelle sue pubblicazioni la stima dell'incertezza di misura. Questo concetto di recente introduzione nelle normative legate all'accreditamento dei laboratori di analisi (UNI EN ISO/IEC 17025:2000) ha sostanzialmente cambiato il nostro modo di "leggere" il dato analitico e di conseguenza anche quello dei VR. L'equazione di Horwitz / Thompson, di validità assolutamente generale, indica a livello di tracce (1 µg/L) scarti tipo di riproducibilità dell'ordine del 25-40% che tradotti in incertezza estesa di misura significano intervalli di confidenza dell'ordine del 50-80%.

E' evidente l'importanza del dato di incertezza, che per molti aspetti richiede ulteriori approfondimenti, laddove una misura condotta su un campione risulta superiore al 95° percentile o al valore massimo dell'intervallo di riferimento. La valutazione del dato e quindi anche il suo significato biologico non potranno infatti più prescindere, in una visione futura ideale ma assolutamente necessaria sul piano razionale, da una rilettura del dato in funzione del valore di incertezza estesa.

## BIBLIOGRAFIA

1. C. Minoia, P. Apostoli , 1<sup>a</sup> Lista SIVR dei valori di riferimento: definizioni, criteri metodologici e strategie analitiche – Atti 4° Congresso Nazionale della Società Italiana Valori di Riferimento (SIVR) – Castello di S. Gaudenzio (PV) 14-16 dicembre 2000 Editors G. Catenacci, C. Aprea.
2. Pure and Appl Chem 1997, 69:1601-1611.
3. National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals- Second Report, January 2003 - Department of Health and Human Services Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia.
4. E. Sabbioni, P. Apostoli, C. Minoia – Impiego dell'ETA-AAS ZEEMAN nella definizione dei valori di riferimento di 22 elementi in traccia nei liquidi biologici- in Applicazioni dell'ETA-AAS Zeeman nel Laboratorio Chimico e Tossicologico, Volume II Matrici Biologiche Ed. C. Minoia, S. Caroli Edizioni Libreria Cortina, Padova, 1990.
5. A. Alimonti, G. Forte, S. Spezia, A. Gatti, G. Minziona, A. Ronchi, P. Gavazzano, B. Bocca, C. Minoia – Uncertainty of the ICP-MS-Based measurements: an application to the analysis of urinary barium, cesium, antimony and tungstenum. In publication on Rapid Communication Mass Spectrometry..
6. M. Bettinelli – Aspetti e problematiche analitiche nello studio dei valori di riferimento – in Atti 4° Congresso Nazionale "1° Lista SIVR dei Valori di Riferimento" Castello di S. Gaudenzio (PV) 14-16 Dicembre 2000. Ed. G. Catenacci, C. Aprea.
7. M. Bettinelli – Controllo dell'incertezza nella produzione dei Valori di Riferimento – in Atti Convegno Nazionale "I valori di riferimento nella stima e gestione del rischio cancerogeno" 13 Dicembre 2004, Centro Incontri Regione Piemonte, Torino.