

COMITATO NAZIONALE PER LA BIOSICUREZZA
E LE BIOTECNOLOGIE

*LA SORVEGLIANZA DELL'ESPOSIZIONE A
INTERFERENTI ENDOCRINI*

**COMPONENTI IL COMITATO NAZIONALE
PER LA BIOSICUREZZA E LE BIOTECNOLOGIE**

Prof. Leonardo Santi
Presidente
CNBB

Dr. Giuseppe Ambrosio
Ministero delle Politiche Agricole e Forestali

Prof. Gabriele Anelli
Università "La Tuscia"

Prof. Luciano Caglioti
CNR

Prof. Giampiero Catone
Ministero per le Politiche comunitarie

Prof. Enrico Cernia
Università "La Sapienza"

Prof. Gerolamo Chiappino
Università di Milano

Dr. Fabrizio Cobis
*Ministero dell'Istruzione, dell'Università e
della Ricerca*

Prof. Maurizio Cocucci
Università di Milano

Dr. Aldo Cosentino
*Ministero dell'Ambiente e
della Tutela del Territorio*

Prof. Giuliano D'Agnolo
Istituto Superiore di Sanità

Prof. Bruno Dallapiccola
Università "La Sapienza"

Prof. Arturo Falaschi
ICGEB

Dr.ssa Anna Maria Faventi
Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali

Prof. Alessandro Finazzi Agrò
Università "Tor Vergata"

Min. Plen. Massimo A. Leggeri
Ministero degli Affari Esteri

Prof. Emanuele Lezoche
Università "La Sapienza"

Prof. Vincenzo Lorenzelli
Campus Biomedico

Prof. Rolando Lorenzetti
Alliance and Collaboration Bioserch Italia

Avv. Gabriella Mazzei
Ministero per l'innovazione tecnologica

Dr. Fabrizio Oleari
Ministero della Salute

Dr. Luigi B. Rossi
ENEA

Dr.ssa Ivana Pugliese
Ministero delle Attività Produttive

Prof. Gian Tommaso Scarascia Mugnozza
*Accademia Nazionale delle Scienze
detta dei XL*

Dr. Leonardo Vingiani
Assobiotec

**COMPONENTI IL GRUPPO DI LAVORO
PER LA SORVEGLIANZA DELL'ESPOSIZIONE AGLI INTERFERENTI
ENDOCRINI**

Prof. Leonardo SANTI
Presidente
CNBB

Dott. Alberto MANTOVANI
Coordinatore
ISS

Prof. Francesco BOCCARDO
ISO

Prof.ssa Maria Luisa BRANDI
Università degli studi di Firenze

Dott.ssa Silvana CAMILLERI
CNBB

Dott.ssa Annamaria COLACCI
Arpa Emilia-Romagna

Dott.ssa Elena FATTORE
Istituto di Ricerche Farmacologiche
"Mario Negri"

Dr.ssa Jelenia IVANOVIC
Specialista in allergologia e Immunologia
clinica

Prof. Giuseppe LATINI
Ospedale A. Perrino

Prof. Renato LAURO
Università degli studi di Roma "Tor Vergata"

Dott.ssa Catherine LECLERCQ
INRAN

Prof.ssa Katia MAMMOLA
Università degli studi di Reggio Calabria

Dott.ssa Alberta MANDICH
Università degli studi di Genova

Dott. Romano MARABELLI
Ministero della Salute

Prof. Luigi MANZO
Fondazione S. Maugeri

Dott.ssa Antonella OLIVIERI
ISS

Prof. Guido PETRACCA
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e
Marche

Dr. Marcello SPANO'
ENEA

Dott. Carlo ZAGHI
Ministero dell'Ambiente e della Tutela del
Territorio

ESPERTI:

Dott.ssa Laura FIORONI
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Marche e
Umbria

Dott.ssa Chiara FRAZZOLI
ISS

Dott.ssa Valentina MARTINETI
Università degli studi di Firenze

Dott. Gabriele MORACCI
ISS

Dott. Bruno SCARPA
Ministero della Salute

COLLABORATORI:

Sig.ra Francesca BALDI
ISS

Dott.ssa M. Giulia NITTI
CNBB

SOMMARIO

<i>Prefazione</i>	Pag. I
Executive Summary	Pag. 1
1. Gli interferenti endocrini: aspetti generali	Pag. 4
2. Iniziative internazionali per la valutazione del rischio	Pag. 5
3. Attività ed obiettivi del gruppo di lavoro	Pag. 8
4. Aspetti critici per la valutazione dell'esposizione ad alcuni interferenti endocrini considerati come esempi di gruppi più ampi	Pag. 9
5. Raccomandazioni per lo sviluppo di un modello integrato di valutazione del rischio	Pag. 17
6. Raccomandazioni del gruppo di lavoro	Pag. 25
7. Riferimenti bibliografici	Pag. 28
Tabella 1	Pag. 33
Tabella 2	Pag. 37
Tabella 3	Pag. 49
Allegato 1	Pag. 56
Allegato 2	Pag. 60
Allegato 3	Pag. 62
Allegato 4	Pag. 81

Prefazione

I problemi ambientali che riguardano la tutela della salute sono spesso affrontati privilegiando gli aspetti più eclatanti come ad esempio l'inquinamento atmosferico, determinato da emissioni di insediamenti industriali o abitativi, da un eccessivo uso di automezzi specie nelle città.

Sono aspetti facilmente rilevabili dai cittadini e quindi oggetto di varie forme di protesta che obbligano le autorità ad assumere provvedimenti riscontrabili da tutti.

Scarso impegno è invece riservato a sostanze che insidiano quotidianamente la nostra salute in modo più subdolo e perciò meno rilevabili comunemente ma proprio per questo più nocive e in grado di danneggiare in modo grave e molto spesso irreversibile i vari organismi viventi. In Italia, un gruppo di eccellenti ricercatori, con tenacia e determinazione, ha svolto in questi anni ricerche approfondite e qualificate e ha contribuito in modo rilevante ad aumentare le conoscenze scientifiche indispensabili per poter assumere decisioni di interesse sociale per contrastare una situazione sempre più ampiamente diffusa.

E' sembrato pertanto utile poter fornire a questi ricercatori un punto di incontro non solo per poter favorire confronti e approfondimenti che già periodicamente avvengono in altre sedi, ma specialmente per fornire indicazioni utili per tradurre le loro indicazioni in soluzioni operative.

Il documento redatto è pertanto un primo atto per poter riflettere su una problematica forse difficile da risolvere ma per cui è necessario assumere provvedimenti per cercare almeno di arginare un fenomeno che tende sempre più ad ampliarsi.

Questo Comitato cercherà pertanto di stimolare interventi utili con l'aiuto indispensabile degli estensori di questo così importante documento con iniziative verso Ministeri, Istituzioni pubbliche e private e di informazione per la cittadinanza.

Prof. Leonardo Santi

Presidente Comitato Nazionale per la

Biosicurezza e le Biotecnologie

EXECUTIVE SUMMARY

Secondo la definizione adottata dalla Unione Europea “un Interferente Endocrino è una sostanza esogena, o una miscela, che altera la funzionalità del sistema endocrino, causando effetti avversi sulla salute di un organismo, oppure della sua progenie o di una (sotto)popolazione”

Le valutazioni di diverse agenzie internazionali indicano che gli Interferenti Endocrini sono un ampio, eterogeneo e tuttora incompletamente conosciuto gruppo di sostanze che spazia da contaminanti ambientali persistenti a composti utilizzati come fitosanitari od antiparassitari a composti utilizzati in prodotti industriali e di consumo ed infine a composti naturali come i fitoestrogeni. Pertanto la valutazione dei possibili rischi associati all'esposizione ad Interferenti Endocrini riguarda diversi ambiti che vanno dall'ambiente alla alimentazione agli stili di vita.

Svariati argomenti, tutti basati su solide basi scientifiche, motivano l'interesse delle comunità scientifiche nei confronti degli Interferenti Endocrini:

- la *eterogeneità dei composti*, da cui consegue sia la capacità di alterare svariati meccanismi del complesso sistema endocrino sia la molteplicità delle possibili vie di esposizione
- la capacità di colpire numerosi organi e sistemi, principalmente il *sistema riproduttivo e la tiroide*, ma anche il sistema nervoso, immunitario, ecc, soprattutto nelle fasi dello sviluppo pre- e postnatale, inducendo uno spettro di effetti la cui comprensione è tuttora incompleta
- i dati sperimentali che indicano l'importanza di *aspetti insufficientemente compresi*, quali il rischio di effetti additivi o sinergici e/o la possibilità di effetti a dosi molto basse in fasi vulnerabili del ciclo vitale, in particolare per i composti che interagiscono con recettori nucleari
- il numero crescente di studi che mostrano associazioni fra l'esposizione a IE con *effetti avversi* nelle popolazioni animali e nell'essere umano
- l'importanza delle patologie *cronico-degenerative su base endocrina* per la sanità pubblica dei Paesi sviluppati ed emergenti, tenendo conto degli importanti mutamenti in atto in Europa riguardo la struttura demografica, i consumi alimentari e gli stili di vita
- la *diffusa esposizione*, la cui sorveglianza è resa maggiormente complessa dalla capacità di persistenza e bioaccumulo di diversi gruppi di composti
- *last but not least*, la presenza di *suscettibilità variabili* nelle popolazioni esposte. Accanto all'età ed al genere (ovvi fattori determinanti per la modulazione dell'equilibrio endocrino) va considerata la suscettibilità individuale su base genetica e quella associata all'alimentazione ed agli stili di vita: in particolare, l'assunzione di oligoelementi (ad es., iodio) e/o di sostanze bioattive naturali con effetti endocrini (l'ampio gruppo dei c.d. “fitoestrogeni”) sono elementi potenzialmente determinanti, ancorché tuttora da valutare.

L'esposizione dell'ambiente e della popolazione a Interferenti Endocrini è stato ed è oggetto, in Italia, di iniziative scientifiche di rilievo (v. il sito dedicato del Dipartimento di Sanità Alimentare ed Animale dell'Istituto Superiore di Sanità, <http://progetti.iss.it/inte/>) ma è mancata sinora un'azione di coordinamento a livello nazionale in grado di creare un circolo virtuoso fra ricerca, interventi sanitari ed ambientali ed iniziative legislative.

A tale scopo il Comitato Nazionale per Biosicurezza e le Biotecnologie ha organizzato il **Gruppo di Lavoro per la Sorveglianza dell' Esposizione a Interferenti Endocrini**, che ha svolto la propria attività nell'arco di 12 mesi (settembre 2005-Settembre 2006).

Dopo aver considerato 1) le *iniziative internazionali* per la valutazione del rischio e la ricerca sugli Interferenti Endocrini, con particolare riguardo per le attività in ambito europeo; 2) i punti critici per la valutazione del rischio e la sorveglianza di *alcune sostanze* prese come esempio di gruppi più ampi (diossine per i contaminanti; procimidone e etilene bisditiocarbammati per i fitosanitari; bisfenolo A e ftalati per i composti industriali; genisteina e lignani per i fitoestrogeni ed altre sostanze naturali); 3) gli elementi per una *proposta integrata* che vada dai nuovi sviluppi della valutazione tossicologica alla sorveglianza degli ecosistemi alla sicurezza alimentare sino alla sorveglianza epidemiologica, il Gruppo di Lavoro formula le seguenti **raccomandazioni**:

1. Nel campo della *valutazione tossicologica*, il Gruppo raccomanda che la valutazione del rischio per tutti i tipi di composti si basi anche su di un accurato esame degli effetti endocrini. In questo ambito, lo sviluppo di strategie integrate *in vitro/in vivo* deve tenere conto anche di bersagli e di effetti mediati da interferenza endocrina su organi e sistemi su cui sinora le conoscenze sono insufficienti, (es. sistema scheletrico, sistema immunitario), nonché delle diverse fasi di suscettibilità associate al ciclo vitale.

Le conoscenze sviluppate in ambito tossicologico debbono tradursi in azioni finalizzate alla regolamentazione ed alla valutazione del rischio. Il Gruppo di Lavoro, pertanto, auspica che posizioni ispirate all'evidenza scientifica aggiornata ed al principio di precauzione siano applicate ovunque sia ipotizzabile una significativa esposizione del pubblico, o di gruppi vulnerabili, ad interferenti endocrini. Il Gruppo di Lavoro presuppone inoltre che l'adozione di tali posizioni debba effettuarsi in armonia con approcci più generali sviluppati a livello europeo ed internazionale.

2. Le nuove acquisizioni sui meccanismi di azione a livello molecolare degli Interferenti Endocrini si traducano in *strumenti trasferibili* alla sorveglianza degli ecosistemi e della popolazione umana. Sono da sviluppare biomarkers di esposizione, effetto e suscettibilità per tutti gli Interferenti Endocrini riconosciuti come prioritari.

3. Il Gruppo di Lavoro raccomanda che si facciano tutti gli sforzi possibili per integrare le nuove conoscenze scientifiche nei programmi per la *sorveglianza degli ecosistemi e la sicurezza alimentare*, allo scopo di: (a) identificare composti di interesse prioritario da inserire nei piani di controllo; (b) individuare comparti ambientali o filiere alimentari vulnerabili; (c) aggiornare le metodologie per la sorveglianza. In particolare, occorre delineare approcci che permettano di *integrare le diverse fonti di dati*, in modo da permettere una valutazione realistica dell'esposizione complessiva a determinati gruppi di inquinanti. Ad esempio è importante l'integrazione dei dati di esposizione ambientale con dati epidemiologici sulle popolazioni animali, selvatiche e domestiche, e sull'uomo. In tale ambito, tuttavia, occorre anche raccomandare la massima attenzione ai problemi di *armonizzazione* fra le differenti sorgenti di dati.

4. Ancorché esistano valide fonti di dati epidemiologiche per talune patologie umane di potenziale rilievo, ad esempio i registri delle malformazioni congenite, occorre potenziarne la *copertura sul territorio nazionale*. Occorre inoltre *avviare sistemi di rilevazione* epidemiologica per altre patologie di rilievo, quali la pubertà precoce e l'endometriosi.

Vanno inoltre sviluppate indagini epidemiologiche *ad hoc* che siano in grado di stimare il reale impatto sulla salute umana e di individuare possibili segmenti di popolazione a maggior rischio. In tale ambito le *banche biologiche* possono essere uno strumento importante per sostenere e programmare studi di popolazione che utilizzino biomarcatori. E' certamente auspicabile un *coordinamento* fra gli studi epidemiologici e/o di monitoraggio biologico sugli Interferenti Endocrini attualmente in corso in Italia, sia sulla popolazione umana che sulle popolazioni animali.

5. Il Gruppo di Lavoro considera estremamente importante che gli sviluppi della ricerca sulle metodologie per la valutazione dell'esposizione a Interferenti Endocrini *non rimangano isolati* dal contesto della sorveglianza sanitaria ed ambientale.

In particolare, il Gruppo di Lavoro raccomanda di *identificare ed integrare* le diverse attività di monitoraggio biologico-ambientale esistenti in Italia. Questo può essere ottenuto mediante strategie di sorveglianza che prevedano: (a) la possibile integrazione *orizzontale* fra raccolte di dati *diversi* (es., ambiente, catena alimentare e salute umana); (b) l'uso efficiente delle risorse attraverso *più fasi* di approfondimento (ad es., un ventaglio di possibili segnali di allerta che consentano indagini più approfondite, caso per caso); (c) l'elaborazione di sistemi per il *trasferimento e la disseminazione* di markers e sensori alle strutture territoriali.

Pertanto un intervento per valutare e gestire l'esposizione ad Interferenti Endocrini, richiede un'azione integrata dei Ministeri della Salute e dell'Ambiente, nonché delle Regioni, con il sostegno delle rispettive strutture scientifiche.

6. Risulta oramai *imprescindibile la costituzione di una rete nazionale* per identificare le raccolte di dati in atto in Italia sulla esposizione ad Interferenti Endocrini in ambito ambientale,

alimentare ed epidemiologico allo scopo di favorire lo scambio di informazioni, l'integrazione fra le strategie di studio ed i risultati e l'armonizzazione degli approcci seguiti.

Nonostante l'attività qualificata di diversi gruppi di ricerca, infatti, l'attenzione verso gli Interferenti Endocrini è in Italia ancora insufficiente. Per contro, il nostro Paese, con la sua varietà di ambienti e di produzioni agrozootecniche da proteggere o riqualificare, la presenza di numerosi siti a rischio e la possibilità di una sorveglianza efficace offerta dai sistemi delle APAT e del SSN, avrebbe tutte le caratteristiche per affrontare adeguatamente il problema degli Interferenti Endocrini. I costi per lo sviluppo della rete potranno essere contenuti dando priorità alla *ottimizzazione e integrazione delle risorse già esistenti*, come raccomandato dalla Strategia Europea per l'Ambiente e la Salute (http://ec.europa.eu/environment/health/index_en.htm).

Occorre inoltre considerare che lo sviluppo della rete, potenziando l'efficacia degli strumenti per la prevenzione primaria, potrà produrre una riduzione complessiva dei costi per il servizio sanitario nazionale e indirettamente per l'intero sistema economico.

L'esigenza di sviluppare e diffondere sistemi avanzati per la sorveglianza ambientale ed epidemiologica potrà rappresentare un impulso per il sistema ricerca e per l'innovazione tecnologica. A tale proposito l'argomento "Interferenti Endocrini", soprattutto nei suoi aspetti di più diretto impatto per le attività di sorveglianza e prevenzione, dovrebbe essere meglio rappresentato in iniziative nazionali quali i *programmi per la ricerca sanitaria* banditi dal Ministero della Salute, i bandi del Ministero dell'Università e della Ricerca ecc.

7. Tra le variabili da tenere presenti per la valutazione del rischio per la salute venga annoverata la diffusione di eventuali *fattori protettivi e/o possibili strategie di prevenzione*. Un esempio importante è rappresentato dalla diffusione della *iodoprofilassi* su scala nazionale quale fattore protettivo nei confronti dell'ipofunzionalità tiroidea e, potenzialmente, anche nei confronti di Interferenti Endocrini ad azione tireostatica.

Le strategie di prevenzione costituiscono un importante aspetto della ricerca sugli Interferenti Endocrini. Ad esempio nell'ambito della sicurezza alimentare è molto importante incrementare le conoscenze sulle interazioni fra xenobiotici e nutrienti e sul potenziale effetto protettivo di questi ultimi.

8. La promozione di iniziative coordinate volte alla *formazione ed informazione* del personale di enti di ricerca, università, servizi sanitari ed ambientali, nel campo della valutazione del rischio da Interferenti Endocrini è ritenuta indispensabile. In primo luogo occorre valorizzare e diffondere le iniziative interdisciplinari di formazione post-universitaria già esistenti. Inoltre, si raccomanda che la formazione (ad es., sull'uso di biomarkers, basi di dati, etc.) vada estesa anche agli operatori delle strutture territoriali nei campi della salute e dell'ambiente. Per un piano di formazione professionale sulle tematiche "ambiente e salute", con particolare attenzione agli Interferenti Endocrini, è indispensabile il coinvolgimento del Ministero dell'Università e della Ricerca ma anche il contributo degli Ordini Professionali e delle numerose società scientifiche potenzialmente interessate.

Infine è da considerare adeguatamente l'importanza della comunicazione con gli operatori dell'informazione e con il cittadino. Per quanto siano già state realizzate valide iniziative, è indispensabile un'azione più capillare e coordinata e meno legata ad "allarmi" contingenti. Tale azione dovrebbe dare informazioni chiare e comprensibili sull'entità dei rischi, chiarire le azioni già in atto da parte delle strutture pubbliche nonché indicare comportamenti individuali e stili di vita atti a ridurre i rischi.

1. GLI INTERFERENTI ENDOCRINI: ASPETTI GENERALI

Secondo la definizione adottata dalla Unione Europea “un **Interferente Endocrino** è una sostanza esogena, o una miscela, che altera la funzionalità del sistema endocrino, causando effetti avversi sulla salute di un organismo, oppure della sua progenie o di una (sotto)popolazione” (*European Workshop on the Impact of Endocrine Disrupters on Human Health and Wildlife*, Weybridge, UK, 2-4/12/1996). Le valutazioni di diverse agenzie internazionali (v. **2. Aspetti generali ed iniziative internazionali**) indicano che gli Interferenti Endocrini sono un ampio, eterogeneo e tuttora incompletamente conosciuto gruppo di sostanze che spazia da contaminanti ambientali persistenti a composti utilizzati come fitosanitari od antiparassitari a composti utilizzati in prodotti industriali e di consumo ed infine a composti naturali come i fitoestrogeni. Pertanto la valutazione dei possibili rischi associati all'esposizione ad Interferenti Endocrini riguarda diversi ambiti che vanno dall'ambiente alla alimentazione agli stili di vita.

1.1. Svariati argomenti, tutti basati su solide basi scientifiche (v. ad es., i documenti prodotti dall'Istituto Superiore di Sanità: Mantovani, 2001; Maranghi e Mantovani, 2003; Maranghi *et al.*, 2005), motivano l'interesse delle comunità scientifiche nei confronti degli Interferenti Endocrini:

- l'eterogeneità dei composti, da cui conseguono sia la capacità di alterare svariati meccanismi del complesso sistema endocrino sia la molteplicità delle possibili vie di esposizione
- la capacità di colpire numerosi organi e sistemi, principalmente il *sistema riproduttivo e la tiroide*, ma anche il sistema nervoso, immunitario, ecc, soprattutto nelle fasi dello sviluppo pre- e postnatale, inducendo uno spettro di effetti, la cui comprensione è tuttora incompleta
- i dati sperimentali che indicano l'importanza di *aspetti insufficientemente compresi*, quali il rischio di effetti additivi o sinergici e/o la possibilità di effetti a dosi molto basse in fasi vulnerabili del ciclo vitale, in particolare per i composti che interagiscono con recettori nucleari
- il numero crescente di studi che mostrano associazioni fra l'esposizione a IE con *effetti avversi* nelle popolazioni animali e nell'essere umano
- l'importanza delle patologie *cronico-degenerative su base endocrina* per la sanità pubblica dei Paesi sviluppati ed emergenti, tenendo conto degli importanti mutamenti in atto in Europa riguardo alla struttura demografica, i consumi alimentari e gli stili di vita (**Allegato 1**)
- la *diffusa esposizione*, la cui sorveglianza è resa maggiormente complessa dalla capacità di persistenza e bioaccumulo di diversi gruppi di composti
- *last but not least*, la presenza di *suscettibilità variabili* nelle popolazioni esposte. Accanto all'età ed al genere (ovvi fattori determinanti per la modulazione dell'equilibrio endocrino) va considerata la suscettibilità individuale su base genetica e quella associata all'alimentazione ed agli stili di vita: in particolare, l'assunzione di oligoelementi (ad es., iodio) e/o di sostanze bioattive naturali con effetti endocrini (l'ampio gruppo dei c.d. “fitoestrogeni”) sono elementi potenzialmente determinanti, ancorché tuttora da valutare.

L'esposizione dell'ambiente e della popolazione a Interferenti Endocrini è stato ed è oggetto, in Italia, di iniziative scientifiche di rilievo (v. il sito dedicato del Dipartimento di Sanità Alimentare ed Animale dell'Istituto Superiore di Sanità, <http://progetti.iss.it/inte/>) ma è mancata sinora un'azione di coordinamento a livello nazionale in grado di creare un circolo virtuoso fra ricerca, interventi sanitari ed ambientali ed iniziative legislative.

A tale scopo il Comitato Nazionale per Biosicurezza e le Biotecnologie ha organizzato il **Gruppo di Lavoro per la Sorveglianza dell'Esposizione a Interferenti Endocrini**, che ha svolto la propria attività nell'arco di 12 mesi (settembre 2005-Settembre 2006).

Obiettivo dell'attività del Gruppo di Lavoro è stato lo sviluppo di linee guida per la valutazione della esposizione a Interferenti Endocrini che possano essere di indirizzo sia per la ricerca scientifica, sia per azioni a favore della salute della qualità della vita della popolazione generale; nelle sue raccomandazioni il Gruppo di Lavoro ha dato inoltre risalto al ruolo che lo sviluppo di

nuove biotecnologie e l'ottimizzazione di quelle già esistenti può avere nella valutazione dei reali rischi per l'ambiente e la salute.

In conclusione, il Gruppo di Lavoro ha inteso fornire indicazioni atte a rafforzare le basi scientifiche per l'analisi del rischio degli Interferenti Endocrini, nonché ad integrare e potenziare le attività di sorveglianza.

2. INIZIATIVE INTERNAZIONALI PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO

2.1 Gli Interferenti Endocrini sono un argomento di rilievo nel panorama internazionale ed europeo della ricerca e della valutazione del rischio nei campi della sicurezza alimentare ed ambientale.

Le principali agenzie internazionali hanno trattato i problemi associati con l'esposizione ad Interferenti Endocrini da differenti punti di vista. L'*International Programme for Chemical Safety* (IPCS) della Organizzazione Mondiale della Sanità nel 2002 ha pubblicato il Rapporto *Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors* (http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/index.html), il cui principale obiettivo è la rassegna critica delle evidenze scientifiche in favore delle associazioni fra esposizioni ad Interferenti Endocrini e danni alla salute umana o agli ecosistemi.

La *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) ha dedicato la sua attenzione essenzialmente allo sviluppo ed armonizzazione delle strategie per l'identificazione di Interferenti Endocrini e la caratterizzazione dei loro effetti sull'essere umano e sugli ecosistemi. Un ruolo chiave ha il gruppo di lavoro OECD *Endocrine Disruptors Testing and Assessment* (http://www.oecd.org/document/62/0,2340,en_2649_34377_2348606_1_1_1_1,00.html). Il gruppo di lavoro ha avviato programmi internazionali di validazione/ottimizzazione di test a breve termine *in vivo* (ad es., tossicità orale nel ratto a 28 gg. –OECD 407), *in vitro* (in primo luogo saggi di legame e/o attivazione dei recettori estrogeno alfa e androgeno) ed ecotossicologici (ad es., metamorfosi di *Xenopus*); inoltre sono stati identificati i test a due generazioni sia esistenti (ratto: linea Guida OECD 416) sia in fase di sviluppo (pesci, uccelli) come elemento chiave per la valutazione di Interferenti Endocrini, in quanto unici test standardizzati per l'uso in campo regolamentativo in cui un organismo è esposto per l'intera durata dello sviluppo, dallo stadio di zigote sino alla maturità sessuale (per una rassegna dei test in ambito tossicologico, v. Bremer et al., 2005 e Mantovani, 2006; per i saggi in ambito ecotossicologico v. Beitholtz et al., 2006 e Walzer, 2006).

Le principali Agenzie dei Paesi industrializzati (es. *US Environmental Protection Agency*) hanno in corso programmi sia per lo *screening* sia per la valutazione del rischio: per una panoramica, ancorché non esaustiva, è disponibile per la consultazione la pagina del sito Interferenti Endocrini dell'Istituto Superiore di Sanità dedicata ai link con istituzioni pubbliche (<http://www.iss.it/inte/link/index.php?lang=1>).

In alcun modo può essere trascurato l'interesse nei confronti degli effetti ambientali e sulla salute di Interferenti Endocrini da parte di Organizzazioni Non Governative (ONG) internazionali. A titolo di esempio, può essere citata la campagna DETOX del *World Wildlife Fund* (<http://detox.panda.org/>) tesa a sensibilizzare l'opinione pubblica sulla diffusa presenza di contaminanti negli organismi. Inoltre, in taluni Paesi la diffusione delle informazioni scientifiche sui possibili rischi derivanti dagli Interferenti Endocrini, ed in particolare per la fertilità e per la salute dei bambini, ha suscitato un vivace dibattito nell'opinione pubblica, in particolare negli USA e nell'Europa settentrionale; a tale proposito meritano attenzione alcuni studi scientifici finanziati da ONG quali, ad es., il lavoro di Rudel *et al.*, (2003) sulla presenza di Interferenti Endocrini nell'ambiente *indoor*. Tali preoccupazioni, condivise da parte del mondo scientifico, hanno portato nel 2005 alla "Dichiarazione di Praga", promossa dal cluster di progetti CREDO (vedi sotto) e cui hanno aderito centinaia di ricercatori, in favore del rafforzamento della ricerca sugli Interferenti Endocrini (<http://www.edenresearch.info/declaration.html>).

2.2 La prima definizione del problema in Europa è avvenuta nel corso del Workshop *European Workshop on the Impact of Endocrine Disrupters on Human Health and Wildlife*, (Weybridge 2-4/12/1996, v. **1. Prefazione**). Dieci anni dopo, nel corso della presidenza finlandese dell'Unione Europea, si è svolto un nuovo Workshop Europeo per delineare il punto della situazione ed aprire a possibili nuovi sviluppi (*Impacts of Endocrine Disrupters*, Helsinki, 8-10/11/2006; programma e presentazioni consultabili su <http://www.iss.it/inte/cong/cont.php?id=3&lang=1&tipo=6>).

Il rilievo che l'Unione Europea attribuisce ai problemi sanitari ed ambientali associati all'esposizione ad Interferenti Endocrini è indicato dai due siti dedicati della Commissione Europea, rispettivamente dalla DG Environment (http://ec.europa.eu/environment/endocrine/index_en.htm) e dalla DG Research (http://ec.europa.eu/research/endocrine/index_en.html).

Importanti sono state le risorse dedicate alla ricerca sugli Interferenti Endocrini nell'ambito del 5° e 6° programma Quadro della ricerca europea: a titolo di esempio, tra i principali progetti si segnalano:

- INUENDO, sui biomarcatori di effetto per la fertilità maschile in associazione a biomarcatori di esposizione a Interferenti Endocrini (organoclorurati persistenti) (<http://www.inuendo.dk/>)
- ANEMONE sugli effetti neurocomportamentali di Interferenti Endocrini ed altri contaminanti persistenti e sullo sviluppo di appropriati biomarkers (<http://www.anemone-project.dk/>)
- il cluster di progetti CREDO, con i progetti associati, che ambisce ad integrare la ricerca sugli aspetti ecotossicologici e tossicologici, con particolare attenzione alla valutazione delle esposizioni combinate (<http://www.credocluster.info/>)
- il network di eccellenza CASCADE, ed i progetti associati, sulle sostanze (naturali e di sintesi) presenti nella catena alimentare che interagiscono con i recettori nucleari (<http://www.cascadenet.org/>)

Gruppi di ricerca italiani partecipano come partner ai principali progetti europei, tuttavia è ancora relativamente limitato il numero di progetti a coordinamento italiano (**Allegato 2**).

2.2.1. Sempre a livello europeo, vanno sottolineati i problemi posti dalla nuova normativa europea sulla valutazione delle sostanze chimiche che per la prima volta dà rilievo in ambito regolamentativo alla identificazione di Interferenti Endocrini. La proposta della Commissione Europea [COM(2003) 644] relativa al regolamento "REACH" (acronimo di *Registration, Evaluation, Authorisation of CHemicals*), attualmente in fase di definitiva approvazione da parte del Parlamento Europeo e del Consiglio, prevede che le sostanze "estremamente problematiche" per la salute umana e per l'ambiente siano sottoposte, per quanto concerne la produzione e l'uso, ad una procedura di valutazione e autorizzazione.

Per sostanze "estremamente problematiche" si intendono:

- le sostanze classificate come cancerogene, mutagene o tossiche per la riproduzione (categorie 1 o 2), ai sensi della direttiva 67/548/CEE
- le sostanze identificate come PBT (persistenti, bioaccumulabili e tossiche) o vPvB (molto persistenti e molto bioaccumulabili), sulla base di criteri specifici indicati in un allegato al regolamento REACH
- le sostanze che perturbano il sistema endocrino, identificate in base ad una valutazione effettuata, caso per caso, dagli Stati Membri e dalla futura Agenzia chimica europea.
- le sostanze per le quali il livello di preoccupazione relativo ai possibili effetti sulla salute umana e sull'ambiente può essere considerato equivalente a quello suscitato dai tipi di sostanze precedentemente indicati.

Tali sostanze, dopo essere state identificate, sono inserite in un elenco (pubblico) e per ciascuna di esse viene stabilita una data di scadenza. Qualora nessuna impresa presenti, entro diciotto mesi dalla data di scadenza indicata, una domanda di autorizzazione corredata di tutte le informazioni necessarie e di un'analisi delle alternative eventualmente disponibili, la produzione e l'uso di quella sostanza risultano vietati in tutto il territorio comunitario.

Le domande di autorizzazione sono presentate all'Agazia europea che, attraverso i propri comitati tecnici (comitato per la valutazione dei rischi e comitato per l'analisi socio-economica), provvede a formulare i pareri. Sulla base di tali pareri, la Commissione elabora un progetto di decisione sul rilascio o il rifiuto dell'autorizzazione.

L'autorizzazione è rilasciata a condizione che i rischi per la salute umana o per l'ambiente risultino adeguatamente controllati. Si tratta di una decisione di carattere non generale e riguarda, per un periodo limitato, unicamente l'impresa che ha presentato la domanda di autorizzazione e gli usi previsti.

Qualora non sia possibile dimostrare un controllo adeguato del rischio, ad esempio quando non risulti identificabile una soglia di non-effetto per la sostanza in questione, l'autorizzazione può essere ugualmente concessa se l'impresa è in grado di dimostrare che i vantaggi socio-economici derivanti dall'uso della sostanza prevalgono sui rischi e, soprattutto, l'assenza di idonee sostanze e/o tecnologie alternative a costi sostenibili. In questo caso, all'impresa può essere richiesto di presentare un piano di sostituzione della sostanza.

La decisione relativa all'autorizzazione tiene conto, oltre che delle informazioni fornite dall'impresa, di tutte le informazioni disponibili sui rischi e sui costi delle possibili sostanze o tecnologie alternative.

L'attenzione nei confronti degli Interferenti Endocrini è motivata, oltre che dai possibili effetti cruciali per la valutazione del rischio (tossicità dello sviluppo e riproduttiva, cancerogenesi) anche dalla potenziale esposizione; oltre all'esempio estremo dei POPs, altri Interferenti Endocrini mostrano caratteristiche di persistenza e di bioaccumulo (categorie PBT e VPVB).

Pertanto, REACH richiede che vengano attuati saggi tossicologici per evidenziare potenziali Interferenti Endocrini e, ove necessario, per valutarne a pieno gli effetti. Tra questi, come raccomandato dall'OECD, emerge come test chiave il test a due generazioni (OECD 416).

L'attuazione di REACH evidenzia la necessità di sviluppare e/o ottimizzare strategie di saggio che siano valide scientificamente e consentano un uso efficiente delle risorse. Infatti, saggiare tutte le sostanze con il test a 2 generazioni sarebbe sia molto difficile in termini di tempi e risorse, sia non privo di problemi etici per l'ingente numero di animali che sarebbero utilizzati.

In tale ambito, è importante il trasferimento al contesto regolamentativo dei risultati di progetti europei quali ReProTect (<http://www.reprotect.eu/>), un progetto Integrato sostenuto dal Centro Europeo per la Validazione dei Metodi Alternativi-ECVAM e coordinato dalla Università di Tübingen, Germania, con la partecipazione di oltre 30 Partner di tutta Europa, tra cui in Italia l'ISS, l'ENEA Casaccia e l'Istituto Sperimentale "Lazzaro Spallanzani" (Cremona). Obiettivo di Reprotect è lo sviluppo di una strategia integrata di test *in vitro* per la tossicità riproduttiva, che consentano sia una identificazione dei meccanismi di azione (con particolare riguardo per le interferenze con i recettori per gli steroidi) sia l'identificazione di effetti cellula- e/o tessuto-specifici, con particolare riguardo per i componenti dei sistemi riproduttivi maschile e femminile e della placenta.

2.2.2. L'esposizione ad Interferenti Endocrini, oltre che nella regolamentazione delle sostanze chimiche, riceve una specifica attenzione nell'ambito di attività europee su ambiente e salute e sulla sicurezza alimentare.

L'Authority Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA, <http://www.efsa.europa.eu/>) intende dare attenzione ai potenziali Interferenti Endocrini nelle catene alimentari: valutazioni del rischio in questo ambito sono state effettuate dai Panel AFC-Additivi alimentari e materiali a contatto con gli alimenti (ad es., ftalati), Contaminanti (ad es., PCB non-diossina simili) e FEEDAP-Additivi e sostanze utilizzate in alimentazione animale (ad es., sali di iodio), nonché nei Colloqui scientifici organizzati dall'Authority (ad es., EFSA Scientific Colloquium 1 on *Methodologies and principles for setting tolerable intake levels for dioxins, furans and dioxin-like PCB's*, http://www.efsa.europa.eu/en/science/colloquium_series/no1_dioxins.html). Una prima panoramica dell'interesse dell'EFSA nei confronti della valutazione di Interferenti Endocrini è offerta nell'intervento alla Spring School on Risk Assessment organizzata nell'ambito del network

Gli Interferenti Endocrini sono stati un argomento prioritario nel progetto SCALE (Calamandrei e Mantovani, 2004), che ha rappresentato la base scientifica per l'elaborazione della strategia europea Ambiente e Salute (2004-2010) (http://ec.europa.eu/environment/health/index_en.htm). Le raccomandazioni prodotte da SCALE sono state considerate con attenzione dal Gruppo di Lavoro, in particolare:

1. l'urgenza di strategie di analisi del rischio che tengano conto delle fasce più vulnerabili di popolazione, quali l'infanzia.
2. la complessità dei possibili rischi ambientali e sanitari associati agli Interferenti Endocrini, riguardanti sia la salute riproduttiva, sia lo sviluppo e la funzionalità del sistema nervoso e immunitario, sia la modulazione del rischio di patologie tumorali.
3. la necessità di integrare diverse fonti di dati, dando particolare attenzione ai problemi relativi all'armonizzazione e all'assicurazione di qualità.
4. le priorità per la ricerca scientifica centrate sul miglioramento delle interazioni fra studi tossicologici, ecotossicologici ed epidemiologici, anche attraverso lo sviluppo di biosensori e biomarkers.

3. ATTIVITÀ ED OBIETTIVI SPECIFICI DEL GRUPPO DI LAVORO

3.1. Nell'ambito delle attività svolte dal Gruppo di Lavoro, è stata identificata una lista di sostanze di interesse prioritario sulla base delle indicazioni delle Agenzie internazionali (**Tabella 1**).

Tale lista non va in alcun modo a sostituirsi a elenchi di sostanze classificabili come Interferenti Endocrini elaborati, o in corso di elaborazione, da parte di Agenzie internazionali (v. il documento della Commissione Europea-DG Environment -Ottobre 2004- su quali sostanze sono sospettate di agire come Interferenti Endocrini negli esseri umani e/o negli animali: http://europa.eu.int/comm/environment/endocrine/documents/sec_2004_1372_en.pdf). La lista va invece considerata una selezione, aperta a ulteriori contributi e modifiche, di composti di interesse prioritario per l'elaborazione di modelli per la sorveglianza dell'esposizione nel contesto italiano, sulla base delle informazioni disponibili.

3.2. L'ambito ed i limiti dell'attività del Gruppo di lavoro sono pertanto i seguenti:

- a) il Gruppo di Lavoro adotta la definizione di Interferente Endocrino definita dalla *European Workshop on the Impact of Endocrine Disruptors on Human Health and Wildlife*, (Weybridge 2-4/12/1996) (v. **1. Aspetti Generali**);
- b) l'ambito d'interesse del Gruppo di Lavoro è rappresentato dalla sorveglianza delle *esposizioni involontarie* (alimentari ed ambientali) nonché dalla valutazione del reale impatto sulla salute umana e sulla qualità dell'ambiente dell'esposizione a Interferenti Endocrini;
- c) le sostanze per le quali l'assunzione avviene *volontariamente* e che modulano l'omeostasi endocrina (es. anabolizzanti, integratori, farmaci) non rientrano nell'ambito di interesse del Gruppo di Lavoro. Non rientrano direttamente in tali obiettivi anche i *macro-* e *micro-*nutrienti in grado di modulare positivamente (o negativamente, se in eccesso) l'omeostasi endocrina (v. il documento EFSA *Tolerable Intake Levels for Vitamins and Minerals*, http://www.efsa.europa.eu/science/nda/catindex_en.html);
- d) Vanno ricordati alcuni gruppi di sostanze importanti per il possibile impatto sulla salute umana (*idrocarburi policiclici aromatici, metalli pesanti*) per i quali, pur non essendo tipicamente annoverati fra i classici Interferenti Endocrini, esistono evidenze di effetti sull'equilibrio ormonale. Un esempio di particolare interesse in tale ambito è rappresentato dai *metalli pesanti*. Vari metalli, tra cui arsenico, boro, cadmio, manganese, mercurio, piombo e tallio hanno la capacità di produrre effetti avversi a carico del sistema endocrino e

dei sistemi riproduttivi (Golub, 2006). Ciò è stato documentato in modelli animali o anche nell'uomo, ma solo a livelli di esposizione che sono ben oltre quelli riscontrabili nei normali ambienti di vita (es. intossicazioni acute accidentali, intossicazioni professionali). In certi casi le alterazioni endocrine causate da metalli sono secondarie ad effetti iniziali su altri organi e apparati. Ad esempio, variazioni dei livelli circolanti di prolattina, talora osservati in soggetti professionalmente esposti al manganese, derivano dall'azione del metallo sui sistemi dopaminergici centrali. Altre volte, gli effetti su ghiandole endocrine sono di tipo "lesionale" (es. tossicità testicolare del cadmio) oppure sono espressione di tossicità generale non specifica. Negli esperimenti su animali, la tossicità endocrina da metalli si osserva in genere a dosi e concentrazioni che superano ampiamente quelle necessarie per evocare le manifestazioni di tossicità (tossicità d'organo, cancerogenesi, ecc) caratterizzanti il profilo tossicologico del metallo.

Tali sostanze non sono trattate in dettaglio dal presente Rapporto. Vanno tuttavia considerati alcuni dati sperimentali più o meno recenti, che documentano, ad esempio, le interazioni con recettori nucleari. Esempi sono le interazioni di idrocarburi policiclici aromatici con il recettore arilico (recettore Ah), che hanno portato a considerare il fumo di sigaretta come un "interferente endocrino", in particolare riguardo agli effetti sulla riproduzione femminile (Detmar et al., 2006, Wyndham et al., 2005); dell'arsenico inorganico con il recettore nucleare per i glicocorticoidi (Bodwell et al., 2004); di svariati altri metalli con i recettori estrogeni (alluminio, antimonio, arsenico, bario, cadmio, cromo trivalente, cobalto, rame, piombo, mercurio, nichel, selenio, stagno e vanadio) (Darbre, 2006). Non è perciò escluso che un approfondimento delle conoscenze su tali effetti possa modificare i parametri per la valutazione e gestione del rischio (es. limiti in matrici alimentari ed ambientali) per talune di queste sostanze.

- e) il Gruppo, tuttavia, ritiene che gli studi sull'esposizione ad Interferenti Endocrini debbano tenere conto, ove opportuno e fattibile, anche dell'assunzione delle sostanze e/o fattori di cui ai punti c) e d) in quanto possono essere importanti modulatori del rischio

3.3. La **Tabella 2** (*Effetti di Interferenti Endocrini sulla salute umana*) e la **Tabella 3** (*Effetti di Interferenti Endocrini sulle popolazioni animali selvatiche*) presentano una panoramica riguardo a studi, rispettivamente, sulla salute umana e su popolazioni animali che hanno considerato *indicatori di effetto e biomarcatori di esposizione* in base agli specifici composti indagati perchè potenziali Interferenti Endocrini.

L'**allegato 3** offre una panoramica della situazione normativa a livello europeo di composti identificati come potenziali Interferenti Endocrini.

4. ASPETTI CRITICI PER LA VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE AD ALCUNI INTERFERENTI ENDOCRINI CONSIDERATI COME ESEMPI DI GRUPPI PIÙ AMPI

4.1. Contaminanti organici persistenti

I contaminanti organici persistenti (*Persistent Organic Pollutants-POP*, <http://www.chem.unep.ch/pops/>) sono sostanze che oltre a possedere proprietà tossiche sono caratterizzate dalla resistenza alla degradazione chimica e biologica. E' evidente che questa caratteristica implica un'ulteriore pericolosità intrinseca dovuta al fatto che questi composti – anche là dove ne vengano controllate le emissioni – accumulandosi raggiungeranno livelli di concentrazione di cui è difficile valutare le conseguenze e le possibilità di bonifica. Inoltre, sempre a causa della loro persistenza, i POP sono soggetti al trasporto attraverso aria, acqua e terreno, anche a lunga distanza, e quindi all'accumulo in luoghi remoti e lontani dai luoghi di emissione. Per queste ragioni le problematiche poste da questi inquinanti travalicano le frontiere nazionali e richiedono un'azione integrata tra i diversi Paesi.

La Convenzione di Stoccolma sui POP è stata firmata da oltre 90 nazioni il 23 maggio 2001 ed è entrata in vigore nel maggio del 2004 con l'adesione di 150 paesi tra cui gli Stati Membri della Unione Europea. La Convenzione, fondata sul principio di precauzione, ha come obiettivo la protezione della salute umana e dell'ambiente dai danni causati dai POP e definisce una *lista di 12 sostanze o classi di sostanze* prioritarie (aldrin, clordano, DDT, dieldrin, endrin, eptacloro, mirex, toxafene, policlorobifenili, diossine e furani) alle quali ne sono state successivamente aggiunte delle altre (pentabromofenolo, clordecone, esabromodifenile ed esaclorocicloesano). La sua attuazione prevede che ogni parte contraente elabori un piano di azione volto a intraprendere attività di ricerca e monitoraggio relativamente a questi inquinanti e a ridurre o eliminare le emissioni dovute alla produzione, all'uso intenzionale e non, e ai rifiuti.

4.1.1. All'interno dei POPs il Gruppo ha considerato in modo particolare le *diossine* e i composti *diossino-simili*, sia in quanto paradigmatici rispetto alle problematiche poste dai POP, sia sulla base degli allarmi, anche recenti, sulla contaminazione di prodotti alimentari (per es., per il latte vaccino e bufalino prodotto in provincia di Caserta, v. il piano di interventi formulato nel 2003 dalla Regione Campania,

http://www.sito.regione.campania.it/burc/pdf03/burc13or_03/del932_03allpaiano.pdf). Si tratta di sostanze appartenenti alle seguenti classi chimiche: policlorodibenzo-*p*-diossine (PCDD), policlorodibenzo-furani (PCDF), polibromodibenzo-*p*-diossine (PBDD), polibromodibenzo furani (PBDF), policlorobifenili (PCB) e polibromodifenili (PBB); il termine diossino-simile si riferisce oltre che alla similitudine nella struttura e nelle proprietà chimico-fisiche, a un comune meccanismo d'azione mediato dal legame col recettore Ah. Questi inquinanti ambientali sono tra i più tossici tra quelli di origine antropica e purtroppo l'Italia ne conosce bene l'impatto in seguito all'incidente di Seveso (1976). L'origine nell'ambiente dei composti diossino-simili può essere molto diversa: le policlorodibenzo-*p*-diossine e i policlorodibenzo furani ad esempio, si formano come sottoprodotti indesiderati nei processi di combustione e in altri processi industriali mentre i PCB sono stati prodotti ed utilizzati massicciamente nell'industria approssimativamente fino agli anni Ottanta. In entrambi i casi, comunque, proprio il problema della persistenza ambientale ne ha permesso l'accumulo nell'ambiente fino a livelli dannosi per l'uomo e gli altri esseri viventi.

L'esposizione principale avviene attraverso l'alimentazione e in particolare, il pesce, i latticini e le carni rappresentano gli alimenti più contaminati.

Questi composti si accumulano nei tessuti grassi e sono rilasciati in determinati momenti fisiologici tra i quali l'allattamento.

L'esposizione in utero e l'esposizione post-natale attraverso il latte materno possono determinare alterazioni a carico del sistema *riproduttivo, immunitario e nervoso*, con conseguenze che possono perdurare nella vita adulta. Inoltre, come evidenziato anche da recenti studi sul ratto femmina sessualmente immaturo (Crofton et al., 2005) e su una coorte madre-neonato di Taiwan (Wang et al., 2005), occorre dare attenzione anche agli effetti delle diossine sulla funzione *tiroidea*.

4.2 Composti utilizzati nella filiera agro-zootecnica

Sulla base delle indicazioni delle Agenzie internazionali e dei dati sull'utilizzo in Italia ed in Europa, il Gruppo di lavoro ha identificato diversi gruppi di sostanze utilizzate in agricoltura e, in minor misura, in zootecnia quali particolarmente meritevoli di attenzione per i potenziali effetti endocrini (**Tabella 1**).

4.2.1. Nell'ambito delle proprie attività, il Gruppo ha dato specifica attenzione a due fungicidi:

- a) il *procimidone*, un dicarbossimide antagonista del recettore androgeno
- b) il *fenarimol*, che, analogamente ad altri composti appartenenti al vasto gruppo degli azoli, è un inibitore di enzimi coinvolti nella sintesi degli steroidi.

La specifica attenzione verso questi due composti è stata data sulla base dell'evidenza di effetti negli animali da laboratorio, i dati di esposizione in Emilia Romagna messi a disposizione dall'ARPA e l'interesse a livello europeo per la regolamentazione di tali sostanze.

In tale ambito il Gruppo di Lavoro, su invito del Ministero dell'Ambiente, ha inoltre espresso un parere sulla eventuale inclusione in *Annex I* dei due composti ad uso fitosanitario, in discussione a livello Europeo anche per i possibili effetti endocrini. I pareri formulati dal Gruppo, ed il parere dell'Istituto Superiore di Sanità, sono riportati in **Allegato 4**.

4.2.2. Il Gruppo di Lavoro intende richiamare l'attenzione anche su un altro importante gruppo di composti ad uso fitosanitario, la famiglia degli *etilenbisditiocarbamati (EBDC)*, fungicidi ampiamente utilizzati non solo nel nostro Paese (ad esempio nella coltura vitivinicola), ma anche nel resto d'Europa e in USA. La loro ampia diffusione, dovuta essenzialmente ad una ridotta tossicità acuta, ed il fatto che tutti i composti appartenenti agli EBDC siano metabolizzati ad *etilentiourea (ETU)*, derivato metabolico cui si deve l'azione tireostatica di tali sostanze (Houeto et al., 1995), fanno sì che a questa categoria di pesticidi vada data un'attenzione particolare nell'ambito degli Interferenti Endocrini. Studi di biomonitoraggio dell'ETU urinario hanno dimostrato l'esposizione di ampi strati della popolazione generale agli EBDC, anche in Italia (Colosso et al., 2006). Sebbene l'ETU non sia una sostanza che si accumula nell'organismo, in quanto non lipofilo, la sua emivita relativamente lunga (fino a 100 ore nell'essere umano), nonché la sua capacità di attraversare la placenta e la sua possibile eliminazione nel latte materno, conferiscono a questa categoria di pesticidi un potenziale impatto sulla salute umana, considerato il ruolo centrale che gli ormoni tiroidei svolgono nello sviluppo del sistema nervoso durante le prime fasi della vita e nel controllo dell'omeostasi metabolica in età adulta.

4.2.3. Il Gruppo ha considerato il potenziale di esposizione a prodotti fitosanitari e la valutazione dei possibili rischi per la salute umana.

Per quanto riguarda l'esposizione, i prodotti fitosanitari sono oggetto di piani di monitoraggio dei residui negli alimenti di origine vegetale a livello nazionale: i dati pubblicati dal Ministero della Salute per l'anno 2005 non indicano una situazione preoccupante (<http://www.ministerosalute.it/dettaglio/pdfFocus.jsp?area=alimenti&colore=3&id=393>). Tuttavia il Gruppo di Lavoro raccomanda di mantenere un'adeguata attenzione verso le esposizioni ambientali a principi attivi identificati come Interferenti Endocrini: i dati di Colosio et al. (2006) sul monitoraggio biologico di ETU in soggetti della popolazione generale e di Aprea et al. (2000) sulla presenza di metaboliti di insetticidi organofosforici nelle urine di bambini della provincia indicano la necessità di un'attenzione verso l'esposizione integrata a pesticidi, comprendendo l'assunzione di residui attraverso gli alimenti, l'esposizione attraverso l'ambiente di vita (comunità che vivono in zone di agricoltura intensiva) e gli usi domestici o per disinfestazione.

Inoltre, maggiore attenzione potrebbe essere data anche alla presenza di residui in mangimi ed alimenti di origine animale. L'EFSA ha valutato nel 2005 la contaminazione dei mangimi da parte di endosulfan, un insetticida clorurato con potenziali attività endocrine, che sino al 2006 è ancora autorizzato in alcuni Stati Membri; l'EFSA ha concluso che il rischio per gli animali e per i consumatori appare basso sulla base dei dati disponibili, ma anche che questi ultimi –ed in particolare le informazioni sull'esposizione- sono insufficienti per una valutazione accurata (http://www.efsa.europa.eu/en/science/contam/contam_opinions/1025.html). Considerando l'inadeguatezza delle informazioni disponibili sulla presenza di residui di pesticidi nei mangimi e negli alimenti di origine animale, il Gruppo suggerisce l'effettuazione di studi pilota su aree campione.

Per ciò che riguarda possibili *indicazioni per la valutazione del rischio* per la salute umana, si raccomanda lo sviluppo di: a) studi di popolazione che tengano in considerazione non solo esposizioni professionali, ma anche esposizioni attraverso gli alimenti (vegetali, ma non solo) e l'ambiente di vita che interessano la popolazione generale, e con l'utilizzo di biomarcatori precoci di esposizione, dose efficace e suscettibilità; b) studi che verifichino l'impatto in gravidanza e nella prima infanzia di tale tipo di esposizioni, in particolare attraverso lo sviluppo di coorti madre-bambino; questo permetterebbe una valutazione più accurata dei livelli di esposizione che non presentano rischi apprezzabili per le fasce più vulnerabili della popolazione.

4.3. Composti ad uso industriale

Per i composti di uso industriale nei materiali di imballaggio degli alimenti e nei prodotti di consumo, sulla base delle indicazioni delle Agenzie internazionali e dei numerosi studi presenti in letteratura il Gruppo ha considerato il **bisfenolo A** (BPA) e gli **ftalati**.

4.3.1. Il BPA è utilizzato nella produzione di policarbonati e di resine epossidiche che hanno numerosi usi come materiale a contatto con gli alimenti e le bevande: biberon, contenitori di plastica, rivestimento interno delle lattine e delle scatolette, rivestimento dei tappi di bottiglie e vasetti di vetro, tubature e serbatoi per l'acqua potabile, contenitori per lo stoccaggio del vino. Inoltre è presente nella composizione di alcuni sigillanti dentali.

Nel 2003 è stato pubblicato il Risk Assessment Report dell'Unione Europea relativo al BPA (disponibile su http://ecb.jrc.it/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/SUMMARY/bisphenolasum325.pdf), ed è attualmente in corso di valutazione da parte dell'EFSA la sicurezza d'uso del BPA nei materiali a contatto con gli alimenti. Particolare attenzione è necessaria per l'esposizione al BPA nei neonati e nei bambini. E' emerso da recenti studi che i biberon in policarbonato usati ripetutamente tendono a rilasciare maggior quantità di BPA rispetto ai biberon nuovi. Si è anche osservato che lo studio della migrazione dopo 3 contatti consecutivi, così come prescritto dalla Direttiva 93/8/EEC, non permette di identificare un aumento del rilascio di BPA con il tempo (Central Science Laboratory, 2004), mentre l'aumento di rilascio è evidenziato mediante simulazioni di lavaggio ripetuto in lavastoviglie (Brede et al., 2003) o utilizzando biberon usati da più di 3 mesi (Tan & Mustafa, 2003). Si raccomanda pertanto che sia approfondita la problematica della misura del rilascio dopo uso ripetuto per eventualmente aggiornare la Direttiva di cui sopra.

Il rilascio di piccole quantità di BPA dal biberon in policarbonato avviene in maniera continuativa. Data l'incertezza sui possibili effetti dell'esposizione a basse dosi in questa fascia di età, si raccomanda di suggerire, quanto meno nelle prime settimane di vita del bambino, l'uso di biberon di vetro e di studiare alternative al PC.

Sono disponibili pubblicazioni che riportano dati analitici relativi alla concentrazione di BPA in alimenti e bevande commercializzate in lattine e scatolette in Europa (FSA, 2000; Goodson et al. 2004; Braunrath et al. 2005). Vi sono invece carenze conoscitive riguardanti alcune altre vie di esposizione al BPA. In particolare, vi è incertezza circa il rilascio dai sigillanti dentali e l'effettiva presenza nei sigillanti usati in Italia. Tale rilascio implicherebbe sia un'esposizione acuta al momento dell'applicazione che un'esposizione cronica mediante rilascio di piccole quantità nel tempo. Per quanto riguarda la dieta, vi sono incertezze circa la possibile presenza di BPA nell'acqua potabile (con eventuale formazione di prodotti di clorurazione) e nel vino. Tale presenza deriverebbe dall'uso di PC nelle tubature e di resine epossidiche nei contenitori per lo stoccaggio.

4.3.1.1. Possibili indicazioni per attività di monitoraggio e/o sorveglianza del BPA.

Il Gruppo raccomanda di svolgere indagini conoscitive nei corpi idrici, nei sedimenti e negli organismi bentonici, con particolare riguardo a quelli eduli come i molluschi. Si è anche rimarcata la necessità di elaborare strategie di indagine sui livelli reali di esposizione, anche risalendo alle industrie produttrici riguardo alla presenza di residui di BPA nei reflui, che sono stati individuati come principali fonti di inquinamento per le acque e i terreni circostanti.

E inoltre emersa la carenza di specifiche normative, metodologie e programmi di controllo, per valutare l'esposizione al BPA.

Ad esempio per una sostanza con caratteristiche di agonista estrogeno, largamente diffusa e non soggetta a specifici programmi di controllo, appare opportuno avviare programmi pilota che misurino l'impatto del BPA e di suoi derivati ambientali sugli ecosistemi: la misurazione della vitellogenina in teleostei è un potenziale biomarcatore di effetto (Letcher et al., 2005).

4.3.1.2. Possibili indicazioni per la valutazione del rischio del BPA

Il Gruppo di lavoro raccomanda maggiore attenzione ed ulteriori ricerche sulle possibili interazioni recettoriali del BPA, anche alle dosi molto basse osservate in taluni studi sperimentali. Qualora confermati, tali effetti potrebbero avere importanti conseguenze per la valutazione del rischio non

solo di questa sostanza ma anche di altri Interferenti Endocrini che interagiscono con recettori nucleari.

Nei diversi scenari di esposizione, il Gruppo suggerisce di approfondire il rischio potenziale nelle donne in gravidanza e nei bambini. Ad ulteriore conferma del potenziale rilievo di un'esposizione al BPA nelle prime fasi della vita, studi sperimentali indicano che il BPA può essere un antagonista del recettore nucleare per l'ormone tiroideo (Zoeller et al., 2005); pertanto non può essere escluso che esposizioni durante la gravidanza e la vita neonatale abbiano effetti permanenti a carico dello sviluppo neurocomportamentale (Adriani et al., 2003).

4.3.2. Anche per gli **ftalati** il gruppo di lavoro ha evidenziato quanto siano numerosi ad oggi gli elementi ancora insufficientemente noti per la valutazione del rischio, nonostante si tratti di prodotti presenti sul mercato sin dagli anni 30.

4.3.2.1. Situazioni di maggiore rischio e marcatori

Molto poco, ad oggi, si conosce sui reali livelli di esposizione umana, anche perchè, trattandosi di inquinanti ambientali ubiquitari – sono presenti in molti prodotti ad uso personale (cosmetici, lozioni ecc.) e soprattutto in numerosissimi articoli in polivinilcloruro (PVC), tra cui dispositivi medicali, pavimenti, giocattoli, massaggiagengive, succhiotti, pellicole per alimenti, guanti, materiali per edifici, vestiario, prodotti per l'auto ecc. - sarebbe molto utile valutare i rischi legati all'effetto sinergico e cumulativo dovuto alla esposizione multipla.

Sulla base delle informazioni disponibili, gli alimenti rappresentano la fonte principale di esposizione agli ftalati della popolazione generale, ed in particolare al dietilesilftalato (DEHP) che è quello ad oggi maggiormente utilizzato. Per la loro lipofilia, gli ftalati sono presenti in tutti i prodotti alimentari ricchi di grassi come ad esempio latte fresco e derivati, carne, pollame e uova e sono, pertanto, parte integrante della nostra dieta quotidiana. Recenti ricerche hanno dimostrato che l'esposizione agli ftalati inizia già durante la vita intrauterina e che sono presenti perfino nel latte materno. La presenza di ftalati è stata ben documentata anche negli alimenti per l'infanzia.

Nel 2005, il Panel AFC (*Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food*) dell'EFSA ha valutato la sicurezza d'uso di cinque ftalati usati nella fabbricazione di materiali a contatto con gli alimenti.

Le opinioni sono disponibile sul sito dell'EFSA:

DINP (di-Isononylphthalate) http://www.efsa.eu.int/science/afc/afc_opinions/1144_en.html

DIDP (di-Isodecylphthalate) http://www.efsa.eu.int/science/afc/afc_opinions/1143_en.html

DEHP (Bis(2-ethylhexyl) phthalate) http://www.efsa.eu.int/science/afc/afc_opinions/1142_en.html

DBP (di-Butylphthalate) http://www.efsa.eu.int/science/afc/afc_opinions/1141_en.html

BBP (Butylbenzylphthalate) http://www.efsa.eu.int/science/afc/afc_opinions/1140_en.html

Nelle suddette opinioni, sono state prese in considerazione le varie fonti di esposizione e in particolare le stime effettuate da Müller et al (2003) con il software di modellizzazione EUSES (*European Union System for the Evaluation of Substances*) che permette di stimare l'esposizione a partire dai dati di concentrazione rilevati nei vari compartimenti ambientali. Sono state considerate anche le valutazioni effettuate nel 2004 dal CSTE (Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment) e disponibili su http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sct/.

Nelle opinioni rilasciate dall'EFSA per ognuno di questi ftalati è sottolineato che i dati disponibili relativi alla concentrazione negli alimenti sono limitati (relativi solo al Regno Unito ed alla Danimarca) e che andrebbero aggiornati, poiché l'esposizione potrebbe essere aumentata negli ultimi anni. In particolare, per il DEHP e il DBP, anche se la stima dell'esposizione dagli alimenti rimane al di sotto del TDI (*Tolerable Daily Intake*) stabilito, si raccomanda l'effettuazione di stime di esposizione più approfondite da tutte le fonti per poter definire quale contributo alla TDI possa essere assegnato ai materiali da contatto con alimenti.

Un documento annesso al verbale della plenaria del 3/10/2005 del Panel AFC spiega perché, allo stato attuale delle conoscenze, sia impossibile stabilire un TDI di gruppo per gli ftalati

(http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/afc/afc_meetings/991.Par.0002.File.dat/afc_m_inutes_plen12_en_web1.pdf).

Oltre all'ingestione, altre vie di esposizione, come l'inalatoria, la transcutanea e l'endovenosa, rivestono un ruolo rilevante. In particolare, per quanto attiene le prime due vie, le fonti di esposizione possono essere molteplici in quanto inquinanti ambientali ubiquitari (ad esempio la polvere di casa) (Rudel *et al.*, 2003).

Per quanto attiene la via endovenosa, la principale fonte di esposizione si realizza attraverso il contatto con i dispositivi sanitari. Particolare preoccupazione crea l'esposizione durante la gravidanza, soprattutto per gli effetti nocivi che queste sostanze potrebbero avere sul sistema riproduttivo maschile. A questo scopo, è stato istituito dallo *Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks* (SCENIHR), uno dei 3 Comitati Scientifici della Unione Europea, il "*DEHP working group*" per la valutazione del rischio legato alla esposizione al DEHP nell'uomo.

Secondo il rapporto del 2001 della U.S. *Food and Drug Administration* (FDA), intitolato "Safety Assessment of DEHP Released from PVC Medical Devices", i bambini rappresentano una categoria a più alto rischio di effetti avversi rispetto al resto della popolazione, anche perché:

- sono esposti a dosi maggiori di ftalato (in mg/kg)
- vi è una differente farmacocinetica che può determinare un maggiore assorbimento intestinale del DEHP, una maggiore conversione dello stesso in MEHP ed una minore escrezione del MEHP
- vi è una maggiore permeabilità intestinale con conseguente più intensa capacità di assorbimento intestinale

In particolare, sono considerati a rischio ancora più alto i neonati ricoverati in terapia intensiva neonatale, in quanto esposti contemporaneamente a più dispositivi medicali.

Appare pertanto importante incrementare le conoscenze sull'esposizione reale dei gruppi a rischio, attraverso l'utilizzo di biomarcatori di esposizione. Recentemente alcuni studi hanno identificato i metaboliti secondari degli ftalati come marcatori attendibili del livello di esposizione umana agli ftalati, più utili rispetto ai metaboliti primari perché non soggetti, come questi ultimi, al rischio di contaminazione ambientale (Latini, 2005).

4.3.2.1. Prospettive di ricerca. Anche per gli ftalati, il Gruppo di lavoro raccomanda maggiore attenzione ed ulteriori ricerche, soprattutto in alcuni settori:

- 1) esposizione durante la vita intrauterina e rischio di effetti avversi sullo sviluppo del feto *in toto* ed in particolare sullo sviluppo del sistema riproduttivo maschile e femminile, compresi i potenziali effetti a lungo termine (alterazioni della pubertà, predisposizione a endometriosi e a tumori), ulteriore attenzione merita anche la possibile interferenza con la tiroide, in particolare con il metabolismo dello iodio (Wenzel *et al.*, 2005);
- 2) dal momento che gli ftalati non sono eguali fra loro, ma possano avere potenze differenti (ad esempio, il dietilftalato è enormemente meno potente del DEHP) ed anche meccanismi/bersagli differenti, valutare se almeno per alcuni di loro non vi sia un effetto cumulativo e sinergico sia fra loro, che con sostanze con meccanismo simile;
- 3) identificazione di possibili biomarcatori precoci enzimatici od ormonali
- 4) possibili alternative sia agli ftalati nei materiali in PVC che al PVC in quanto tale;

A questo proposito, nel 2000 la Comunità Europea ha approvato e finanziato un progetto di ricerca, intitolato: "*Biocompatible flexible polymer alloys based on polyesters from removable resources for mass-consumer applications involving contact with human fluids and tissues*" (Bioflex-Renew), (Contract N. QLK5-CT-1999-01355), durato 4 anni, che aveva appunto lo scopo di trovare soluzioni alternative al DEHP per i materiali in plastica. I risultati ottenuti sono stati molto incoraggianti, il nuovo plasticizzante è assolutamente biocompatibile e del tutto privo di tossicità. Pertanto, il Gruppo ritiene opportuno che vadano incoraggiate iniziative di ricerca che portino alla effettiva attuazione del principio di sostituzione di prodotti potenzialmente a rischio, promosso dalla normativa REACH.

4.4. Fitoestrogeni: Genisteina e Lignani.

Per la categoria dei fitoestrogeni il Gruppo ha considerato la *genisteina* (integratori) ed i *lignani* (dieta della popolazione generale).

In età adulta una buona assunzione di fitoestrogeni può rappresentare un fattore protettivo per la salute, mentre livelli elevati di assunzione in determinate fasi critiche del ciclo vitale (gravidanza, prima infanzia) possono rappresentare situazioni di rischio. Una valutazione accurata delle evidenze su possibili benefici e rischi, con particolare attenzione per i rischi nella prima infanzia, è stata elaborata nel 2003 dalla *UK Food Standard Agency* (<http://www.food.gov.uk/news/newsarchive/2003/may/phytoreport0403news>).

4.4.1. Il Gruppo ha evidenziato alcune situazioni di esposizione che richiedono un'attenzione specifica ed un incremento delle conoscenze. In particolare:

- L'assunzione da parte della *popolazione generale* attraverso la dieta. A tale proposito, è stato osservato come sia importante prendere in considerazione sia le basi di dati esistenti sulla assunzione di *genisteina* (es. i dati ricavati dai progetti europei VENUS, <http://www.venus-ca.org/>) sia di altri fitoestrogeni verosimilmente più abbondanti nella dieta italiana rispetto alla *genisteina*, quali i *lignani*. La caratterizzazione quantitativa e qualitativa delle diverse componenti fitoestrogeniche dei diversi alimenti richiede generalmente l'applicazione di metodologie analitiche laboriose quali HPLC, GC-MS e LC-MS, tuttavia dati recenti dimostrano la possibile applicabilità di metodi rapidi e semplici, quali quelli spettrofotometrici, per la determinazione delle caratteristiche funzionali di alimenti, come ad es. l'attività antiradicalica (Heimler et al., 2005; Mulinacci et al., 2006). La diversa composizione quali- e quantitativa in termini di composti polifenolici minori di alcuni alimenti tipici della dieta Mediterranea è ad esempio stata associata ad una diversa capacità antiossidante e ad una diversa azione protettiva da danni ossidativi del DNA (Franconi et al., 2006; Salvini et al., 2006).
- L'assunzione alimentare di *genisteina* ed altri fitoestrogeni da parte di *gruppi specifici della popolazione*, quali vegetariani/vegani e neonati alimentati con formule a base di soia. Sono, infatti, molto rari gli studi di valutazione dell'esposizione a fitoestrogeni attraverso la dieta e quelli esistenti hanno come popolazione target le donne in peri-/post-menopausa; tuttavia, i risultati di almeno 6 trial clinici che comparavano neonati e bambini nella prima infanzia alimentati con derivati della soia o con latte vaccino non riscontravano differenze nella crescita e sviluppo nei primi anni di vita (Mendez et al. 2002). Uno studio retrospettivo condotto su 811 soggetti, uomini e donne di età compresa fra 20 e 34 anni non ha evidenziato differenze in altezza, peso, raggiungimento pubertà, gravidanze fra il gruppo allevato con derivati della soia e quello alimentato con latte vaccino. Le donne allevate con derivati di soia, però, mostravano un più alto e significativo consumo di farmaci per asma e malattie allergiche (Strom et al. 2001).
- L'esposizione a *genisteina* attraverso *integratori alimentari e farmaci da banco*, con particolare riguardo a specifiche fasce di popolazione quali le donne in fase preconcezionale od in età (post)menopausale. Tali integratori possono essere somministrati senza prescrizione medica e la loro messa in commercio non è assoggettata alle evidenze di studi clinici randomizzati, pertanto difficilmente si possono inferire dati su evidenti relazioni dose-risposta. Peraltro, dalla letteratura internazionale emerge chiaramente il fenomeno della curva di risposta non-monotonica di molti composti che agiscono attraverso i recettori nucleari, suscitando il problema degli effetti a basse dosi che possono addirittura essere opposti a quelli delle dosi elevate. Per molti fitoestrogeni quali ad es. *genisteina*, *daidzeina* e *quercitina*, sono stati descritti effetti bifasici sulla proliferazione di diverse linee cellulari umane, proliferativi a basse dosi ed antiproliferativi a dosi elevate (Wang et al., 2006; Van der Woude et al., 2005; Guo et al 2004).

4.4.2.1. Il Gruppo di Lavoro ha rivolto l'attenzione agli effetti *tireostatici* che l'esposizione a fitoestrogeni può determinare, soprattutto in condizioni di insufficiente apporto nutrizionale di iodio, e che recentemente sono stati documentati in modelli sperimentali in vivo (Doerge et al., 2002). È stato dimostrato, infatti, che tali sostanze sono in grado di interferire con i processi di sintesi degli ormoni tiroidei, in particolare con la perossidasi tiroidea. La supplementazione di iodio, o comunque il mantenimento di un livello elevato di assunzione, è in grado di prevenire il rischio di ipotiroidismo. Più recentemente, in uno studio effettuato nella Repubblica Ceca, è stata anche documentata un'associazione significativa tra esposizione alimentare a fitoestrogeni e presenza di autoanticorpi a specificità tiroidea nei bambini (Milerova et al., 2006).

Le conoscenze, ancorché incomplete, sulle interazioni fra sostanze bioattive della soia e funzione tiroidea hanno motivato l'aggiunta regolare di iodio alle formulazioni contenenti derivati di soia sin dagli anni 60. Nessun effetto sui livelli degli ormoni tiroidei è stato riscontrato in donne in premenopausa o postmenopausa, con elevate assunzioni di derivati di soia, ma con sufficienti concentrazioni di iodio (Bruce et al 2003; Persky et al., 2002).

Si sottolinea pertanto l'importanza di studi di popolazione mirati ad accertare l'impatto sulla salute umana dell'effetto tireostatico di tali sostanze, anche in considerazione del fatto che la popolazione italiana è ancora caratterizzata da insufficiente apporto iodico ambientale. essendo stato attivato solo da un anno un programma di iodoprofilassi su scala nazionale (Legge n. 55 del 21 marzo 2005).

4.4.2.2. Vanno anche ricordate alcune evidenze di *interazioni* con l'assunzione di isoflavoni derivati della soia e dai farmaci. Studi nell'animale hanno dimostrato che la genisteina può interferire con il tamoxifen. Elevate assunzioni di proteine della soia possono interferire con i farmaci anticoagulanti. I bambini alimentati con derivati di soia e sottoposti a terapia per ipotiroidismo hanno dovuto incrementare le concentrazioni di levotiroxina. Interferenze fra levotiroxina e derivati della soia assunti contemporaneamente sono state osservate anche negli adulti (Jabbar et al., 1997; Bell & Ovalle, 2001).

4.4.3. In conclusione il Gruppo sottolinea alcuni elementi che è necessario approfondire per una valutazione di sicurezza dell'assunzione di fitoestrogeni nella popolazione generale ed in particolari fasce di popolazione:

- a) l'assunzione di fitoestrogeni attraverso gli alimenti di origine animale. Questo aspetto, sinora scarsamente considerato, merita attenzione per la progressiva sostituzione delle fonti di proteine animali con proteine vegetali nei mangimi
- b) la limitatezza dei dati sull'assunzione di lignani attraverso la dieta e soprattutto di indagini che utilizzino adeguati biomarcatori di esposizione (enterodiolo ed enterolattone nelle urine) (Arts & Hollman, 2005).

4.4.3.1. Il Gruppo ha identificato un pannello di *biomarcatori* di esposizione e di effetto per la genisteina nella donna in età menopausale: livelli sierici di genisteina (cromatografia/HPLC), livelli plasmatici di HDL/LDL e LH/FSH, citologia vaginale, markers biochimici di metabolismo osseo. Viene sottolineata la necessità di disporre anche di biomarcatori di suscettibilità, incrementando le conoscenze sul ruolo di polimorfismi genetici compresi SNP.

4.4.3.2. Il Gruppo ha sottolineato l'importanza di raccogliere dati sull'assunzione di fitoestrogeni nella popolazione coinvolgendo medici di base. Questo obiettivo potrebbe essere raggiunto con la ricerca di indicatori di mercato (es. produzione/vendita di prodotti autorizzati) e la validazione di un questionario sulle abitudini alimentari e l'utilizzo di integratori, utilizzando anche elementi del questionario per l'indagine anamnestica sull'esposizione agli Interferenti Endocrini elaborato dall'ISS (v. sotto, **5.1**).

5. RACCOMANDAZIONI PER LO SVILUPPO DI UN MODELLO INTEGRATO DI VALUTAZIONE DEL RISCHIO

Il Gruppo ha considerato alcuni punti essenziali per lo sviluppo di un modello integrato di valutazione del rischio.

Il Gruppo sottolinea l'importanza dello sviluppo di *modelli per l'analisi dell'esposizione umana* considerando anche possibili fattori di suscettibilità legati all'età, allo stato fisiologico, alla dieta e agli stili di vita. A tale proposito, un utile punto di partenza può essere rappresentato dalla scheda anamnestica elaborata dall'ISS come prodotto del progetto nazionale pilota "Esposizione umana a xenobiotici con potenziale attività endocrina" (<http://www.iss.it/inte/prog/cont.php?id=45&lang=1&tipo=3>).

Inoltre, il Gruppo sottolinea l'importanza di identificare fonti di dati che permettano di monitorare *l'andamento di contaminazione* dell'ambiente e/o degli alimenti nel tempo.

Il Gruppo ha considerato specificamente elementi riguardanti:

- la valutazione tossicologica
- la sorveglianza degli ecosistemi
- la sicurezza alimentare
- le esposizioni nell'ambiente di vita
- la sorveglianza della salute umana
- la valutazione del rischio di sostanze chimiche
- problemi e prospettive nell'utilizzo di approcci biomolecolari

5.1. Nel campo della **valutazione tossicologica** delle sostanze chimiche il Gruppo, anche sulla base dell'esame delle informazioni raccolte sulle sostanze modello, raccomanda che i processi per la valutazione del rischio *per tutti i tipi di composti* si basino anche su di un accurato esame degli effetti endocrini.

A tale proposito, meritano attenzione le possibili ricadute, ancora parziali, di iniziative europee di ricerca che focalizzano l'attenzione su meccanismi ed effetti degli Interferenti Endocrini che hanno ricevuto sinora un'attenzione insufficiente. Esempi sono:

BONETOX (www.imm.ki.se/bonetox), sui possibili effetti di Interferenti Endocrini sullo sviluppo ed il metabolismo del sistema scheletrico

ENDOMET (<http://endomet.bham.ac.uk>), sullo sviluppo di sistemi *in vitro* per la valutazione degli effetti di ftalati e bisfenolo A sul metabolismo degli steroidi

PIONEER (<http://www.pioneer-net.org/>), sui fattori di rischio per la pubertà precoce.

5.1.1. Un aspetto molto importante è la possibilità futura di utilizzare test *in vitro* (Bremer et al., 2005), ora in corso di pre-validazione, che identifichino meccanismi di azione di interesse per la protezione sia della salute umana sia degli ecosistemi e che potrebbero pertanto rappresentare elementi di una batteria di screening valida per gli ambiti sia tossicologico, sia ecotossicologico. Alcuni esempi sono i diversi test cellulari di legame e attivazione per il recettore androgeno ed il recettore estrogeno α , ed il saggio di metamorfosi di *Xenopus* per le interferenze con l'asse tiroideo, ecc.). Esiste naturalmente anche la necessità di validare ed utilizzare test specifici per determinati ambiti o phyla (Breitholtz et al., 2006), quali il saggio di induzione della sintesi di vitellogenina in epatociti di pesce.

Lo sviluppo di strategie di saggi *in vitro/in vivo* non può prescindere dal valutarne l'applicabilità e l'efficienza in ambito industriale; pertanto, il Gruppo di Lavoro riconosce l'opportunità di promuovere piattaforme comuni industria-enti di ricerca sui test per gli Interferenti Endocrini, finalizzate allo sviluppo, ottimizzazione e disseminazione di protocolli.

5.2. Le conoscenze sviluppate in ambito tossicologico debbono tradursi in azioni finalizzate alla regolamentazione ed alla valutazione del rischio.

A titolo di esempio, il Gruppo ha considerato con molta attenzione le evidenze disponibili su un gruppo di sostanze non identificabili come xenobiotici, ma che pure hanno ricevuto molta attenzione, ovvero i *fitoestrogeni*.

Il Gruppo prende atto di un aumento dell'attenzione, in sede nazionale ed europea, verso la regolamentazione della presenza di fitoestrogeni negli integratori alimentari e nelle formule per l'allattamento. In relazione alla presenza di fitoestrogeni negli *integratori alimentari*, a tutt'oggi la normativa di settore, rappresentata dalla Direttiva Comunitaria 46/2002/CE e dal Decreto Legislativo di attuazione n. 169/2004, non prevede disposizioni tecniche specifiche. Tuttavia, a livello nazionale, ai sensi dell'art. 5 del predetto Decreto Legislativo si precisa che, in attesa dell'adozione di specifiche disposizioni comunitarie, i livelli ammessi di vitamine, minerali ed altre sostanze sono definiti nelle linee guida sugli integratori alimentari pubblicate dal Ministero della Salute” (v. www.ministerosalute.it). Tali linee guida limitano il possibile impiego di fitoestrogeni della soia negli integratori, prevedendo un apporto massimo giornaliero di isoflavoni non superiore a 80 mg. Riguardo alla presenza di fitoestrogeni di provenienza dalla soia nelle formule per lattanti, secondo la normativa specifica comunitaria e nazionale sono ammessi come ingredienti di derivazione da tale alimento le sole proteine “isolate”. Inoltre, la normativa è sul punto di essere aggiornata, sulla base del parere espresso dal Comitato scientifico dell'alimentazione umana il 4 aprile 2003, con la conferma del tenore proteico previsto per le formule con proteine isolate di soia, che resta compreso tra 2,25 e 3 g/100 kcal. In ogni caso, concordando con le conclusioni del predetto Comitato, la posizione italiana è che tali formule, dato il contenuto di isoflavoni, dovrebbero rappresentare solo un'alternativa alle formule standard con proteine vaccine in situazioni particolari (come nel caso di lattanti intolleranti a queste ultime proteine, al lattosio o galattosemici).

Il Gruppo di Lavoro, pertanto, auspica che posizioni analoghe, *ispirate all'evidenza scientifica aggiornata ed al principio di precauzione*, siano adottate anche in altri contesti in cui è ipotizzabile una significativa esposizione del pubblico (o di gruppi vulnerabili) ad interferenti endocrini, e che sia data ampia e tempestiva informazione alle strutture del SSN, APAT, ecc., circa le decisioni prese in sede nazionale ed europea.

5.1.3. La conoscenza di meccanismi di azione comuni a diversi Interferenti Endocrini potrebbe portare ad uno sviluppo importante per la valutazione e la gestione del rischio, cioè allo sviluppo di un sistema concettualmente analogo allo schema dei Fattori di Tossicità Equivalente (TEF -*Toxicity Equivalent Factors*) per gruppi di sostanze per le quali si può andare incontro a vie comuni di esposizione. Il TEF sviluppato per le PCDD, i PCDF e i PCB diossino-simili, e internazionalmente accettato, va considerato un approccio pragmatico per valutare dati di esposizione complessa, cioè relativi a diverse sostanze coesistenti che agiscono con medesimo meccanismo d'azione. Tale approccio può essere perfezionato ed aggiornato man mano che nuove evidenze scientifiche emergono da studi sul meccanismo d'azione e sugli effetti tossici. La WHO-*International Programme on Chemical Safety*, infatti, ha recentemente aggiornato i valori dei TEF e ha indicato alcuni gruppi di inquinanti con proprietà diossino-simili come potenziali candidati per l'inclusione in tale schema (PBDD, PBDF, PXDD, PXDF, PBB) (Van der Berg et al., 2006).

Per altri gruppi di sostanze, come i PCB non diossino simili, esistono indicazioni per un approccio basato su fattori di potenza relativa per effetti quali l'induzione enzimatica, la persistenza negli organismi e/o la capacità di interferire con le comunicazioni intercellulari (Negri et al., 2003). Ulteriori progressi in tal senso potranno venire dall'incremento delle conoscenze sulle associazioni fra struttura chimica ed espressione genica (chemogenomica: vedi ad esempio Nidhi et al., 2006).

5.2. La sorveglianza degli ecosistemi, oltre che importante in sé, è elemento indispensabile per garantire anche la qualità della vita dei cittadini: la Strategia Europea per l'Ambiente e la Salute raccomanda infatti *l'integrazione fra i sistemi di sorveglianza ambientali*, ivi comprese le popolazioni animali, *ed i sistemi per la sorveglianza della salute umana*.

Il Gruppo evidenzia in particolare l'importanza degli ecosistemi acquatici, sia in quanto collettori di emissioni dai comparti agricoli, industriali ed urbani, sia in quanto risorsa critica non solo per l'equilibrio ambientale ma anche per lo sviluppo agroalimentare (irrigazione, acquacoltura, pesca) di un paese come l'Italia.

5.2.1. Il Gruppo ritiene indispensabile sviluppare ed adottare *indicatori epidemiologici di pressione ambientale sulle popolazioni*.

La **Tabella 3** documenta la presenza di dati scientifici consistenti che associano l'esposizione ad Interferenti Endocrini con effetti sulla salute, la riproduzione e lo sviluppo in popolazioni selvatiche di vertebrati ed invertebrati.

Alcuni indicatori di pressione ambientale, come la *vitellogenina* nei pesci teleostei e l'*imposex* nei molluschi bivalvi, sono oramai accettati, almeno per quanto riguarda la sorveglianza degli ecosistemi acquatici. A tale proposito, esistono validi studi italiani (Marin & Matozzo, 2004; Desantis et al., 2005; Chiavarini et al., 2003), sebbene sia assente un loro uso sistematico per la sorveglianza dell'esposizione ad Interferenti Endocrini degli ecosistemi italiani.

Per contro, va sottolineata la carenza di studi sul campo sugli effetti di Interferenti Endocrini su *animali domestici*, sia da compagnia sia da reddito.

Il Gruppo di Lavoro, pertanto, sottolinea la necessità di studi sulla correlazione esposizione-effetto anche nelle popolazioni animali domestiche, soprattutto alla luce del nuovo concetto di "zoonosi" propugnato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità e che comprende qualunque problema per la salute umana derivante dal contatto con gli animali e/o i loro prodotti (v. Centro di Collaborazione OMS-FAO nel sito del Dipartimento di Sanità Alimentare ed Animale dell'ISS, <http://www.iss.it/saan>).

5.2.2. Accanto all'utilizzo di indicatori epidemiologici, il Gruppo ritiene indispensabile lo sviluppo di *biomarcatori* per la sorveglianza degli ecosistemi.

A tale proposito, il Gruppo rileva come sia sorprendente il limitato utilizzo, dovuto anche ad una carente diffusione della conoscenza, nella sorveglianza ambientale di approcci oramai accettati a livello internazionale come:

- biomarcatori di effetto per gli ecosistemi idrici quali la *misurazione della vitellogenina*, anche saggiando sostanze e matrici su colture cellulari (Letcher et al., 2005)

- *biomarcatori di esposizione totale* per lo screening di ampie serie di campioni ambientali e biologici quali ER e AhR CALUX che consentono di valutare l'esposizione complessiva a fattori che interferiscono con il recettore estrogeno alfa e con il recettore arilico con l'utilizzo di colture cellulari. Tali biomarcatori, di cui si raccomanda di incrementare l'utilizzo in Italia, sono strumenti di crescente importanza per la sorveglianza ambientale ed epidemiologica, permettendo (a) di identificare i campioni e/o le loro frazioni, in cui un'attività biologica (ad es., il "*Total estrogenic burden*", carico estrogenico totale; vedi ad es. Fernandez et al. 2004) è presente al di sopra del rumore di fondo e quindi anche (b) di selezionare i campioni su cui mirare indagini più costose ed approfondite.

La capacità dei test citati sopra di identificare i parametri in esame è fuori discussione. Tuttavia, vanno verificati ulteriori *parametri di validazione* per poterne promuovere l'utilizzo da parte delle strutture che operano sul territorio, quali la robustezza, la probabilità di errore, la ripetibilità e riproducibilità.

5.3. Dal punto di vista della **sicurezza alimentare**, il Gruppo di Lavoro ha considerato in primo luogo il Piano Nazionale Residui (PNR), soprattutto per quanto riguarda i residui per gli alimenti di origine animale.

5.3.1. Al momento il PNR per i residui negli alimenti di origine animale ed il monitoraggio dei mangimi e negli alimenti ad uso zootecnico considerano essenzialmente i POPs, metalli pesanti ed anabolizzanti illeciti ad azione ormonale.

Il PNR si struttura tenendo conto delle prescrizioni del D.L.vo 4/8/1999, n. 336, attuazione delle Direttive del Consiglio 96/22/CE e 96/23/CE. Esso definisce le specie, le categorie, i punti di

campionamento, le sostanze da cercare, le modalità di ricerca, secondo il dettato della normativa in vigore e le indicazioni della Commissione Europea, ed è elaborato annualmente dal Ministero della Salute, che ha funzioni di coordinamento, con la collaborazione delle Regioni, dell'Istituto Superiore di Sanità, del Laboratorio Nazionale di Riferimento per i residui e degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali. L'elaborazione del PNR inizia il 1 gennaio e termina il 31 dicembre di ogni anno e tiene conto, tra l'altro, dei risultati dell'anno precedente al fine di operare opportune modifiche ed eventuali azioni mirate. Il PNR comporta la ricerca dei residui nei seguenti settori: bovino, suino, ovi-caprino, equino, avicolo, acquacoltura, conigli, selvaggina d'allevamento, latte, uova, miele, selvaggina cacciata.

Le sostanze oggetto del Piano sono raggruppate secondo la seguente classificazione (D.L.vo 336/99, Allegato I):

Categoria A – Sostanze ad effetto anabolizzante e sostanze non autorizzate

- 1) Stilbeni, loro derivati e loro sali ed esteri
- 2) Agenti antitiroidei
- 3) Steroidi
- 4) Lattoni dell'acido resorcilico
- 5) Beta-agonisti
- 6) Sostanze incluse nell'All. IV del Regolamento 2377/90/CEE del Consiglio

Categoria B – Medicinali veterinari e agenti contaminanti

- 1) Sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici e chinolonici
- 2) Altri prodotti medicinali veterinari
 - a) antielmintici
 - b) coccidiostatici, compresi i nitroimidazoli
 - c) carbammati e piretroidi
 - d) tranquillanti
 - e) antinfiammatori non steroidei
 - f) altre sostanze esercitanti un'attività farmacologica
- 3) Altre sostanze ed agenti contaminanti per l'ambiente
 - a) composti organoclorurati, compresi i PCB
 - b) composti organofosforati
 - c) elementi chimici
 - d) coloranti
 - e) altri

Inoltre, sono riportati i metodi di screening e di conferma, il livello minimo di prestazione analitica/limite di rilevabilità, e il limite d'azione per ogni singola sostanza da ricercare. Il numero di campioni da effettuare nel corso dell'anno, sia in allevamento che al macello, è programmato sulla base dei dati di produzione.

Il PNR nasce nel 1988 per arrivare con notevoli modifiche fino ad oggi. Allo stato attuale, per quanto riguarda la complessa ed articolata problematica dei residui negli animali vivi e nei prodotti di origine animale, il PNR rappresenta lo strumento scelto dal legislatore per assicurare l'attuazione dei controlli lungo tutta la filiera in modo quanto più possibile omogeneo e coordinato fra le diverse strutture, quali ASL, Enti Locali e Ministero della Salute.

Il PNR è impostato secondo il criterio della sorveglianza programmata nello spazio e nel tempo, con lo scopo di realizzare un sistema capace di fornire informazioni attendibili circa il rischio al quale i consumatori sono esposti per le varie categorie di residui. Il sistema, pur essendo realizzato su scala nazionale, ottempera a quelle che sono le disposizioni emanate in ambito europeo tramite provvedimenti che recepiscono ed attuano una sorveglianza omogenea e programmata per tutti i Paesi membri dell'Unione. Inoltre, la natura dinamica del PNR che, con un meccanismo di "feedback" continuo si evolve tenendo conto sia dei problemi emersi nei piani precedenti sia delle varie emergenze verificatesi nel corso degli anni, ne fanno uno strumento al passo con i tempi.

5.3.1.1. Il PNR è quindi una struttura finalizzata ad evolversi con il rinnovarsi delle conoscenze. Per valutare l'inclusione (o meno) di altri Interferenti Endocrini occorrono validi dati scientifici sul potenziale di bioaccumulo. Tali informazioni esistono per alcuni gruppi di composti: gli organostannici, valutati dall'EFSA nel 2004 per il rischio di contaminazione degli alimenti ittici (http://www.efsa.europa.eu/en/science/contam/contam_opinions/658.html), i polibromodifenileteri che mostrano una capacità di bioaccumulo non dissimile dai PCB (Law et al., 2006) e perfluorottani (Falandysz et al., 2006). Tuttavia, per tale inclusione è indispensabile che siano stabiliti ufficialmente dei *limiti massimi accettabili* definiti su base tossicologica in mangimi ed alimenti di origine animale, nonché lo sviluppo e la disponibilità di metodi analitici validati nelle matrici di interesse e di sensibilità appropriata.

Per altri Interferenti Endocrini (es. *bisfenolo A*, *alchilfenoli*), per i quali vi sono minori evidenze che indichino un potenziale di bioaccumulo, sono indispensabili ulteriori dati sul rischio di esposizione attraverso gli alimenti di origine animale. Vi sono, tuttavia, dati italiani che mostrano una significativa contaminazione da alchilfenoli nelle specie edibili (molluschi, crostacei, e pesi) del Mare Adriatico (Ferrara et al., 2001; Ferrara et al., 2005); riguardo agli ftalati, è interessante uno studio che mostra un significativo passaggio dal pascolo, trattato con effluenti, ai tessuti edibili di ovini (Rhind et al., 2005).

5.3.2. Le stesse considerazioni di massima espresse per il PNR negli alimenti di origine animale valgono per il controllo dei residui negli alimenti vegetali. I dati disponibili riguardano i prodotti ad uso fitosanitario e sono periodicamente pubblicati sul sito del Ministero della Salute (<http://www.ministerosalute.it/dettaglio/pdfocus.jsp?area=alimenti&colore=3&id=393>).

Il Gruppo di Lavoro esprime apprezzamento per i risultati del controllo ufficiale sui fitosanitari, che ha portato ad una significativa riduzione nell'arco di un decennio dei campioni "non conformi", pur mantenendosi relativamente elevata (24,4% nel 2005) la percentuale di campioni di frutta che presentano residui di più principi attivi.

Nel contempo il Gruppo ricorda la necessità per il controllo ufficiale di evolversi con l'introduzione di nuovi principi attivi e con il cambiamento degli usi agricoli e dei consumi alimentari. E' inoltre indispensabile mantenere strategie coordinate ed armonizzate nei metodi e criteri di campionamento, analisi, raccolta ed interpretazione dei dati sui fitosanitari fra le Regioni italiane.

5.3.3. Considerata l'importanza della esposizione attraverso gli alimenti per la popolazione generale, va prestata particolare attenzione ad alcuni *alimenti potenzialmente critici*, in particolare di origine animale (latte e latticini, prodotti ittici), per la loro importanza come possibili vie di esposizione. Proprio il rilievo di tali alimenti dal punto di vista nutrizionale, sia per la popolazione generale sia per gruppi specifici (donne in età fertile, anziani, bambini, soggetti predisposti a disturbi cardiovascolari) impone una particolare attenzione verso la protezione delle filiere produttive. Questo aspetto è considerato con molta attenzione dall'EFSA, che ha pubblicato nel 2005 un documento sulla valutazione comparata dei prodotti ittici -pescati ed allevati- riguardo ai rischi di contaminazione da PCB, diossine e metilmercurio e ai benefici nutrizionali derivanti dall'assunzione di Omega-3 ed oligoelementi (http://www.efsa.europa.eu/en/science/contam/contam_opinions/1007.html). A tal riguardo, l'EFSA ha recentemente iniziato un processo di elaborazione di criteri per la valutazione rischi-benefici (http://www.efsa.europa.eu/science/colloquium_series/risk_benefit_analys_foods/1486_en.html).

Uno sviluppo importante per la valutazione e gestione del rischio dei prodotti alimentari potrebbe essere la definizione di un *Margin of Exposure* per gruppi di Interferenti Endocrini accomunati dal bersaglio e/o dal meccanismo di azione; un primo esempio potrebbe essere l'esposizione cumulativa a ftalati, con il sostegno di un più consistente corpus di informazioni scientifiche (v. sopra **4.3.2.1.**). Tuttavia, dovendo tale sviluppo tenere conto anche delle sostanze bioattive presenti negli specifici alimenti, sono indispensabili ulteriori studi sperimentali per caratterizzare gli effetti di esposizioni multiple.

5.4. Per quanto, importante, il problema della sicurezza alimentare non esaurisce certo tutti gli aspetti della esposizione umana.

Oltre, ovviamente, alle esposizioni occupazionali, occorre considerare le **esposizioni nell'ambiente di vita**. Ad esempio, per composti come i fitosanitari occorre considerare l'esposizione ambientale per le comunità che vivono in zone di agricoltura intensiva e la possibile esposizione derivanti da usi non agricoli, quali disinfestazioni, giardinaggio, ecc. (v., ad es., Aprea et al., 2000).

Per composti quali gli ftalati va considerata anche l'esposizione attraverso prodotti di uso domestico come i cosmetici e dispositivi sanitari. I polibromodifenilletteri sono rilasciati da apparecchiature (ad es., computer, elettrodomestici) in cui sono presenti come ignifughi. L'importanza della polvere domestica come veicolo di una contaminazione mista da ftalati, alchilfenoli e polibromodifenileteri, è suggerita da Rudel et al. (2003). Rassegne dei dati sulle esposizioni ad Interferenti Endocrini in ambiente indoor sono fornite da Mantovani e Maranghi (2004) e Minoia e Turci (2005).

Data la complessità delle possibili fonti di esposizione, il Gruppo di lavoro sottolinea l'importanza del *monitoraggio biologico* per una stima realistica del rischio per la salute da Interferenti Endocrini in ambiente indoor.

5.5. Per quanto riguarda la **sorveglianza della salute umana**, il Gruppo di Lavoro ha considerato con attenzione gli studi sugli effetti in rapporto all'esposizione riassunti nella **Tabella 2**.

La Tabella evidenzia come gli studi che considerano misure di esposizione interna riguardino essenzialmente contaminanti persistenti e metalli pesanti. I dati sottolineano l'importanza di taluni effetti sulla salute associati all'esposizione ad Interferenti Endocrini (infertilità maschile, abortività, basso peso alla nascita, effetti sulla tiroide, effetti immunitari, aumento del rischio di taluni tipi di cancro); per contro, le evidenze sono molto limitate o assenti per altri tipi di effetti sulla salute potenzialmente importanti, ad esempio ipospadia/criptorchidismo, probabilmente a causa della scarsità di studi che considerano biomarcatori di esposizione.

5.5.1. Pertanto, il Gruppo di Lavoro sottolinea l'importanza nell'utilizzo di *fonti di dati epidemiologici*, in particolare di Registri di patologia a livello sia regionale sia nazionale, che consentano di valutare la distribuzione spazio-temporale delle patologie da mettere in relazione con eventuali esposizioni (ambientali/alimentari) a Interferenti Endocrini. Esempi sono:

- il *Registro Nazionale degli Ipotiroidei Congeniti* (<http://www.iss.it/rnic/index.php>, ultima consultazione 06/11/2006), coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità, che garantisce la sorveglianza epidemiologica dell'ipotiroidismo congenito nel nostro Paese. Il Registro raccoglie, infatti, dati epidemiologici a livello nazionale su tutti i nati affetti da questa patologia e diagnosticati mediante screening neonatale alla nascita. La qualità e la quantità dei dati raccolti dal Registro conferiscono a questo strumento epidemiologico grandi potenzialità per lo studio di fattori di rischio ambientale nell'eziologia di una patologia tipicamente multifattoriale quale l'ipotiroidismo congenito;

- i *registri delle malformazioni congenite* con particolare riguardo a *ipospadia/criptorchidismo*: i registri delle malformazioni congenite usano criteri diagnostici armonizzati a livello europeo, ma assicurano una copertura soddisfacente solo in una parte del territorio italiano; pertanto, al momento possono essere utilizzati per indagini in aree campione come le indagini effettuate in Sicilia su ipospadia e criptorchidismo in aree esposte a contaminazione industriale e/o da pesticidi (v. Bianca et al., 2003; Carbone et al., 2006a e 2006b);

- i *registri dei tumori*: essi tuttavia non assicurano una completa copertura del territorio nazionale e non distinguono fra le diverse neoplasie di uno stesso distretto, ad esempio, riguardo a patologie di potenziale interesse per gli Interferenti Endocrini, fra i diversi tipi di neoplasie di *testicolo, prostata, mammella e tiroide*. Pertanto, al momento, possono essere utilizzati come base di partenza per indagini limitate ad alcune aree campione.

5.5.1.1. Per altre patologie di potenziale interesse per l'esposizione ad Interferenti Endocrini le fonti di dati epidemiologici sono del tutto insufficienti. Un esempio è l'*endometriosi* per la quale alcuni studi italiani (Cobellis et al., 2005; Porpora et al., 2006) correlano l'aumentato rischio di

endometriosi con elevati livelli plasmatici di dietil(2-esil)ftalati o di PCB. Inoltre, uno studio caso-controllo in Lombardia sui consumi alimentari di oltre 500 donne con endometriosi pelvica ha evidenziato un incremento del rischio associato al consumo di carne rossa e prosciutto ed un decremento associato al maggior consumo di frutta e vegetali freschi: gli autori, pertanto, non hanno potuto escludere un ruolo per contaminanti in grado di bioaccumulare (Parazzini et al., 2004). Per quanto si tratti di una patologia di elevato impatto sociosanitario, secondo quanto confermato al Gruppo di Lavoro da uno degli esperti del Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi, Prof. Fabio Parazzini (Università Statale di Milano), mancano in Italia soddisfacenti dati epidemiologici, sia sull'incidenza sia sui fattori di rischio. Uno studio su larga scala del Gruppo Italiano per lo studio dell'Endometriosi pubblicato nel 1994 ha evidenziato che il 30% delle donne con diagnosi di infertilità ed il 53% di quelle con diagnosi di cisti ovariche benigne sono affette da endometriosi. L'importanza della patologia, e quindi la necessità di identificare fattori di rischio e strategie per la prevenzione primaria, è inoltre sottolineata dall'attività dell'associazione nazionale di pazienti (Associazione Italiana Endometriosi, <http://www.endoassoc.it/>).

Un'analoga carenza di dati epidemiologici adeguati è riscontrabile in Italia per altri disturbi della salute di possibile interesse, quali:

- *infertilità maschile*
- *abortività ricorrente*
- *telarca/ginecomastia*
- *alterazioni neurocomportamentali* o immunitarie nei bambini associabili ad esposizioni "ambientali".

Su alcuni di questi effetti sulla salute appaiono sui mezzi di comunicazione sporadici "allarmi", come quello sui 49 casi di bambine con telarca osservati nel 2002 a Torino e per i quali è stata imputata la presenza di residui di anabolizzanti negli omogeneizzati (M. Pappagallo, Corriere della Sera, 4 dicembre 2002). Tuttavia a queste segnalazioni non si è sinora risposto con un sistema di allarme rapido e sorveglianza.

5.5.2. Il Gruppo di Lavoro propone di selezionare, nell'ambito dei diversi effetti sulla salute umana potenzialmente correlabili all'esposizione a Interferenti Endocrini, degli "*indicatori di pressione ambientale*" che siano: (a) utilizzabili dai servizi sanitari in quanto relativamente facili da valutare; (b) sostenuti da sistemi per la raccolta dati, anche a livello locale o regionale; (c) sostenuti da evidenze dalla letteratura internazionale.

Una selezione di tali indicatori può essere rappresentata da:

- il *rapporto fra sessi* alla nascita (v. gli effetti ben documentati per l'esposizione a TCDD nell'area di Seveso, Mocarelli et al., 2000)
- l'incidenza di *ipospadia*, utilizzando i dati dei registri delle malformazioni congenite
- l'incidenza di *ipotiroidismo congenito*, mediante il Registro Nazionale degli Ipotiroidei Congeniti
- la *distanza ano-genitale* nel neonato maschio (per l'associazione con l'esposizione prenatale a ftalati, v. Swan et al., 2005)
- l'incidenza di *criptorchidismo soggetto a trattamento chirurgico*, mediante sia i registri delle malformazioni congenite sia i registri dei reparti di chirurgia pediatrica
- l'*età alla prima mestruazione*
- l'incidenza di *seminoma*, utilizzando i dati dei registri dei tumori.

5.5.2.1. Per quanto riguarda gli effetti sullo *sviluppo neurocomportamentale*, essi hanno un grande rilievo dal punto di vista sociosanitario ed alcuni lavori chiave (Schantz et al., 2003) dimostrano un'associazione fra l'esposizione a POPs (in particolare, PCB) durante la gestazione e l'allattamento ed effetti negativi, ad esempio ritardo cognitivo. Tuttavia, è ancora prematuro includerli tra gli indicatori menzionati, data la difficoltà di ottenere dati epidemiologici validi su aspetti così complessi. Non vi è infatti prova che le alterazioni osservate siano il risultato di un'azione diretta sul sistema endocrino, anche se in alcuni casi è stata dimostrato un effetto dei PCB o dei loro metaboliti a carico della tiroide; inoltre, circa la reversibilità di questi effetti

neurocomportamentali, non si hanno tuttora indicazioni sicure. Si tratta, tuttavia, di un'area su cui è importante ed urgente ottenere un avanzamento delle conoscenze.

5.5.3. Analogamente a quanto riportato per la sorveglianza degli ecosistemi (5.1), anche nell'ambito della sorveglianza della salute umana sono già definiti *biomarkers di esposizione e di effetto* per alcuni Interferenti Endocrini, grazie anche a progetti europei cui partecipa la ricerca italiana (es. ANEMONE, INUENDO, CASCADE, EASYRING, SENSPESTI, VENUS). Pertanto, è possibile l'uso di tali biomarkers in campo epidemiologico e la diffusione di tecnologie appropriate alle strutture incaricate della sorveglianza.

Il Gruppo di Lavoro sottolinea l'importanza di promuovere studi che valutino gli effetti della trasmissione materno/infantile di Interferenti Endocrini in rapporto con marcatori di possibili effetti avversi anche dopo la fase neonatale, in età infantile e nell'adolescenza. A tale scopo è indispensabile promuovere lo sviluppo di *banche biologiche* come strumento essenziale per programmare studi di popolazione che utilizzino biomarcatori.

La necessità di un'integrazione a livello europeo fra le banche biologiche e le attività di biomonitoraggio è fra le principali raccomandazioni della Strategia Europea per l'Ambiente e la Salute. Un Workshop europeo sui *biomarcatori e sul loro potenziale per il biomonitoraggio umano e il controllo della salute ambientale* si svolge a Lussemburgo (29 novembre 2006) nel quadro del progetto ECNIS sul rischio cancerogeno associato a fattori presenti nell'alimentazione (<http://www.ecnis.org/>). Il Gruppo raccomanda che analoghe iniziative, a livello nazionale ed europeo, vengano intraprese anche nel campo degli Interferenti Endocrini.

Il Gruppo di Lavoro raccomanda lo sviluppo di *biomarkers di esposizione, dose efficace e suscettibilità* per tutti i principali Interferenti Endocrini. Particolare attenzione va data a:

- biomarkers *non invasivi* per la valutazione di possibili rischi nelle prime fasi della vita
- biomarkers di *suscettibilità* individuale, in particolare per lo studio di eventi quali la cancerogenesi (Li et al., 2005; Zhang et al., 2004)
- la *validazione*, secondo una griglia che consideri la coerenza con il meccanismo di azione, la sensibilità, la specificità, l'esattezza e l'incertezza della misura
- la definizione di *valori di riferimento*, tenendo conto di variabili quali l'età, il sesso, le abitudini alimentari e gli stili di vita.

5.6. Lo sviluppo e validazione di **approcci biomolecolari** rappresenta un punto della massima importanza e da considerare anche nell'ambito della potenziale *trasferibilità dei risultati della ricerca alle attività di sorveglianza*.

Il Gruppo di Lavoro ritiene che il rendere disponibili metodologie sviluppate da gruppi di ricerca italiani o stranieri alle attività di sorveglianza ambientale, sicurezza alimentare e sorveglianza sanitaria rappresenti un obiettivo di grande importanza.

Gli approcci biomolecolari di interesse possono comprendere ad esempio:

- il perfezionamento di sistemi che valutano la *transattivazione di recettori nucleari* come lo E- screen per la valutazione del carico estrogenico totale (Fernandez et al., 2004)
- la *caratterizzazione* di cluster di geni la cui espressione è modulata da determinati meccanismi endocrini e che possono fungere da "firma" per un determinato meccanismo (Shioda et al., 2006).

A tale proposito è indicata la necessità di estendere l'attenzione a tutti i recettori nucleari di potenziale interesse, anche se sinora relativamente trascurati dalla ricerca sugli Interferenti Endocrini, quali ad esempio ER β e PR (Penza et al., 2004).

Concreti esempi di approcci tecnologicamente avanzati sono

- biosensori per la misurazione di attività enzimatiche (progetto Sens-Pesti <http://www.sens-pesti.com/>; un esempio per gli stannorganici è riportato da Kuritaet al., 2003a) o della interferenza con recettori nucleari (un esempio per il recettore androgeno è riportato da Michelini et al., 2005)

- la rilevazione della vitellogenina mediante il sistema rapido che prevede l'uso di dipstick, sviluppato nell'ambito del progetto EASYRING (<http://www.easyring.org/>)
- l'uso degli strumenti della postgenomica per lo sviluppo di biomarkers di dose efficace e suscettibilità (per una discussione iniziale v. il Workshop "I nuovi approcci biomolecolari e l'analisi del rischio in sicurezza alimentare: quali problemi e quali prospettive", ISS, 23/11/2005, <http://www.iss.it/inte/prog/cont.php?id=93&lang=1&tipo=3>).

Il Gruppo evidenzia come tali metodologie siano di particolare interesse per la valutazione dell'esposizione a *miscele* di Interferenti Endocrini, cioè la situazione più comunemente attesa nell'ambiente e negli alimenti. Si tratta, tuttavia, di approcci il cui uso deve essere ulteriormente validato, compreso lo sviluppo di batterie di test, e che non sono ancora adottati su larga scala a scopo di sorveglianza a causa di insufficienze riguardanti il consenso sulla loro standardizzazione; un'attività progettuale coordinata a livello nazionale potrebbe offrire un contributo importante in tal senso.

6. RACCOMANDAZIONI DEL GRUPPO DI LAVORO

6.1. Nel campo della *valutazione tossicologica*, il Gruppo raccomanda che la valutazione del rischio per tutti i tipi di composti si basi anche su di un accurato esame degli effetti endocrini.

E' importante che lo sviluppo di strategie integrate *in vitro/in vivo* tenga conto anche di bersagli e di effetti mediati da interferenza endocrina anche su organi e sistemi su cui sinora le conoscenze sono insufficienti, quali ad esempio il sistema scheletrico ed il sistema immunitario, nonché delle diverse fasi di suscettibilità associate al ciclo vitale.

Le conoscenze sviluppate in ambito tossicologico debbono tradursi in azioni finalizzate alla regolamentazione ed alla valutazione del rischio.

Il Gruppo di Lavoro auspica che posizioni ispirate all'evidenza scientifica aggiornata ed al principio di precauzione siano applicate ovunque sia ipotizzabile una significativa esposizione del pubblico (o di gruppi vulnerabili) ad Interferenti Endocrini, e che sia data ampia e tempestiva informazione alle strutture del SSN, APAT, ecc., circa le decisioni prese in sede nazionale ed europea.

Il Gruppo di Lavoro presuppone inoltre che l'adozione di tali posizioni debba effettuarsi in armonia con approcci più generali sviluppati a livello europeo ed internazionale.

6.2. Le nuove acquisizioni sui meccanismi di azione a livello molecolare degli Interferenti Endocrini debbono tradursi in *strumenti trasferibili* alla sorveglianza degli ecosistemi e della popolazione umana.

Sono da sviluppare biomarkers di esposizione, effetto e suscettibilità per tutti gli Interferenti Endocrini riconosciuti come prioritari. A tale proposito sono importanti studi sperimentali che utilizzino anche gli strumenti offerti dalla postgenomica, e studi multicentrici che mettano in correlazione diversi biomarcatori con l'obiettivo sia della ricerca sia della validazione.

6.3. Il Gruppo di Lavoro raccomanda che si facciano tutti gli sforzi possibili per integrare le nuove conoscenze scientifiche nei programmi per la *sorveglianza degli ecosistemi e la sicurezza alimentare*, allo scopo di: (a) identificare composti di interesse prioritario da inserire nei piani di controllo; (b) individuare comparti ambientali o filiere alimentari vulnerabili; (c) aggiornare le metodologie per la sorveglianza. In particolare, occorre delineare approcci che permettano di *integrare le diverse fonti di dati*, in modo da permettere una valutazione realistica dell'esposizione complessiva a determinati gruppi di inquinanti. Ad esempio è importante l'integrazione dei dati di esposizione ambientale con dati epidemiologici sulle popolazioni animali, selvatiche e domestiche, e sull'uomo.

In tale ambito, tuttavia, occorre anche raccomandare la massima attenzione ai problemi di *armonizzazione* fra le differenti sorgenti di dati.

6.4. Ancorché esistano valide fonti di dati epidemiologiche per talune patologie umane di potenziale rilievo, ad esempio i registri delle malformazioni congenite, occorre potenziarne la *copertura del territorio nazionale*.

Occorre inoltre *avviare sistemi di rilevazione* epidemiologica per altre patologie di rilievo, quali la pubertà precoce e l'endometriosi.

Vanno inoltre sviluppate indagini epidemiologiche *ad hoc* che siano in grado: (a) di stimare il reale impatto sulla salute umana e (b) di individuare possibili segmenti di popolazione a maggior rischio. In tale ambito le *banche biologiche* possono essere uno strumento di grande potenza per programmare studi di popolazione (*nested case-control studies*) che utilizzino biomarcatori. Ciò richiede la formulazione di ipotesi e di disegni sperimentali adeguati, la raccolta di informazioni attinenti, l'analisi di biomarcatori di esposizione attraverso metodi validati.

E' certamente auspicabile un *coordinamento* fra gli studi epidemiologici sugli Interferenti Endocrini attualmente in corso in Italia, sia sulla popolazione umana che sulle popolazioni animali.

6.5. Il Gruppo di Lavoro considera estremamente importante che gli sviluppi della ricerca sulle metodologie per la valutazione dell'esposizione a Interferenti Endocrini *non rimangano isolate* dal contesto della sorveglianza sanitaria ed ambientale.

In particolare, il Gruppo di Lavoro raccomanda:

- a) la necessità di *identificare ed integrare* le diverse attività di monitoraggio biologico-ambientale esistenti in Italia sugli Interferenti Endocrini
- b) l'elaborazione di sistemi di sorveglianza che prevedano: (1) la possibile integrazione *orizzontale* fra raccolte di dati *diversi* (es., ambiente, catena alimentare e salute umana); (2) l'uso efficiente delle risorse attraverso *più fasi* di approfondimento (ad es., un ventaglio di possibili segnali di all'erta che diano luogo ad indagini piu'approfondite, caso per caso)
- c) l'elaborazione di strategie per il *trasferimento e la disseminazione* di markers e sensori alle strutture territoriali.

Pertanto, un intervento per valutare e gestire l'esposizione ad Interferenti Endocrini, richiede un'azione integrata dei Ministeri della Salute e dell'Ambiente, nonché delle Regioni, con il sostegno delle rispettive strutture scientifiche.

6.5.1. Risulta oramai *imprescindibile la costituzione di una rete nazionale* per identificare le raccolte di dati in atto in Italia sulla esposizione ad Interferenti Endocrini in ambito ambientale, alimentare ed epidemiologico allo scopo di favorire lo scambio di informazioni, l'integrazione fra le strategie di studio ed i risultati e l'armonizzazione degli approcci seguiti.

Nonostante l'attività qualificata di diversi gruppi di ricerca, infatti, l'attenzione verso gli Interferenti Endocrini è in Italia ancora insufficiente. Per contro, il nostro Paese, con la sua varietà di ambienti e di produzioni agrozootecniche da proteggere o riqualificare, la presenza di numerosi siti a rischio e la possibilità di una sorveglianza efficace, offerta dai sistemi delle APAT e del SSN, avrebbe tutte le caratteristiche per affrontare adeguatamente il problema degli Interferenti Endocrini. I costi per lo sviluppo della rete potranno essere contenuti dando priorità alla ottimizzazione e integrazione delle risorse già esistenti, come raccomandato dalla Strategia Europea per l'Ambiente e la Salute (http://ec.europa.eu/environment/health/index_en.htm).

Occorre inoltre considerare che lo sviluppo della rete, potenziando l'efficacia degli strumenti per la prevenzione primaria, potrà produrre una riduzione complessiva dei costi per il servizio sanitario nazionale e indirettamente per l'intero sistema economico. Inoltre l'esigenza di sviluppare e diffondere sistemi avanzati per la sorveglianza ambientale e epidemiologica potrà rappresentare un impulso per il sistema ricerca e per l'innovazione tecnologica.

6.5.1.1. La costituzione di tale rete potrà essere anche uno strumento importante per la ricerca, ad esempio, attraverso l'identificazione di ulteriori competenze da integrare e/o da sviluppare. A tale proposito l'argomento "Interferenti Endocrini" dovrebbe essere meglio rappresentato in iniziative

nazionali quali i programmi per la ricerca sanitaria banditi dal Ministero della Salute, i bandi del Ministero dell'Università e della Ricerca ecc.

Aspetti di particolare rilievo per tali programmi comprendono i seguenti punti, ovviamente non limitandosi ad essi:

- lo studio dei meccanismi di azione e dei bersagli cellulari e molecolari in organismi filogeneticamente diversi con particolare riguardo agli effetti di miscele; a tale proposito sarà importante definire “miscele tipiche” di Interferenti Endocrini in determinate matrici, utilizzando i dati dei piani di sorveglianza
- l'identificazione di marcatori validi e trasferibili, caratterizzati anche mediante l'utilizzo di strumenti della biologia molecolare
- modelli integrati per la valutazione delle dinamiche ambientali in differenti scenari
- modelli traslazionali per lo studio delle associazioni fra Interferenti Endocrini e patologie cronico-degenerative e/o delle interazioni con altri fattori alimentari, ambientali e sociali.

6.6. Tra le variabili da tenere presenti per la valutazione del rischio per la salute vanno annoverate la diffusione di eventuali *fattori protettivi e/o possibili strategie di prevenzione*.

Un esempio importante è rappresentato dalla diffusione dell'utilizzo di *sale iodato* (Legge n. 55 del 21 marzo 2005 per l'attuazione di un programma di iodoprofilassi su scala nazionale) quale fattore protettivo nei confronti dell'ipofunzionalità tiroidea e, potenzialmente, anche nei confronti di Interferenti Endocrini ad azione tireostatica.

Le strategie di prevenzione costituiscono un importante aspetto della ricerca sugli Interferenti Endocrini. Ad esempio, nell'ambito della sicurezza alimentare, la dieta non può essere considerata un semplice “veicolo” di contaminanti; per contro, occorre considerare anche gli effetti sul sistema endocrino di componenti naturali della dieta come oligoelementi, vitamine e fitoestrogeni, con possibili effetti protettivi nei confronti di rischi tossicologici “ambientali”. Su questo aspetto il nuovo database EDC-Diet Interactions Database (EDID) all'interno del sito ISS Interferenti Endocrini (<http://www.iss.it/inte/edid/cont.php?id=109&lang=1&tipo=18>) intende fornire un contributo per stimolare la ricerca sulle interazioni fra xenobiotici e nutrienti.

6.7. E' indispensabile la promozione di iniziative coordinate volte alla *formazione ed informazione* del personale di enti di ricerca, università, servizi sanitari ed ambientali, nel campo della valutazione del rischio da Interferenti Endocrini.

In primo luogo è indispensabile estendere le tematiche interdisciplinari attinenti all'ambiente ed alla salute nella *formazione universitaria* (facoltà di Medicina, Medicina Veterinaria, Biologia, Farmacia, Scienze Naturali, Agraria) e post-universitaria.

A tale proposito primi esempi sono il Master in valutazione del rischio tossicologico, organizzato dall'Università di Pavia nel 2006, in cui i temi sviluppati dal gruppo di lavoro sono stati utilizzati per la formazione, e il Master in “Tecnologie nei controlli degli alimenti” organizzato dall'Università di Genova.

La formazione (ad es., sull'uso di biomarkers, biosensori, basi di dati, ecc.) va però estesa anche agli operatori. Per un piano di formazione professionale sulle tematiche “ambiente e salute”, con particolare riferimento agli Interferenti Endocrini, è indispensabile il coinvolgimento del Ministero dell'Università e della Ricerca ma anche il contributo degli Ordini Professionali (medici, veterinari, biologi, ecc) e delle numerose società scientifiche potenzialmente interessate, quali ad esempio, la Società Italiana di Tossicologia della Riproduzione (<http://www.sitor.it/>), la Società Italiana di Tossicologia (<http://www.pharmtox.org/sitox/>), la Società Italiana di Endocrinologia (<http://www.societaitalianadiendocrinologia.it/>), la Società Italiana di Pediatria (<http://www.sip.it/>), la Società Italiana Valori di Riferimento (<http://www.valoridiriferimento.com/>), ecc.

6.7.1. Infine va adeguatamente considerata l'importanza della comunicazione con i mezzi di informazione e con l'opinione pubblica. Un'azione in tal senso è stata svolta dall'Istituto Superiore di Sanità con la pubblicazione del “Vademecum di Prevenzione” in occasione del convegno

nazionale sugli Interferenti Endocrini del 4 luglio 2003 (<http://www.iss.it/binary/inte/cont/vademecum.1162289149.pdf>), da altri enti di ricerca e sanitari, nonché da organizzazioni non governative come il WWF.

E' però indispensabile un'azione più capillare e coordinata e meno legata ad "allarmi" contingenti. Tale azione dovrebbe dare informazioni chiare e comprensibili sull'entità dei rischi, chiarire le azioni già in atto da parte delle strutture pubbliche ed indicare comportamenti individuali e stili di vita atti a ridurre i rischi.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Nota: Il documento del Gruppo di Lavoro ha citato solo quei riferimenti che ha ritenuto maggiormente attinenti alle proprie attività e raccomandazioni.

Riferimenti bibliografici sugli Interferenti Endocrini sono reperibili nei seguenti siti e documenti scaricabili in rete:

- World Health Organization - Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors (ultima consultazione 24/11/06)
http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/index.html
- European Commission - DG Environment – Endocrine Disruptors (ultima consultazione 24/11/06)
http://ec.europa.eu/environment/endocrine/index_en.htm
- European Commission - DG Research – Endocrine Disruptors (ultima consultazione 24/11/06)
http://ec.europa.eu/research/endocrine/index_en.html
- CREDO cluster of European projects on Endocrine Disruptors (ultima consultazione 24/11/06)
<http://www.credocluster.info/>
- Network of Excellence CASCADE (ultima consultazione 24/11/06)
<http://www.cascadenet.org>
- Istituto Superiore di Sanità – Interferenti Endocrini (ultima consultazione 24/11/06)
<http://www.iss.it/inte/>

Adriani W, Della Seta D, Dessi-Fulgheri, Farabollini F, Laviola G. (2003) Altered profiles of spontaneous novelty seeking, impulsive behavior, and response to D-amphetamine in rats perinatally exposed to bisphenol A. *Environmental Health Perspectives*. 111:395-401.

Aprèa C, Strambi M, Novelli MT, Lunghini L, Bozzi N. Biologic monitoring of exposure to organophosphorus pesticides in 195 Italian children. *Environ Health Perspect*. 2000 108: 521-5.

Arts IC, Hollman PC. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr*. 2005 Jan;81(1 Suppl):317S-325S.

Bell DS, Ovalle F. Use of soy protein supplement and resultant need for increased dose of levothyroxine. *Endocr Pract*. 2001 May-Jun;7(3):193-4.

Bianca S, Li Volti G, Caruso-Nicoletti M, Ettore G, Barone P, Lupo L, Li Volti S. (2003) Elevated incidence of hypospadias in two sicilian towns where exposure to industrial and agricultural pollutants is high. *Reproductive Toxicology*. 17:539-45.

Bodwell JE, Kingsley LA, Hamilton JW. Arsenic at very low concentrations alters glucocorticoid receptor (GR)-mediated gene activation but not GR-mediated gene repression: complex dose-response effects are closely correlated with levels of activated GR and require a functional GR DNA binding domain. *Chem Res Toxicol*. 2004 17:1064-76.

Braunrath, R., Podlipna, D., Padlesak, S., and Cichna-Markl, M. (2005). Determination of bisphenol a in canned foods by immunoaffinity chromatography, HPLC, and fluorescence detection. *J Agric Food Chem* 53, 8911-7.

- Brede, C., Fjeldal, P., Skjevrak, I., and Herikstad, H. (2003). Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. *Food Addit Contam* 20, 684-9.
- Breitholtz M, Ruden C, Hansson SO, Bengtsson BE. Ten challenges for improved ecotoxicological testing in environmental risk assessment. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2006 Feb;63(2):324-35.
- Bremer S, Cortvrindt R, Daston G, Eletti B, Mantovani A, Maranghi F, Pelkonen O, Ruhdel I, Spielmann H. Reproductive and Developmental Toxicity. *Altern Lab Anim* 2005, 33 (Suppl. 1):183-209
- Bruce B, Messina M, Spiller GA. Isoflavone supplements do not affect thyroid function in iodine-replete postmenopausal women. *J Med Food.* 2003 Winter;6(4):309-16.
- Calamandrei G, Mantovani A. SCALE: un'iniziativa europea per la prevenzione dei rischi per la salute dei bambini. *Il Contributo dell'ISS. Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 2004 17(11): 3-7.
- Carbone P, Giordano F, Nori F, Mantovani A, Taruscio D, Lauria L, Figa-Talamanca I. (2006) Cryptorchidism and hypospadias in the Sicilian district of Ragusa and the use of pesticides. *Reproductive Toxicology.* 22: 8-12.
- Carbone P, Giordano F, Nori F, Mantovani A, Taruscio D, Lauria L, Figa-Talamanca I. (2006) The possible role of endocrine disrupting chemicals in the aetiology of cryptorchidism and hypospadias: a population-based case-control study in rural Sicily. *Int J Androl.* Jul 4; [Epub ahead of print]
- Central Science Laboratory (2004). A study of the migration of bisphenol A from polycarbonate feeding bottles into food simulants. Central Science Laboratory Test Report L6BB-1008 for the Boots Group; <http://www.boots-plc.com/environment/library/250.pdf>.
- Chiavarini S, Massanisso P, Nicolai P, Nobili C, Morabito R. (2003) Butyltins concentration levels and imposex occurrence in snails from the Sicilian coasts (Italy). *Chemosphere.* 50:311-9
- Cobellis L, Latini G, De Felice C, Razzi S, Paris I, Ruggieri F, Mazzeo P, Petraglia F. (2003) High plasma concentrations of di-(2-ethylhexyl)-phthalate in women with endometriosis. *Human Reproduction.* 18:1512-5
- Colosio C, Visentin S, Birindelli S, Campo L, Fustinoni S, Mariani F, Tiramani M, Tommasini M, Brambilla G, Maroni M. Reference values for ethylenethiourea in urine in Northern Italy: results of a pilot study. *Toxicol Lett.* 2006 162: 153-7.
- Crofton KM, Craft ES, Hedge JM, Gennings C, Simmons JE, Carchman RA, Carter WH Jr, DeVito MJ. Thyroid-hormone-disrupting chemicals: evidence for dose-dependent additivity or synergism. *Environ Health Perspect.* 2005;113:1549-54.
- Darbre PD. Metalloestrogens: an emerging class of inorganic xenoestrogens with potential to add to the oestrogenic burden of the human breast. *J Appl Toxicol* 2006 26: 191-197.
- Desantis S, Corriero A, Cirillo F, Deflorio M, Brill R, Griffiths M, Lopata AL, De La Serna JM, Bridges CR, Kime DE, De Metrio G. (2005) Immunohistochemical localization of CYP1A, vitellogenin and Zona radiata proteins in the liver of swordfish (*Xiphias gladius* L.) taken from the Mediterranean Sea, South Atlantic, South Western Indian and Central North Pacific Oceans. *Aquat Toxicol.* 18;71(1):1-12
- Detmar J, Rabaglino T, Taniuchi Y, Oh J, Acton BM, Benito A, Nunez G, Jurisicova A. Embryonic loss due to exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons is mediated by Bax. *Apoptosis.* 2006 11:1413-25.
- Doerge DR, Sheehan DM. Goitrogenic and estrogenic activity of soy isoflavones. *Environ Health Perspect.* 2002 Jun;110 Suppl 3:349-53.
- Falandysz J, Taniyasu S, Gulkowska A, Yamashita N, Schulte-Oehlmann U. Is fish a major source of fluorinated surfactants and repellents in humans living on the Baltic Coast? *Environ Sci Technol.* 2006;40: 748-51.
- Fernandez MF, Rivas A, Olea-Serrano F, Cerrillo I, Molina-Molina JM, Araque P, Martinez-Vidal JL, Olea N. Assessment of total effective xenoestrogen burden in adipose tissue and

- identification of chemicals responsible for the combined estrogenic effect. *Anal Bioanal Chem.* 2004 May;379(1):163-70.
- Ferrara F, Fabietti F, Delise M, Bocca AP, Funari E. (2001) Alkylphenolic compounds in edible molluscs of the Adriatic Sea (Italy). *Environmental Science and Technology.* 35:3109-12.
- Ferrara F, Fabietti F, Delise M, Funari E. (2005) Alkylphenols and alkylphenol ethoxylates contamination of crustaceans and fishes from the Adriatic Sea (Italy). *Chemosphere.* 59:1145-50.
- Food Standards Agency (2001) Survey of Bisphenols in Canned Foods. Food Surveillance Information Sheet. Number 13/01. April 2001. Food Standards Agency, UK. Available on http://www.foodstandards.gov.uk/food_surv.htm.
- Franconi F, Coinu R, Carta S, Urgeghe PP, Ieri F, Mulinacci N, Romani A. Antioxidant effect of two virgin olive oils depends on the concentration and composition of minor polar compounds. *J Agric Food Chem.* 2006 Apr 19;54(8):3121-5.
- Golub MS. *Metals, Fertility and Reproductive Toxicity.* Taylor & Francis, New York, 2006
- Goodson, A., Robin, H., Summerfield, W., and Cooper, I. (2004). Migration of bisphenol A from can coatings--effects of damage, storage conditions and heating. *Food Addit Contam* 21, 1015-26.
- Gruppo italiano per lo studio dell'endometriosi. Prevalence and anatomical distribution of endometriosis in women with selected gynaecological conditions: results from a multicentric Italian study. *Hum Reprod.* 1994 Jun;9(6):1158-62.
- Guo JM, Xiao BX, Liu DH, Grant M, Zhang S, Lai YF, Guo YB, Liu Q. Biphasic effect of daidzein on cell growth of human colon cancer cells. *Food Chem Toxicol.* 2004 Oct;42(10):1641-6.
- Heimler D, Vignolini P, Dini MG, Romani A. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *J Agric Food Chem.* 2005 Apr 20;53(8):3053-6.
- Houeto P, Bindoula G, Hoffman JR. Ethylenebisdithiocarbamates and ethylenethiourea: possible human health hazards. *Environ Health Perspect.* 1995 103: 568-73.
- Jabbar MA, Larrea J, Shaw RA. Abnormal thyroid function tests in infants with congenital hypothyroidism: the influence of soy-based formula. *J Am Coll Nutr.* 1997 Jun;16(3):280-2.
- Kurita, -R; Hayashi, -K; Torimitsu, -K; Niwa, -O (2003). Continuous measurement of glutamate and hydrogen peroxide using a microfabricated biosensor for studying the neurotoxicity of tributyltin. *Anal-Sci.* 19, 1581-5
- Latini G. Monitoring phthalate exposure in humans. *Clin Chim Acta* 2005;361:20-29
- Law RJ, Allchin CR, de Boer J, Covaci A, Herzke D, Lepom P, Morris S, Tronczynski J, de Wit CA. Levels and trends of brominated flame retardants in the European environment. *Chemosphere.* 2006 64:187-208.
- Li Y, Millikan RC, Bell DA, Cui L, Tse CK, Newman B, Conway K. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) polymorphisms, and breast cancer risk among African American women and white women in North Carolina: a population-based case-control study. *Breast Cancer Res.* 2005;7(1):R12-8.
- Robert J. Letcher, J. Thomas Sanderson, Abraham Bokkers, John P. Giesy, Martin van den Berg (2005). Effects of bisphenol A-related diphenylalkanes on vitellogenin production in male carp (*Cyprinus carpio*) hepatocytes and aromatase (CYP19) activity in human H295R adrenocortical carcinoma cells *Toxicology and Applied Pharmacology* 209 (2005) 95 – 104
- Mantovani A. (2001) Esposizione umana a sostanze chimiche con effetti endocrini e salute riproduttiva. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità*, 200114(12): 3-10
- Mantovani A. Risk assessment of endocrine disrupters. The role of toxicological studies. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006 1076: 239–252
- Maranghi F., Baldi F., Mantovani A (ed). *Rapporto ISTISAN Sicurezza alimentare e salute dell'infanzia.* 2005, Rapporti ISTISAN 05/35
- Maranghi F., Mantovani A. I contaminanti ambientali con effetti endocrini: problemi e prospettive. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità*, 2003 16(5):3-9.

- Maranghi F, Mantovani A. Esposizioni ad inquinanti negli ambienti chiusi: i rischi fra le pareti domestiche. 2004. *Ambiente e infanzia in Italia* (Ed. I. Figà-Talamanca e A. Mantovani) Verduci, Roma pp. 165-179.
- Marin MG, Matozzo V. Vitellogenin induction as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic environments. 2004. *Mar Pollut Bull.* 48(9-10):835-9.
- Mendez MA, Anthony MS, Arab L. Soy-Based Formulae and Infant Growth and Development: A Review *J Nutr.* 2002;132(8):2127-2130.
- Michelini E, Leskinen P, Virta M, Karp M, Roda A. A new recombinant cell-based bioluminescent assay for sensitive androgen-like compound detection. *Biosens Bioelectron.* 2005 15;20(11):2261-7.
- Milerova J, Cerovska J, Zamrazil V, Bilek R, Lapcik O, Hampl R. Actual levels of soy phytoestrogens in children correlate with thyroid laboratory parameters. *Clin Chem Lab Med.* 2006;44(2):171-4.
- Minoia C, Turci R. Esposizione a contaminanti negli alimenti e nell'ambiente indoor. In *Sicurezza alimentare e salute dell'infanzia* (Maranghi F, Baldi F, Mantovani A. ed) 2005 *Rapporti ISTISAN* 05/35, pp. 39-47.
- Mocarelli P, Gerthoux PM, Ferrari E, Patterson DG Jr, Kieszak SM, Brambilla P, Vincoli N, Signorini S, Tramacere P, Carreri V, Sampson EJ, Turner WE, Needham LL. Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offspring. *Lancet.* 2000;355:1858-63.
- Mulinacci N, Giaccherini C, Ieri F, Innocenti M, Romani A, Vincieri F, Evaluation of lignans and free and linked hydroxy-tyrosol and tyrosol in extra virgin olive oil after hydrolysis processes (*Journal of the Science of Food and Agriculture* 2006 86(5):757 – 764
- Müller, A.M., Nielsen, A. and Ladefoged, O. (2003), Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri Veterinær- og Fødevedirektoratet. Human exposure to selected phthalates in Denmark, rapport 2003:15.
- Negri E, Bosetti C, Fattore E, La Vecchia C. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and breast cancer: a systematic review of the epidemiological evidence. *Eur J Cancer Prev.* 2003 Dec;12(6):509-16.
- Nidhi, Glick M, Davies JW, Jenkins JL. Prediction of biological targets for compounds using multiple-category Bayesian models trained on chemogenomics databases. *J Chem Inf Model.* 2006 May-Jun;46(3):1124-33
- Parazzini F, Chiaffarino F, Surace M, Chatenoud L, Cipriani S, Chiantera V, Benzi G, Fedele L., 2004, Selected food intake and risk of endometriosis. *Hum Reprod.* 19:1755-9.
- Penza L, Bonetti E, Villa R, Ganzerla S, Bergonzi R, Biasiotto G, Caimi L, Apostoli P, Ciana P, Maggi A, Di Lorenzo D. Whole body action of xenoestrogens with different chemical structures in estrogen reporter male mice. *Toxicology* 2004, 205:65-73.
- Persky VW, Turyk ME, Wang L, Freels S, Chatterton R Jr, Barnes S, Erdman J Jr, Sepkovic DW, Bradlow HL, Potter S. Effect of soy protein on endogenous hormones in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2002 Jan;75(1):145-53.
- Porpora MG, Ingelido AM, Domenico AD, Ferro A, Crobu M, Pallante D, Cardelli M, Cosmi EV, De Felip E. (2006) Increased levels of polychlorobiphenyls in Italian women with endometriosis. *Chemosphere.* 63: 1361-7.
- Rhind SM, Kyle CE, Telfer G, Duff EI, Smith A. Alkyl phenols and diethylhexyl phthalate in tissues of sheep grazing pastures fertilized with sewage sludge or inorganic fertilizer. *Environ Health Perspect.* 2005 Apr;113(4):447-53.
- Rudel RA, Camann DE, Spengler JD, Korn LR, Brody JG. Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environ Sci Technol.* 2003 37:4543-53
- Salvini S, Sera F, Caruso D, Giovannelli L, Visioli F, Saieva C, Masala G, Ceroti M, Giovacchini V, Pitozzi V, Galli C, Romani A, Mulinacci N, Bortolomeazzi R, Dolara P, Palli D. Daily

- consumption of a high-phenol extra-virgin olive oil reduces oxidative DNA damage in postmenopausal women. *Br J Nutr.* 2006 Apr;95(4):742-51.
- Schantz SL, Widholm JJ, Rice DC Effects of PCB exposure on neuropsychological function in children. *Environ Health Perspect* 111: 357-376, 2003.
- Shioda T, Chesnes J, Coser KR, Zou L, Hur J, Dean KL, Sonnenschein C, Soto AM, Isselbacher KJ. Importance of dosage standardization for interpreting transcriptomal signature profiles: evidence from studies of xenoestrogens. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Aug 8;103(32):12033-8.
- Strom BL, Schinnar R, Ziegler EE, Barnhart KT, Sammel MD, Macones GA, Stallings VA, Drulis JM, Nelson SE, Hanson SA. Exposure to soy-based formula in infancy and endocrinological and reproductive outcomes in young adulthood. *JAMA.* 2001 Aug 15;286(7):807-14.
- Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, Mao CS, Redmon JB, Ternand CL, Sullivan S, Teague JL; Study for Future Families Research Team. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect.* 2005 113: 1056-1061.
- Tan, B. L., and Mustafa, A. M. Leaching of bisphenol A from new and old babies' bottles, and new babies' feeding teats. *Asia Pac J Public Health* 2003 15, 118-23.
- Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, Fiedler H, Hakansson H, Hanberg A, Haws L, Rose M, Safe S, Schrenk D, Tohyama C, Tritscher A, Tuomisto J, Tysklind M, Walker N, Peterson RE. The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds. *Toxicol Sci.* 2006, 93, 223-241
- Van der Woude H, Ter Veld MG, Jacobs N, van der Saag PT, Murk AJ, Rietjens IM. The stimulation of cell proliferation by quercetin is mediated by the estrogen receptor. *Mol Nutr Food Res.* 2005 Aug;49(8):763-71.
- Walker CH. Ecotoxicity testing of chemicals with particular reference to pesticides. *Pest Manag Sci.* 2006 Jul;62(7):571-83.
- Wang SL, Su PH, Jong SB, Guo YL, Chou WL, Papke O. In utero exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls and its relations to thyroid function and growth hormone in newborns. *Environ Health Perspect.* 2005 113: 1645-50.
- Wang X, Clubbs EA, Bomser JA. Genistein modulates prostate epithelial cell proliferation via estrogen- and extracellular signal-regulated kinase-dependent pathways. *J Nutr Biochem.* 2006 Mar;17(3):204-10.
- Wenzel A, Franz C, Breous E, Loos U. Modulation of iodide uptake by dialkyl phthalate plasticisers in FRTL-5 rat thyroid follicular cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2005 244: 63-71.
- Windham GC, Mitchell P, Anderson M, Lasley BL. Cigarette smoking and effects on hormone function in premenopausal women. *Environ Health Perspect.* 2005;113:1285-90.
- Zhang Y, Wise JP, Holford TR, Xie H, Boyle P, Zahm SH, Rusiecki J, Zou K, Zhang B, Zhu Y, Owens PH, Zheng T. Serum polychlorinated biphenyls, cytochrome P-450 1A1 polymorphisms, and risk of breast cancer in Connecticut women. *Am J Epidemiol.* 2004 Dec 15;160(12):1177-83.
- Zoeller RT, Bansal R, Parris C. Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology.* 2005 Feb;146(2):607-12.

TABELLA 1

Informazioni sintetiche sugli Interferenti Endocrini che il Gruppo di Lavoro ha considerato prioritari dai punti di vista dell'evidenza di effetti e della possibile esposizione ambientale ed alimentare

Basi di dati utilizzate

World Health Organization - Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors
http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/index.html

European Commission - DG Environment – Endocrine Disruptors
http://ec.europa.eu/environment/endocrine/index_en.htm

European Food safety Authority
<http://www.efsa.europa.eu/en.html>

Istituto Superiore di Sanità – Interferenti Endocrini
<http://www.iss.it/inte/>

Allegato 4. (v. sotto) *Panoramica della situazione normativa.*

A) Contaminanti ambientali persistenti e metalli pesanti

PCB, diossine e metalli pesanti sono identificati dalla European Environment and Health Strategy come prioritari per azioni di sorveglianza sanitaria ed ambientale per la gestione del rischio.

DDE (metabolita del DDT) ed *Esaclorobenzene* sono i contaminanti clorurati (ad esclusione di PCB e diossine) maggiormente presenti in campioni della popolazione italiana secondo un recente studio dell'ISS (Barbini et al., Low levels of organochlorine pesticides in subjects with metabolic disturbances: a survey taken in Rome in 2001-2002. Bull Environ Contam Toxicol 2004, 73:319-26).

DDT e suoi metaboliti

- attività: agonista estrogenico (DDT); antagonista androgeno (o'p'DDE); anche effetti tireostatici
- diffusione: bioaccumulo nelle catene alimentari per usi pregressi come insetticida (es., campagne antimalaria in Sardegna); contaminazione del Lago Maggiore da parte dell'unico sito di produzione in Italia (Binelli et al. DDT in zebra mussels from Lake Maggiore (N. Italy): level of contamination and endocrine disruptions. Aquatic Toxicology 2004 69:175-88).

Diossine e composti diossino-simili (PCDD, PCDF, PBDD, PBDF, PCB e PBB)

- attività: agonisti del recettore arilico, con effetti complessi sui sistemi endocrino (es., azione antiestrogena), nervoso, riproduttivo ed immunitario, con variabile suscettibilità a secondo del sesso e dell'età (status endocrino) dell'organismo esposto.
- diffusione: (PCDD, PCDF, PBDD, PBDF) sottoprodotti dei processi di combustione e di produzione di altre sostanze, impurezze in prodotti commerciali; (PCB e PBB) rilascio dalle riserve presenti nell'ambiente, smaltimento abusivo di rifiuti;
- bioaccumulo nelle catene alimentari,

Esaclorobenzene

- attività: interferisce con diverse vie di segnalazione intercellulare (metabolismo del glucosio, dei lipidi, delle porfirine); effetti immunotossici e tireostatici
- diffusione: bioaccumulo nelle catene alimentari per usi pregressi come composto industriale e biocida

Policlorobifenili (non diossina-simili)

- attività: effetti complessi sui sistemi nervoso, endocrino ed immunitario, diversi a seconda dei congeneri. Importanti gli effetti tireostatici e l'interferenza con le sulfotrasferasi degli ormoni steroidi
- diffusione: bioaccumulo nelle catene alimentari per usi pregressi come composti industriali; importante l'esposizione a scariche abusive di rifiuti industriali e la contaminazione dei mangimi. Maggiore bioaccumulo per i congeneri ad alto grado di clorurazione (PCB 153, 180)

Cadmio

- attività: agonista estrogenico; effetti cronici su reni, metabolismo del calcio, etc.
- diffusione: utilizzi industriali, rifiuti tossici; livelli maggiori nei fumatori per concentrazione nel tabacco

Arsenico

- attività: interferisce con il recettore per il glucorticoidi; sospetto fattore di rischio per il diabete; aumenta lo stress ossidativi
- diffusione: utilizzi industriali, rifiuti tossici; in taluni paesi (es. USA) i composti organici sono usati in zootecnia come promotori di crescita

B) Pesticidi, biocidi, sostanze usate in zootecnia

Motivazione della selezione: identificati come Interferenti Endocrini dalle agenzie internazionali sulla base delle attività biologiche e della diffusione

Per la diffusione sono stati anche considerati la presenza in almeno 10 prodotti fitosanitari approvati in Italia nonché un documento sulla presenza di residui di pesticidi in emilia-Romagna presentato dalla dr.ssa Colacci, componente del Gruppo di Lavoro.

*Azoli (Fenarimol, *Imazalil, Miclobutanil, Penconazolo, Propiconazolo, Tebuconazolo, etc.)*

- attività: inibizione della sintesi degli steroidi; i triazoli (ad es. Penconazolo, Propiconazolo, Tebuconazolo) inibitori specifici dell'aromatasi
- diffusione: fungicidi, *anche uso zootecnico

Clorurati (endosulfan, metossicloro)

- attività: modulatori dell'attività dei recettori per gli steroidi (effetti principalmente estrogenici ed antiandrogeni)
- diffusione: insetticidi; uso in fase di drastica diminuzione in UE. Capacità di bioaccumulo minore che per il DDT.

Etilene bisditiocarbammati (Mancozeb/Maneb)

- attività: tireostatici (inibizione della perossidasi tiroidea): *etilene tiourea* (metabolita e prodotto di degradazione ambientale) è il composto attivo
- diffusione: fungicidi

Linuron

- attività: antiandrogeno (antagonista recettoriale)
- diffusione: erbicida

Procimidone - attività: antiandrogeno (antagonista recettoriale)

- diffusione: fungicida;

- altri fungicidi *dicarbossimidi* sono il vinclozolin (usato come composto modello quale antagonista del recettore androgeno, v. Yamasaki et al.. OECD validation of the Hershberger assay in Japan: phase 2 dose response of methyltestosterone, vinclozolin, and p,p'-DDE. Environ Health Perspect. 2003 111:1912-9.) iprodione

Tributilstagno/ossido (TBT/TBTO)

- attività: immunotossico (linfociti T); inibizione dell'aromatasi; induzione di imposex nei gasteropodi marini
- diffusione: biocida (legname, materiali cartacei, imbarcazioni); bioconcentrazione (sedimenti e fauna bentonica): valutato dall'EFSA come contaminante delle catene alimentari nel 2004 (The EFSA Journal 2004 102, 1-119)

C) Composti Industriali

Motivazione della selezione: identificati come prioritari dalle agenzie internazionali sulla base delle attività biologiche e della diffusione

Alchilfenoli: Nonilfenolo e 4-ter-Otilfenolo

- attività: agonisti estrogeni
- diffusione: sottoprodotti di detergenti industriali, intermedi di sintesi; possono bioconcentrare (sedimenti, fauna bentonica)

Bisfenolo A

- attività: agonista del recettore estrogeno α , possibili effetti sulla tiroide
- diffusione: policarbonati (biberon, contenitori di plastica, tubature per l'acqua potabile), resine epossidiche (rivestimenti di scatolette e lattine in alluminio, rivestimento di contenitori per vino e acqua), materiali per amalgami dentali

Ftalati (principalmente Butilbenzil-, Di (2-etil-esil)-, Di-n-butyl-)

- attività: effetti estrogeni/antiandrogeni; agonisti del recettore pregnano X
- diffusione: plastiche in PVC, eccipienti per colle, deodoranti ambientali, cosmetici, inchiostri

Polibromodifenileteri

- attività: tireostatici, immunotossici, effetti neurocomportamentali. Evidenze di interferenza con recettori nucleari (pregnano X, androstano). I penta-PBDE sono più tossici rispetto a tetra, octa- e deca-PBDE

- diffusione: ritardanti di fiamma (apparecchiature elettriche, tappezzerie); bioaccumulano nella frazione lipidica dei tessuti in maniera analoga ai PCB.

I congeneri BDE-47, -99, -153 sono i più diffusi nell'ambiente e nelle catene alimentari (anche per effetto di trasformazione ambientale)

Per la diffusione negli ecosistemi vedi Ikonomou et al., 2000 (Congener patterns, spatial and temporal trends of polybrominated diphenyl ethers in biota samples from the Canadian West Coast and the Northwest Territories. Organohalogen Compounds 47: 77 – 80) e Ikonomou et al., 2002 (Occurrence and congener profiles of polybrominated diphenyl ethers PBDEs in environmental samples from coastal British Columbia, Canada. Chemosphere 46: 649 – 663).

Perfluoro-ottani (PFOS, PFOA)

- attività: effetti neurocomportamentali, probabile interferenza con asse ipotalamo-ipofisi, tiroide
- diffusione: produzione di polimeri (es. rivestimento padelle antiaderenti e abbigliamento sportivo, Goretex), additivi di collanti, cosmetici, insetticidi. Elevato potere di bioaccumulo, mediante legame con le proteine.

Per il bioaccumulo dei perfluoroottani negli ecosistemi marini v. ad es. Houde et al., 2006 (Biomagnification of Perfluoroalkyl Compounds in the Bottlenose Dolphin -Tursiops truncatus- Food Web. Environmental Science and Technology ,in press), Martin et al., 2004 (Identification of long chain perfluorinated acids in biota from the Canadian arctic. Environ. Sci. Technol., 38, 373-380) e OECD, 2002 (Co-operation on Existing Chemicals - Hazard Assessment of Perfluorooctane Sulfonate and its Salts, Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, 21 November 2002).

D) Fitoestrogeni ed altri composti naturali

Motivazione: i fitoestrogeni sono i composti ad azione endocrina probabilmente a diffusione più vasta nella popolazione generale.

Per i fitoestrogeni il Gruppo ha considerato la *genisteina* (integratori) ed i *lignani* (dieta della popolazione generale).

Inoltre, le micotossine prodotte da funghi e protisti possono creare seri problemi in seguito a contaminazione di derrate alimentari e mangimi durante le fasi di produzione e/o conservazione. Tra le micotossine, lo *zearalenone* è ad oggi l'unico ad essere riconosciuto come interferente endocrino.

Genisteina

- attività: modulazione selettiva dei recettori estrogeni α e β
- diffusione: alimenti ed integratori a base di soia, inclusi le formule per lattanti

Lignani

- attività: modulazione selettiva dei recettori estrogeni α e β : effetti biologici poco noti. Metabolizzati a composti biologicamente attivi dalla flora intestinale
- diffusione: numerosi alimenti vegetali, ad es., frutta secca, cereali.

Zearalenone

- attività: agonista del recettore estrogeno α
- diffusione: prodotto da *Fusarium* spp, contamina mais, soia ed altri componenti di alimenti e mangimi (per la contaminazione dei mangimi, v. la valutazione effettuata dall'EFSA, http://www.efsa.europa.eu/it/science/contam/contam_opinions/527.html)

Tabella 2. Effetti di Interferenti Endocrini sulla salute umana.

Criteri utilizzati per la elaborazione della Tabella.

- a) escludere per motivi pratici evidenti i numerosissimi lavori su sistemi sperimentali
- b) includere solo gli studi che comprendono una *valutazione dell'esposizione interna umana*
- c) includere anche gli studi che mostrano una correlazione inversa fra esposizione interna, a taluni intereferenti endocrini ed effetti avversi sulla salute, in quanto si tratta comunque di dati scientifici da approfondire;
- d) non includere, se non in casi particolarmente significativi, nella tabella i lavori che non mostrano alcuna associazione significativa. Il Gruppo riconosce l'importanza dei dati negativi; tuttavia l'obbiettivo primario del mandato del Gruppo di lavoro è quello di definire possibili problemi da approfondire e possibili indicatori di salute da utilizzare in studi di popolazione sugli Interferenti Endocrini; pertanto è necessario dare priorità agli studi che mostrano associazioni statisticamente significative.

La **Tabella 2a** riassume gli studi che associano l'esposizione a Interferenti Endocrini con biomarcatori di *integrità riproduttiva maschile*, in quanto si tratta del campo al momento maggiormente esplorato dalla letteratura scientifica.

La **Tabella 2b** riassume gli studi che associano l'esposizione a Interferenti Endocrini con altri tipi di effetti sulla salute (fertilità femminile, sviluppo pre- e postatale, funzione tiroidea, immunità, rischio di tumori, etc.).

Tabella 2a. Esposizione ad Interferenti Endocrini e associazione con biomarcatori dell'integrità riproduttiva maschile

Biomarcatore di effetto	Sostanza/e	Area geografica	Concentrazione	N° soggetti	Risultati	Bibliografia
	POPs					
Parametri seminali WHO	PCB-153; p,p'-DDE	Svezia, Polonia, Ucraina, Groenlandia (Inuit)	media PCB-153 (ng/g lipidi) Groenlandia 350 Svezia 240 Ucraina 60 Polonia 20 media p-p'-DDE (ng/g lipidi) Ucraina 1270 Groenlandia 890 Polonia 580 Svezia 240	763 adulti fertili Groenlandia 194 Svezia 185 Ucraina 195 Polonia 189	PCB153: correlazione negativa con motilità solo in Groenlandia e Svezia. p-p'-DDE: correlazione negativa con motilità solo in Groenlandia. Nessun effetto con concentrazione e morfologia spermatica.	Toft et al., 2006
Parametri seminali WHO	p,p'-DDE	Messico (Chiapas)	media p-p'-DDE (ng/g lipidi) 45000±32000	116 adulti	Associazione negativa tra p,p'-DDE e motilità, anomalie morfologiche della coda, condensazione della cromatina (Anilina Blu)	De Jager et al., 2006
Parametri seminali WHO	PCBs Ftalati (monoetil ftalato MEP; monobenzil ftalato MBzP; monobutil ftalato MBP)	USA	PCBs (mediana) 212 ng/g lipidi Ftalati (mediana, ng/ml) MEP 148 MBP 15 MBzP 7	303 infertili	Associazione negativa e sinergia tra MBP/PCBs con motilità	Hauser et al., 2005
Parametri seminali WHO	p,p'-DDE	Belgio	p-p'-DDE (media, ng/g lipidi) dispermici 1050 controlli 980	82 dispermici 73 controlli normospermici	Livelli più alti di p-p'-DDE nelle madri dei soggetti dispermici	Charlier & Foidart, 2005
Parametri seminali WHO	PCB-153 p,p'-DDE	Svezia	mediana (ng/g lipidi) PCB-153 193	195 pescatori adulti	Associazione negativa tra PCB-153 (se >328 ng/g) e motilità. Nessun associazione con p,p'-	Rignell-Hydbom et al., 2004

			p,p'-DDE 240 media (ng/g lipidi)		DDE	
Parametri seminali WHO	DDT e metaboliti	Sud Africa (Limpopo)	DDT 83300 p,p'-DDE 52300	48 adulti occupazionalmente esposti	Associazione negativa tra p,p'-DDE e numero di spermatozoi	Dalvie et al., 2004a
Parametri seminali WHO	PCB-153	Svezia	PCB-153 (media) 65 ng/g lipidi	305 giovani	Associazione negativa debole solo con motilità	Richthoff et al., 2003
Parametri seminali WHO	PCBs p,p'-DDE	USA	media (ng/g lipidi) PCBs 216 p,p'-DDE 222	212 infertili	Associazione negativa tra PCB-138 e concentrazione, motilità ed anomalie morfologiche	Hauser et al., 2003a
Parametri seminali WHO	PCBs p,p'-DDE	USA	media (ng/g lipidi) PCBs dispermici 242 PCBs controlli 202 p,p'-DDE dispermici 354 p,p'-DDE controlli 240	29 infertili dispermici 18 infertili normospermici (controlli)	Pazienti dispermici tendono ad avere concentrazioni ematiche maggiori di PCBs e DDE	Hauser et al., 2002
Parametri seminali WHO	PCBs esteri di ftalati (PE)	India	media (mg/ml nel plasma seminale) PCB infertili 7.6 PCB controlli N.D. PE infertili 2.0 PE controlli 0.1	21 infertili 32 controlli fertili	Associazioni negative tra PCB e volume, motilità, vitalità, integrità cromatina (AO); tra PE e morfologia e integrità cromatina. PCB e PE a livelli più elevati nei soggetti infertili	Rozati et al., 2002
Integrità DNA/cromatina nemaspermica	PCB-153 p,p'-DDE	Svezia, Polonia, Ucraina, Groenlandia (Inuit)	mediana (ng/g lipidi) PCB-153 88 p,p'-DDE 560	707 adulti fertili	Associazione positiva tra % spermatozoi con difetti cromatinici (SCSA) e PCB (se >51 ng/g) solo per Europei, ma non per Inuit. Nessuna correlazione con p,p'-DDE	Spanò et al., 2005
Integrità DNA/cromatina nemaspermica	PCB-153 p,p'-DDE	Svezia	mediana (ng/g lipidi) PCB-153 189 p,p'-DDE 240	176 pescatori adulti	Associazione positiva tra % spermatozoi con difetti cromatinici (SCSA) e PCB (se >113 ng/g). Nessuna correlazione con p,p'-DDE	Rignell-Hydbom et al., 2005a
Integrità	PCBs	USA	mediana (ng/g lipidi)	212 infertili	Nessuna associazione con rotture	Hauser et al., 2003b

DNA/cromatina nemaspermica	p,p'-DDE		PCBs 226 (PCB-153 44) p,p'-DDE 254		del DNA (Comet assay)	
Rapporto spermatozoi X/Y	PCB-153 p,p'-DDE	Svezia, Polonia, Ucraina, Groenlandia (Inuit)	mediana (ng/g lipidi) PCB-153 90 p,p'-DDE 520	547 adulti fertili	La frazione di spermatozoi Y è più elevata in Svezia e Groenlandia (51.2%) che hanno i più alti livelli di PCB. Associazione positiva tra % spermatozoi Y e PCB/DDE in Svezia. Associazione negativa tra % spermatozoi Y e PCB in Polonia	Tiido et al., 2006
Rapporto spermatozoi X/Y	PCB-153 p,p'-DDE	Svezia	mediana (ng/g lipidi) PCB-153 200 p,p'-DDE 240	149 pescatori adulti	Associazione positiva tra % spermatozoi Y e PCB/DDE	Tiido et al., 2005
Funzione epididimale e delle ghiandole accessorie (PSA, neutral α .glucosidasi - NAG, fruttosio e Zn)	PCB-153 p,p'-DDE	Svezia, Polonia, Ucraina, Groenlandia (Inuit)	media PCB-153 (ng/g lipidi) Groenlandia 350 Svezia 240 Ucraina 58 Polonia 19 media p-p'-DDE (ng/g lipidi) Ucraina 1300 Groenlandia 870 Polonia 580 Svezia 330	623 adulti fertili	Associazione negativa tra NAG e PCB in Groenlandia. Associazione positiva tra PCB e PSA/Zn in Ucraina. Associazione negativa tra PCB e fruttosio in Svezia	Elzanaty et al., 2006
Funzione epididimale e delle ghiandole accessorie (PSA, NAG), fruttosio e Zn)	PCB-153 p,p'-DDE	Svezia	mediana (ng/g lipidi) PCB-153 189 p,p'-DDE 231	157 adulti pescatori	Nessuna associazione	Rignell-Hydbom et al., 2005b
Livelli ormonali plasmatici (FSH,	PCB-153 p,p'-DDE	Svezia, Polonia, Ucraina,	media (ng/g lipidi)	749 adulti fertili	Associazioni positive tra PCB/DDE e SHGB/LH in	Giwerzman et al., 2006

LH, inibina B, testosterone, Estradiolo, SHBG)		Groenlandia (Inuit)	PCB-153 90 p,p'.DDE 510		Ucraina. Associazione positiva tra PCB e LH in Groenlandia. Associazione positiva tra DDE e LH nel dato aggregato	
Livelli ormonali plasmatici (TSH, FSH, LH testosterone, Estradiolo)	PCB-153 p,p'-DDE	Svezia	mediana (ng/g lipidi) PCB-153 370 p-p'-DDE 580	196 anziani	Associazione positiva tra DDE e TSH, negativa tra DDE ed estradiolo	Rylander et al., 2006
Livelli ormonali plasmatici (testosterone, LH, FSH, Estradiolo)	DDT e metaboliti	Tailandia	valori mediani (ng/g lipidi) p,p'-DDE 4058 p,p'-DDT= 629	97 adulti	Debole associazione tra estradiolo e p,p'-DDE (negativa) e con o,p'-DDE (positiva)	Asawasinsopon et al., 2006
Livelli ormonali plasmatici (FSH, LH, inibina B, testosterone, SHGB, estradiolo)	DDT e metaboliti	Sud Africa (Limpopo)	media (ng/g lipidi) DDT 83300 p-p'-DDE 52300	50 adulti occupazionalmente esposti	Associazione positiva tra DDT e estradiolo/testosterone	Dalvie et al., 2004b
Livelli ormonali plasmatici (LH, FSH, SHBG, estradiolo, testosterone)	p,p'-DDE	Italia (Sardegna)	p,p'-DDE (media) 396 ppb	107 adulti (campagna antimalarica 1946-50)	Nessuna associazione	Cocco et al., 2004
Livelli ormonali plasmatici (Inibina B, LH, FSH, SHBG, estradiolo, testosterone)	PCB-153	Svezia	PCB-153 (media) 65 ng/g lipidi	305 giovani	Associazione negativa tra PCB e SHBG	Richthoff et al., 2003
	FTALATI					
Parametri seminali WHO Integrità DNA/cromatina nemaspermica Livelli ormonali (Inibina B, LH, FSH, testosterone, SHBG, estradiolo) Funzione	Ftalati metaboliti monoesteri MEP monoetil ftalato MBzP monobenzil ftalato MBP monobutil ftalato	Svezia	Valori massimi nelle urine (ng/ml) MEP 99 MBzP 70 MBP 170	234 giovani	Associazione negativa debole tra MEP e motilità/LH	Jönsson et al., 2005

epididimale e delle ghiandole accessorie (PSA, NAG, fruttosio e Zn)						
Parametri seminali WHO Integrità DNA/cromatina nemaspermica	Ftalati e monoesteri	USA	Valori medi nelle urine (ng/ml) MEP 187 MBzP 8 MBP 18	168 infertili	Associazione positiva tra MBP e motilità/concentrazione spermatozoi. Associazione positiva tra MBzP e concentrazione. Associazione positiva tra MEP e danno al DNA (Comet Assay)	Duty et al., 2003° Duty et al., 2003b
Motilità spermatozoi (CASA)	Ftalati e monoesteri	USA	Valori medi nelle urine (ng/ml) MEP 184 MBzP 8 MBP 18	187 infertili	Nessuna associazione	Duty et al., 2004
Livelli ormonali (FSH, LH, SHBG, testosterone, Inibina B)	Ftalati e monoesteri	USA	Valori medi nelle urine (ng/ml) MEP 183 MBzP 8 MBP 17	295 adulti	Associazione negativa tra MBzP e FSH	Duty et al., 2005

I riferimenti bibliografici dettagliati sono disponibile su richiesta presso il coordinamento del gruppo di lavoro

Nota: nella Tabella 2a non sono stati inseriti lavori in cui si riportano possibili effetti sulla qualità del seme e sullo stato ormonale di maschi adulti la cui esposizione a Interferenti Endocrini si fa risalire in utero in seguito ad incidenti (ad esempio, Guo YL, Lambert GH, Hsu CC, Hsu MM. Yucheng: health effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Int Arch Occup Environ Health* 77: 153-158, 2004; Hsu PC, Lai TJ, Guo NW, Lambert GH, Leon Guo Y. Serum hormones in boys prenatally exposed to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *J Toxicol Environ Health A*. 68: 1447-1456, 2005).

E' stato recentemente dimostrato che anche il fumo di sigaretta in gravidanza può avere come effetto una riduzione del numero di spermatozoi nell'adulto simulando un effetto tipico di un interferente endocrino (Storgaard L, Bonde JP, Ernst E, Spano M, Andersen CY, Frydenberg M, Olsen J. Does smoking during pregnancy affect sons' sperm counts? *Epidemiology* 14: 278-286, 2003; Jensen TK, Jorgensen N, Punab M, Haugen TB, Suominen J, Zilaitiene B, Horte A, Andersen AG, Carlsen E, Magnus O, Matulevicius V, Neramo I, Vierula M, Keiding N, Toppari J, Skakkebaek NE. Association of in utero exposure to maternal smoking with reduced semen quality and testis size in adulthood: a cross-sectional study of 1,770 young men from the general population in five European countries. *Am J Epidemiol* 159: 49-58, 2004; Jensen MS, Mabeck LM, Toft G, Thulstrup AM, Bonde JP. Lower sperm counts following prenatal tobacco exposure. *Hum Reprod* 20: 2559-2266, 2005).

Per una recente meta-analisi sui potenziali effetti degli interferenti endocrine sulla riproduzione maschile si rimanda inoltre a Storgaard L, Bonde JP, Olsen J. Male reproductive disorders in humans and prenatal indicators of estrogen exposure. A review of published epidemiological studies. *Reprod Toxicol* 21: 4-15, 2006.

Tabella 2b – Altri effetti di Interferenti Endocrini sulla salute umana: riproduzione femminile, sviluppo pre e post natale, funzione immunitaria, suscettibilità ai tumori

Effetto	Sostanza/e	Area geografica	Popolazione	Riferimenti
Inizio precoce del menarca	PBB (1) 16 congeneri PCB (2) DDE (3) DDT (4)	USA (1) USA (2) USA (3) USA (4)	Donne esposte in utero ed attraverso l'allattamento al seno (1) Pellirossa Mohawk (2) Operaie dell'industria tessile di etnia cinese (4)	Black et al. 2000 (1) Denham et al. 2005 (2) Vasiliiu et al. 2004 (3) Ouyang et al. 2005 (4)
Pubertà precoce / telarca	Ftalati (1) DDE (2)	Portorico (1) Belgio (2)	Bambine immigrate (2)	Colon et al. 2000 (1) Krstevska-Kostantinova et al. 2001 (2)
Inizio tardivo del menarca / pubertà maschile	Piombo (1) PCB; PCDD/PCDF (2)	USA (1) Belgio (2)	Pellirossa Mohawk (1)	Denham et al. 2005 (1) Den Hond et al. 2002 (2)
Irregolarità del ciclo mestruale	11 congeneri di PCB (1) DDT; DDE (2) PBB (3) TCDD (4) DDT (5)	USA (1) USA (2) USA (3) Italia (4) USA (5)	Donne provenienti dal sudest asiatico (2) Effetto associato con dimagrimento nell'anno precedente (3) Area di Seveso (4) Operaie dell'industria tessile di etnia cinese (5)	Cooper et al. 2005 (1) Windham et al. 2005 (2) Davis et al. 2005 (3) Eskenazi et al. 2002 (4) Ouyang et al. 2005 (5)
Time-to-pregnancy	Piombo	Europa (1104 di cui 638 occupazionalmente esposti)	Nessuna associazione	Joffe et al., 2003
Aumento Time-to-pregnancy	PCB 153; p,p'DDE	Svezia, Polonia, Ucraina, Inuit	Effetto presente solo negli Inuit	Toft et al., 2005; Axmon et al. 2006
Time-to-pregnancy / esposizione materna	p,p'DDT; p,p'DDE (1) PCB (2)	USA(1) USA (2)	Aumento del TTP associato al p,p'DDT ; diminuzione del TTP associata al p,p'DDE(1) Associazione non significativa anche con DDE (2)	Cohn et al 2003(1) Law et al. 2005 (2)
Sex-ratio: aumento dei maschi	PCB 153; p,p'DDE (1) PCB 153; p,p'DDE PCB (2)	Svezia (1) 547 maschi da Svezia, Polonia, Ucraina, Inuit USA (2)	Comunità di pescatori; incremento della frazione Y negli spermatozoi (1) Maschi svedesi e Inuit mostrano un aumento della frazione Y associato alla conc plasmatica di PCB-153 Associato al consumo di pesce dei grandi laghi; esposizione paterna (2)	Tiido et al. 2005 (1) Tiido et al., 2006 Karmaus et al. 2002 (2)

Sex-ratio: aumento delle femmine	PCB (1)	USA(1)	Associato al consumo di pesce dei grandi laghi; esposizione materna (1)	Weisskopf et al. 2003 (1)
	TCDD (2)	Italia (2)	Area di Seveso; esposizione paterna (2)	Mocarelli et al. 2000 (2)
Aborto spontaneo	DDT e metaboliti (1)	USA (1)	Operaie dell'industria tessile di etnia cinese(1)	Vanners et al. 2005 (1)
	DDE (2) bisfenolo A(3)	USA (2) Giappone (3)	Aborto ricorrente (3)	Longnecker et al. (2) Sugiura – Ogasawara et al. 2005 (3)
Riduzione durata gravidanza / prematurità	Esaclorobenzene (1) Esaclorobenzene; DDE: PCB totali (2)	USA (1) Spagna (2)	Donne di etnia ispanica; area agricola della California (1)	Fenster et al. 2006 (1) Ribas-Fito et al. 2002 (2)
	TCDD (3) Dietil-esil-ftalato (4)	Italia (3) Italia (4)	Area di Seveso (3)	Eskenazi et al. 2003 (3) Latini et al. 2003 (4)
IUGR	α -, γ -, δ - HCH; p,p'DDE (1)	India (1)	Sangue materno e di cordone ombelicale (1) effetto limitato ai neonati femmina; livelli basali di contaminazione (2)	Siddiqui et al. 2003 (1)
	DDE (2) Esaclorobenzene (3) PCB totali (4) PCB 153 (5) TCDD (6)	Australia (2) Spagna (3) USA (4) Svezia (5) Italia (6)	Donne di comunità di pescatori (5) Area di Seveso (6)	Khanjani et al. 2005 (2) Ribas-Fito et al. 2002 (3) Karmaus e Zhu 2004 (4) Rylander et al. 1998 (5) Eskenazi et al. 2003 (6)
Criptorchidismo	Trans-clordano (singolo composto); Esposizione combinata aDDT e metaboliti, beta-HCH, HCB, endosulfan, ossiclordano, dieldrin, eptacloro epossido	62 bambini criptorchidi e 68 controlli (Danimarca)	Misurazione dell'esposizione attraverso il latte materno	Damgaard et al., 2006
Ipospadi	PCB-153; p,p'-DDE	Groenlandia	Bassa incidenza malgrado alti livelli di POPs	Giwerzman et al., 2006
Anomalie dello sviluppo dentale	TCDD	Italia	Area di Seveso	Alaluusua et al (2004)
Maggior peso e statura alla pubertà	PCB; DDE	USA		Gladden et al. 2000
Menopausa precoce	DDT e metaboliti; β -HCH; trans-nonaclor (1) TCDD (2)	USA (1)	Donne di etnia ispanica (1)	Akkina et al. 2004 (1)
		Italia (2)	Area di Seveso (2)	Eskenazi et al. 2005 (2)
Ovaio policistico	Bisfenolo A (1)	Giappone (1)	Livelli nei casi comparabili ai livelli nei soggetti di sesso maschile: possibile interazione con gli androgeni(1) Possibile interazione con obesità (2)	Tsutsumi 2005 (1) Takeuchi et al 2004 (2)
	Bisfenolo A (2)	Giappone (2)		

Endometriosi	PCDD / PCDF; 4 PCB diossina simili; 36 PCB orto-sostituiti (1) 4 PCB diossina simili 5 PCB non diossina simili (2) PCDD/PCDF; PCB diossina simili (3) PCB diossina simili (4) Dietil-esil-ftalato (5)	Giappone (1) Italia (2) Belgio (3) USA (4) Italia (5) India (6)	Assenza di associazione ; i controlli erano donne infertili senza endometriosi (1)	Tsukino et al. 2005 (1) Porpora et al 2005 (2) Heilier et al. 2005 (3) Lowis et al. 2005 (4) Cobellis et al. 2003 (5)
Fibromatosi uterina	Dietil-esil-fatlato	Italia	Correlazione inversa	Luisi et al. 2006
Aumento TSH / riduzione ormoni tiroidei	Metaboliti del DDT (1) Metaboliti del DDT ; dieldrin(2) PCb 138, 153, 180; p,p'DDE; cis-nonaclor; esaclorobenzene; mercurio inorganico (3) PCDD / PCDF; 12 PCB diossina simili (4) ETU (5-6)	Svezia (1) Thailandia (2) Canada (3) Taiwan (4) Messico (5) Filippine (6)	Maschi di ≥ 50 anni (1) Coppie madre-bambino (2) Coppie madre-bambino (3) Donne in gravidanza (4) Maschi adulti (5) Maschi e femmine adulti (6)	Rylander et al. 2006 (1) Asawasinsopon et al. 2006 (2) Takser et al. 2005 (3) Wang et al. 2005 (4) Steenland et al. 1997 (5) Panganiban et al. 2004 (6)
Ipofunzionalità tiroidea / aumento del volume della tiroide	PCB(1) Dieldrin (2) Nitrati (3)	Slovacchia(1) India (2) Slovacchia (3)	Maschi e femmine adulti; associazione con PCB101 più forte che con il 153 e 180 (1) donne adulte (2) Bambini in età scolare (3)	Langer et al. 2005(1) Rathore et al . 2002 (2) Tajtakova et al. 2006 (3)
Funzioni cognitive (memoria, attenzione, IQ)	PCB	USA, Lago Michigan	n. 313 bambini nati da madri consumatrici di pesce contaminato e	Jacobson & Jacobson, 1996
Parametri neurocomportamentali	PCB 118, PCB138, PCB 153, PCB180 Miscele di PCB e diossine	Olanda	n. 200 madri e loro bambini reclutati nella popolazione generale	Koopman-Esseboom et al., 1996
Parametri neurocomportamentali	Miscele di epta-, octo- e nonoclorobifenili	USA, Regione dei Grandi Lagh	i n. 189 bambini, età 4 anni, nati da madri esposte durante la gestazione attraverso il consumo di pesce contaminato	Stewart et al., 1999 Stewart et al., 2000 Stewart et al., 2003
Parametri motori e neurocomportamentali (linguaggio, apprendimento)	PCB	Germania, Dusseldorf	n. 171 bambini studiati all'età di 7, 18, 30 e 42 mesi	Walkowiak et al., 2001
Aumento dei marcatori di immunità T-mediata	PCB 118,138, 153, 180.	Paesi Bassi	Bambini in età prescolare	Weisglass-Kuperus et al. 2000
Riduzione della risposta anticorpale / maggior suscettibilità di infezioni	PCB 118,138, 153, 180 (1) p,p'DDE (2)	Paesi Bassi (1) USA (2)	Bambini in età prescolare (1) Agricoltori di etnia afro-americana (2)	Weisglass-Kuperus et al. 2000 (1) Cooper et al. (2)

Alterazioni citochine/interferone	P,p'DDE (1) PCB 101,138; Esaclorobenzene (2)	Australia Occ. (1) Germania (2)	Giovani donne, livelli basali di contaminazione; effetto non presente nei bambini. (1) Esposizione lavorativa (2)	Noakes et al. 2005 (1) Daniel et al. 2001 (2)
Risposta anticorpale al virus Epstein-Barr	PCB; esaclorobenzene; clordani; PBDE;	Svezia	Studio intrapreso per la possibile associazione fra l'EBV e Linfomi non-Hodgkin	Hardell et al. 2001
Aumento di auto-anticorpi	PCB (1) PCB (2)	Canada (1) Slovacchia (2)	Persone residenti in prossimità di un inceneritore (1) Esposizione lavorativa; prevalenza di anticorpi anti-GAD; misurazione indiretta dell'esposizione (2)	Schoenroth et al. 2004 (1) Langer et al. 2002 (2)
Diabete Tipo 2	PCDD/PCDF; PCB-diossina simili; 12 congeneri non diossina simili (1) TCDD (2) Arsenico (3) PCB-153/p,p'-DDE	Belgio (1) Italia (2) Bangladesh (3) Svezia	Studio pilota; nessuna correlazione fra i livelli di sostanze ed il rischio di endometriosi (1) Area di Seveso (2) Esposizione attraverso l'acqua di pozzo (3) Esposizione con la dieta; debole associazione tra diabete mellito tipo 2/conc plasmatica di PCB nei 196 uomini e conc plasmatica di DDE nelle 184 donne	Fierens et al 2003 (1) Bertazzi et al. 2001 (2) Tsheng et al. 2002 Rylander et al., 2005
Cancro colo-rettale	Mono-orto PCB 28 e 118	Catalogna (ES)	Possibile correlazione con mutazioni del p53	Howsam et al. 2004
Iperplasia maligna/ cancro dell'endometrio	Bisfenolo A (1) P,p'DDE (2)	Giappone (1) Svezia (2)	<i>Correlazione inversa</i> (1). Posibile additività con terapie estrogeniche (2)	Hiroi et al. 2004 (1) Hardell et al 2004 (2)
Seminoma	Cis-nonaclordano (1) PCB ; esaclorobenzene; PBDE;(2)	Svezia (1) Svezia (2)		Hardell et al 2003 (1) Hardell et al. 2006 (2)
Seminoma / esposizione materna	38 congeneri PCB; esaclorobenzene; clordani; (1) PCB diossina simili; PCB non diossina simili (2)	Svezia (1) Svezia (2)		Hardell et al. 2003 (1) Hardell et al. 2003 (2)
Cancro mammario	15 congeneri di PCB; esaclorobenzene; DDE; (1) PCB (2) DDT e metaboliti; esaclorobenzene (3)	Slovacchia (1) USA (2) Belgio (3)	<i>Correlazione inversa con PCB e esaclorobenzene;</i> Correlazione positiva con DDE (1) Correlazione con polimorfismi del CYP1A1 (2) Nessuna differenza fra tumori ER+ ER- (3)	Pavuk et al. 2003 (1) Lee et al: 2005 (2) Charlier et al. 2003 (3)

Cancro mammario e fitoestrogeni	Isoflavoni della soia; (1-3, 6) Fitoestrogeni del fungo champignon (4) Naringenina calcione (5)	USA (1-3, 6) Studi in vitro (4, 5)	Riduzione di 17 β -estradiolo ed estrone circolanti in donne in premenopausa (1), aumento della durata del ciclo e della fase follicolare (2). Correlazione tra effetto degli isoflavoni e capacità individuale di secernere equolo (3). Soppressione di attività aromatasica (4), 3 α - e 17 β -idrossisteroidodeidrogenasica (5). Aumento dell'escrezione urinaria di 2-idrossiestrone (6).	Lu et al. 2000 (1) Kumar et al. 2002 (2) Duncan et al. 2000 (3) Grube et al. 2001 (4) Le Bail et al. 2001 (5) Lu et al. 2001 a (6)
Carcinoma del pancreas esocrino	DDT e metaboliti; PCB 138, 153, 180	Spagna	Possibile interazione con mutazioni del K-ras	Porta et al. 1999 (1)
Cancro alla prostata	Ossiclordano; PCB 180 (1) Fenossierbici contenenti tracce di PCDD/PCDF (2)	USA (1) <i>Metanalisi (2)</i>	Associazioni non significative ad esposizioni lavorative anche ad altri pesticidi (2)	Ritchie et al. 2003 (1) Van Maele-Fabry et al. 2006 (2)
Cancro al retto	TCDD	Italia	Area di Seveso	Bertazzi et al 2001
Cancro al polmone	TCDD	Italia	Area di Seveso	Bertazzi et al 2001
Neoplasie del sistema linfoemopoietico in genere	TCDD	Italia	Area di Seveso	Bertazzi et al 2001

I riferimenti bibliografici dettagliati sono disponibile su richiesta presso il coordinamento del gruppo di lavoro

Tabella 3. Effetti di Interferenti Endocrini sulle popolazioni animali selvatiche

I criteri generali con i quali sono stati selezionati gli studi da inserire sono i seguenti:

1. studi con risultati positivi (gli studi con risultati negativi sono comunque molto pochi);
2. presenza di una marcatura di esposizione (possibilmente interna). Questo significa che gli studi nei quali vengono valutati solo gli effetti ma non viene valutata in alcun modo l'esposizione non sono stati inclusi. Fanno eccezione gli studi nei quali vengono valutati gli effetti in popolazioni comparabili che vivono in ambienti che differiscono per il livello di inquinamento, in questo caso anche se l'esposizione non è stata misurata gli studi sono stati inclusi;
3. Studi in campo. In realtà alcuni studi effettuati in laboratorio sono stati inclusi (o perché particolarmente rilevanti o perché gli unici disponibili per alcune specie)

Effetto	Sostanza/e	Marker di esposizione	Località	Specie	Rif. bibliografico
mammiferi					
Variazione dei livelli di ormoni tiroidei circolanti (T4 e T3) Variazione dei livelli di retinolo plasmatici e del rapporto TT4/FT4 Diminuzione dei livelli plasmatici di testosterone Variazione del cortisolo Soppressione della risposta immunitaria umorale e cellulomediata (aumentato rischio di infezioni)	PCB, DDE, HCB, HCH	Plasma	Isole Svalbard (Norvegia)	Orso polare (<i>Ursus maritimus</i>)	(Skaare et al. 2001) (Oskam et al. 2004; Oskam et al. 2003) (Lie et al. 2004; Lie et al. 2005)
Variazione dei livelli di retinolo plasmatico	PCB Idrossi-PCB	Plasma	Canada	Orso polare (<i>Ursus maritimus</i>)	(Fisk et al. 2005)
Densità minerale ossea (BMD) Accumulo di lipidi nel fegato Granuloma lipidico	Σ PCB, clordani, DDT, dieldrin, PBDE Σ HCH HCB	Tessuto adiposo subcutaneo	Groenlandia	Orso polare (<i>Ursus maritimus</i>)	(Sonne et al. 2004; Sonne et al. 2005)
Aumento dei linfomi secondari nella milza	HCH, HCB, dieldrin, clordani	Tessuto adiposo	East Greenland (Germania)	Orso polare (<i>Ursus maritimus</i>)	(Kirkegaard et al. 2005)
Lunghezza dell'osso dell'organo copulare	PCB (Aroclor 1260)	Fegato	British Columbia, Canada	Visone (<i>Mustela vison</i>) Lontra di fiume (<i>Lutra canadensis</i>)	(Harding et al. 1999)
Aumento dell'attività enzimatica nel fegato	PCB, pesticidi organo clorurati	Fegato	Canada	Beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>)	(McKinney et al. 2004; McKinney et al. 2006)

Variazione nella proliferazione dei linfociti; aumento del rischio di infezioni	PCB	Tessuto adiposo	British Columbia, Canada	Foca comune (<i>Phoca vitulina</i>)	(Levin <i>et al.</i> 2005)
Interruzione di gravidanza, parziale sterilità (30%)	PCB, DDE/DDT		Baltico (coste Svezia)	Foca (<i>Halicherus grypus</i>) 177 giovanili raccolti tra il 1969 e il 1997	Roos <i>et al.</i> , 1998
Ridotto successo riproduttivo	(PCB's, o,p'-DDT, p,p'-(DDT + DDE + TDE, dieldrin, aldrin, endrin, endosulfan, esaclorobenzene, penta ed eptaclorobenzene, pesticidi, metalli (mercurio, selenio, bromo)	Encefalo, fegato, rene e grasso	Olanda e Danimarca	Foca comune (<i>Phoca vitulina</i>)	(Reijnders 1982; Reijnders 1982; Reijnders 1986)
Riduzione della popolazione	PCB, Cu, Pb, Zn e Cd	Fegato, encefalo, rene, milza e cuore	Olanda (confronto con popolazione in Germania e Inghilterra)	Foca comune (<i>Phoca vitulina</i>)	(Duinker <i>et al.</i> 1979)
Riduzione della popolazione, associazione positiva con la conta dei leucociti; Associazione negativa con la conta dei globuli rossi	PCB, PBDE, DDE PBDE	Sangue	San Francisco Bay, California	Foca comune (<i>Phoca vitulina</i>)	(Neale <i>et al.</i> 2005)
Aumento dell'espressione del gene per il tiroideo e concomitante diminuzione della concentrazione di tiroxina circolante	PCBs	Cute, grasso, plasma	British Columbia, Canada, and Washington State, USA.	Foca comune (<i>Phoca vitulina</i>)	(Tabuchi <i>et al.</i> 2006)
Alterazione sistema immunitario (danno all'attività delle cellule natural killer e dei linfociti T)	TEQ, PCB, DDT	Sangue, tessuto adiposo	Olanda (studio di semi-campo)	Foca comune (<i>Phoca vitulina</i>)	(de Swart <i>et al.</i> 1996)
Induzione del citocromo P450 1A (CYPIA) Nel fegato e nella cute	P-naphthoflavone (BNF)	Esposizione attraverso l'alimentazione	Estuario fiume Fraser, British Columbia, Canada	Foca (<i>Phoca vitulina</i>)	(Miller <i>et al.</i> 2005)
Associazione con alterazioni sistema immunitario nei piccoli	PCB		Canada	Foca (<i>Phoca vitulina</i>)	(Ross 2004)
Aumento concentrazione vitamina A	PCB, PCDD, e PCDF	Sangue e biopsie grasso	British Columbia, Canada, and Washington State	Foca (<i>Phoca vitulina</i>)	(Simms <i>et al.</i> 2000)
Espressione recettore arilico	PHAH		Lago Baikal, Russia	Foca del Baikal (<i>Pusa sibirica</i>)	(Kim <i>et al.</i> 2005)

Insorgenza carcinoma	PCB e DDT	Grasso	California	Leone marino (<i>Zalophus californianus</i>)	(Ylitalo et al. 2005)
Alterazione sistema immunitario	PCB	Sangue	USA	Foca orsina (<i>Callorhinus ursinus</i>)	(Beckmen et al. 2003)
Alterazione nei livelli di vitamina A ed E e ormoni tiroidei	PCB, DDT	Plasma	California	Leoni marini (<i>Zalophus californianus</i>)	(Debier et al. 2005)
Atrofia del timo; deplezione della milza	PCB, PBDE, DDT e DDE	Tessuto adiposo	Mar Baltico e della Germania del Nord	Focena (<i>Phocoena phocoena</i>)	(Beineke et al. 2005)
Secrezione gonadotropine in pecore femmine pre-puberi	Bisfenolo-A Octilfenolo	Plasma	Esposizione in laboratorio	Ovini	(Evans et al. 2004)
Cervice uterina e funzione riproduttiva in femmine pre-puberi	Bisfenolo-A Octilfenolo		Esposizione in laboratorio	Ovini	(Morrison et al. 2003)
Uccelli					
Ingrossamento del fegato; elevati livelli di lipidi e aumento della attività EROD; diminuzione dei livelli epatici di retinolo e retinil palmitato	PCB	Fegato	Saglek Bay, Labrador, Canada		(Kuzyk et al. 2003, Kuzyk et al. 2005)
Riduzione dei livelli plasmatici di retinolo (vitamina A); soppressione della risposta immunitaria cellulo-mediata	PCB, DDE	Plasma e uova	Grandi laghi del Nord America (Huron, Erie, Ontario, Winnipeg, Michigan)	Gabbiano reale (<i>Larus argentatus</i>), Sterna maggiore (<i>Sterns caspia</i>)	(Grasman and Fox 2001)
Condizioni generali dell'animale (body condition score)	PCB, DDE	Fegato	British Columbia, Canada	Aquila calva (<i>Haliaeetus leucocephalus</i>)	(Elliott et al. 1996)
Diminuzione dei livelli epatici di tocoferolo e plasmatici di retinolo	PBDE-28, PCB	Sacco del tuorlo	Norvegia	Marangone dal ciuffo (<i>Phalacrocorax aristotelis</i>)	(Murvoll et al. 2006)
Assottigliamento del guscio; aumento mortalità degli embrioni	DDE PCB	Uova	Fiumi Reno e Mosa, Paesi Bassi	Cormorano (<i>Phalacrocorax carbo sinensis</i>)	(Dirksen et al. 1995)

Riduzione T4 e retinolo nel plasma; riduzione retinolo e retinil palmitato nel fegato; Alterazioni nelle risposte immunitarie; cambiamenti strutturali nella milza, nella borsa di Fabrizio e nel timo	PBDE (BDE-47, -99, -100, -153)		Trattamento in laboratorio sulle uova	<i>Falco sparverius</i>	(Fernie et al. 2005a; Fernie et al. 2005b)
Correlazione tra tasso riproduttivo e concentrazione inquinanti	PBDE		USA da 1989-2001	Aquila calva (<i>Haliaeetus leucocephalus</i>)	(Dykstra et al. 2005)
Riduzione del tasso riproduttivo	PCB, DDE	Plasma	Regione dei grandi Laghi, Canada	Aquila calva (<i>Haliaeetus leucocephalus</i>)	(Bowerman et al. 2003)
Tessuto: ovario ed ovidotti in embrioni maschili Femminizzazione	DDT	Uova	California del Sud	Gabbiano	(D. M. Fry e Toone 1981)
Sviluppo anormale della tiroide e dei testicoli nei piccoli	Pesticidi organoclorurati,	Confronto tra animali esposti e non esposti	Esposizione in campo	Rondine (<i>Tachycineta bicolor</i>)	(Bishop et al. 1998)
Rettili					
Anemia; effetti sul sistema immunitario; danno epatocellulare; alterazione del metabolismo delle proteine, dei carboidrati e della regolazione ionica	Clordani totali PCB diossino-simili, mirex contaminanti organoclorurati	Sangue	Nord Carolina	Tartaruga marina (<i>Caretta caretta</i>)	(Keller et al. 2004)
Morte embrioni, anomalo sviluppo embrionale riduzione dimensione uova	PCBs	uova	Spagna del sud	Camaleonte (<i>Chamaeleo chamaeleon</i>)	Diaz-Paniagua et al., 2002 Somara et al., 2004)
Alterata concentrazione di E2, T e DHT Alterazioni nella struttura della tiroide e dei livelli di T4 circolanti Variazioni nelle dimensioni del corpo, dell'indice somatico della milza, dei livelli plasmatici di testosterone, dimensioni del fallo	Contaminazione in generale da pesticidi e scarichi urbani DDE	Confronto tra popolazioni esposte in fase neonatale a diversi livelli di contaminazione	Laghi Woodruff, Okeechobee e Apopka, Florida	Alligatore (Alligator mississippiensis) Alligatore (Alligator mississippiensis)	(Guillette and Iguchi 2003) (Gunderson et al. 2004) (Hewitt et al. 2002) (Milnes et al. 2005a)

Alterato metabolismo epatico degli ormoni steroidi					(Gunderson et al. 2001)
Alterato sviluppo neonatale, perturbazione nel "sex ratio"	p,p'-DDE		Trattamento in laboratorio sulle uova	Alligatore (<i>Alligator mississippiensis</i>)	(Milnes et al. 2005)
Cambiamenti nella morfologia esterna degli organi sessuali; aumento dello sviluppo anormale negli embrioni e nei piccoli; Aumento dell'attività EROD e CYP1A	PCB totali PCB diossino-simili, PCDD/PCDF, Hg	Uova plasma	Lago Ontario, Nord America	Tartaruga (<i>Chelydra serpentina serpentina</i>)	(Bishop et al. 1998; de Solla et al. 1998)
Anfibi					
Grado di schiudibilità delle uova, varietà di specie	PCB, Cd, Cr, Pb	Sedimento e tessuti	Esposizione in campo in Fox River/Green Bay ecosystem (WI, USA)	Embrioni e girini di rana verde (<i>Rana clamitans melanota</i>) e rana leopardos (<i>R. pipiens</i>)	(Karasov et al. 2005)
Femminizzazione, sviluppo ritardato delle gonadi, ermafroditismo	Atrazina	Concentrazione nell'acqua e dati sulla vendita	Stati Uniti	Rana leopardo (<i>Rana pipiens</i>)	(Hayes et al. 2002)
Pesci					
Induzione dell'attività EROD nel fegato	PCDD e PCDF	Fegato	Norvegia del Sud	Merluzzo (<i>Gadus morhua</i>)	(Ruus et al. 2006)
Aumento attività plasmatica aspartato aminotransferasi (AST) ed EROD.	PCB	Plasma e fegato	Caging in un Fiordo Norvegese	Flounder (<i>Platichthys flesus</i> L.) and Atlantic cod (<i>Gadus morhua</i> L.)	(Beyer et al., 1996)
Alterazione asse-ipotalamo-ipofisi-gonade	PCB	Encefalo	Trattamento in laboratorio attraverso il cibo	Salmerino (<i>Salvelinus alpinus</i>)	(Aluru et al. 2004)
Induzione attività EROD nel fegato	PCB	Pesce intero escluso il fegato	Saglek Bay, Labrador, Canada	Pesce scorpione (<i>Myoxocephalus scorpius</i>)	(Kuzyk et al. 2005)
"Intersex", femminizzazione	p-nonilfenolo	Siero, acqua e	Sud Africa	Pesce gatto (<i>Clarias</i>)	(Barnhoorn et al.

		sedimenti		<i>gariepinus</i>)	2004)
Diminuzione dei trigliceridi e dei livelli di androgeni plasmatici, anomalità e variazione nelle dimensioni delle gonadi	DDD, DDE, DDT e PCB	Fegato e gonadi	Columbia River, Oregon	Storione bianco	(Feist <i>et al.</i> 2005)
Alterazione delle caratteristiche sessuali maschili	Contaminanti di origine antropogenica	Confronto tra popolazioni che vivono in ambienti a diverso livello di inquinamento	Laghi Woodruff, Orangee e Apopka, Florida	<i>Gambusia holbrooki</i>	(Toft <i>et al.</i> 2003)
Sintesi di vitellogenina Inibizione dello sviluppo testicolare	Alchilfenoli	Plasma	Trattamento in laboratorio	Trota arcobaleno (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	(S. Jobling. <i>et al.</i> 1996)
Attività 17 β -idrossisteroideidrogenasi e P450 aromatasi, metabolismo steroideo e alterazioni istologia gonadi	Alchilfenoli (NP e OP)	Bile	Mare Mediterraneo nord-ovest	Triglia (<i>Mullus barbatus</i>)	Martin-Skilton <i>et al.</i> , 2006
Espressione subtipo ER β -1 nel fegato; sintesi di vitellogenina; diminuzione dei livelli plasmatici degli androgeni	Nonilfenolo	Plasma	Trattamento in laboratorio	Carasso (<i>carassius auratus</i>)	(Soverchia <i>et al.</i> 2005)
Invertebrati					
Imposex	TBT and its degradation products dibutyltin (DBT) and monobutyltin (MBT)	Ghiandola digestive e gonadi	Coste Spagna	Gasteropode <i>Bolinus brandaris</i>	Solé <i>et al.</i> , 1998
Imposex	TBT	In toto	Ustica, Castellamare, Palermo	<i>H. trunculus</i> , <i>B. brandaris</i> , <i>Thais haemastoma</i> ,	(Chiavarini <i>et al.</i> , 2003)
Imposex	MBT and DBT	In toto	Mare del Nord	Gasteropodi (<i>Buccinum undatum</i> e <i>Neptunea antiqua</i>)	ten Hallers-Tjabbes <i>et al.</i> , 2003
Imposex	Tributyltin (TBT), Triphenyltin (TPhT), Dibutyltin (DBT), Diphenyltin (DPhT), Monobutyltin (MBT) and Monophenyltin (MPhT).	Contenuto inquinanti in muscolo e visceri	Laguna di Venezia	<i>Hexaplex trunculus</i>	(Pellizzato <i>et al.</i> , 2004)

I riferimenti bibliografici dettagliati sono disponibile su richiesta presso il coordinamento del gruppo di lavoro

ALLEGATO 1.

Incidenza dei fattori “di contorno”: mutamenti demografici, stili di vita, abitudini alimentari

Nell'ambito della “Sorveglianza dell'Esposizione a Interferenti Endocrini” meritano di essere rammentati numerosi fattori che fanno da cornice alle specifiche problematiche analizzate nel documento. Il loro rilievo è sottolineato dalla Commissione europea che ha posto in essere una serie di iniziative concernenti i cambiamenti demografici, la correlazione tra ambiente e salute, la salute pubblica (largo spazio, a tal proposito, è stato dato anche all'influenza aviaria) la sicurezza alimentare nonché il benessere animale. Si riporta, di seguito, una sintesi aggiornata relativa a valutazioni e proposte della U.E.

Cambiamenti demografici

Il 16 marzo 2005, ovvero poco tempo dopo il rilancio della strategia di Lisbona da parte del Consiglio europeo di primavera, la Commissione ha adottato un *libro verde* dal titolo «*Una nuova solidarietà tra le generazioni di fronte ai cambiamenti demografici*» (1). Infatti, l'Unione europea sta subendo mutamenti demografici senza precedenti per ampiezza e conseguenze, frutto di tre fattori: **continuo aumento della durata della vita; aumento del numero di persone ultrasessantenni e persistenza di un debole tasso di natalità**. La Commissione ritiene che tali cambiamenti demografici stiano modellando una nuova società e che, essendo necessario il contributo di tutti per gestire gli stessi, sia opportuno sviluppare solidarietà tra le generazioni. L'Unione dovrebbe quindi perseguire tre obiettivi prioritari: incentivare il restauro della crescita demografica, mirare ad un equilibrio tra le generazioni e inventare nuove transizioni tra le varie età. Attraverso il processo di consultazione avviato dal libro verde, la Commissione intende rilevare le opinioni delle varie parti in causa nell'Unione, al fine di identificare quali politiche pubbliche potrebbero essere elaborate o potenziate, sia a livello dell'Unione che a livello dei singoli Stati. Il Comitato delle regioni, che si è espresso su tale documento nella sessione di novembre, ha sottolineato che il dibattito dovrebbe svolgersi anche a livello regionale e locale. Il Comitato economico e sociale europeo, nella sessione di dicembre, ha ritenuto che, diversamente dalle opportunità a breve termine, le soluzioni a lungo termine dovrebbero essere in grado di modificare gli sviluppi demografici.

Riferimenti generali e link utili

- Iniziative a fini strutturali:
http://europa.eu.int/comm/regional_policy/funds/prord/sf_it.htm
- Fondo sociale europeo:
http://europa.eu.int/comm/employment_social/esf2000/index-en.htm
- Agenda per la politica sociale:
http://europa.eu.int/comm/employment_social/social_policy_agenda/social_pol_ag_en.html
- Relazione congiunta:
http://europa.eu.int/comm/employment_social/employment_strategy/employ_en.htm
- Coordinamento dei regimi di sicurezza sociale:
http://europa.eu.int/comm/employment_social/social_security_schemes/index_en.htm

Ambiente e salute

Nel 2004 la Commissione aveva avviato il «*Piano d'azione europeo per l'ambiente e la salute 2004-2010*» (1). Gli obiettivi di tale piano, che si basa su una cooperazione sistematica e assidua dei settori dell'ambiente, della salute e della ricerca, sono lo studio degli effetti patogeni dell'inquinamento e la ricerca di soluzioni preventive. Questo grande progetto, grazie ad un sistema

di raggruppamento dell'informazione relativa all'ambiente a livello dell'Unione europea, intende ridurre il numero di patologie dovute all'inquinamento ambientale. Esso comprende tredici iniziative, alcune delle quali volte ad ottenere una migliore comprensione della relazione tra ambiente e salute e a stabilire in che modo l'esposizione a fattori ambientali possa produrre conseguenze epidemiologiche. Il piano include attività di ricerca, ad esempio sull'asma e sulle allergie, sui disturbi neurologici dello sviluppo, sul cancro e sui disturbi del sistema endocrino. Esso prevede anche attività di sensibilizzazione ai rischi cui sono esposti i cittadini, nonché la formazione di specialisti ambientali e sanitari. Il piano esamina inoltre la possibilità di istituire una biosorveglianza a livello dell'Unione, al fine di quantificare l'esposizione agli agenti inquinanti presenti nell'ambiente. Già agli inizi del 2005 il Parlamento ha espresso un parere sul piano d'azione di cui sopra. Constatando che solo quattro delle tredici iniziative erano già state oggetto di misure d'attuazione, esso ritiene che il divario fra le ambizioni e i provvedimenti concretamente previsti sia eccessivo. Il Parlamento sottolinea inoltre che il piano d'azione deve assolutamente disporre di fondi adeguati e ribadisce la necessità di prevedere quanto prima un finanziamento ad hoc. Vista l'elevata tossicità per l'essere umano, per gli ecosistemi e per la natura del mercurio e dei suoi composti, la Commissione il 28 gennaio ha adottato una *strategia comunitaria sul mercurio* (2). L'obiettivo essenziale di detta strategia consiste nel ridurre le concentrazioni di mercurio nell'ambiente realizzando all'incirca venti progetti a livello comunitario ed internazionale.

Salute pubblica

In Europa l'alimentazione inappropriata è una delle principali cause dell'*obesità* e di numerose malattie croniche non trasmissibili ed evitabili. Per tale motivo nel 2003 la Commissione aveva auspicato una regolamentazione del settore delle *dichiarazioni nutrizionali* e sanitarie riguardanti i prodotti alimentari (3). Tale normativa subordinerebbe a severe condizioni l'impiego di dichiarazioni nutrizionali quali, ad esempio, «basso contenuto di materie grasse». Quest'anno il Parlamento europeo ha approvato la proposta e il Consiglio ha adottato una posizione comune sull'argomento. Ci si avvicina dunque all'obiettivo della Commissione di autorizzare solo le dichiarazioni chiare per il consumatore, dato che chi commercializza il prodotto deve anche essere in grado di giustificare le affermazioni fatte. La Commissione ha inoltre adottato, in data 8 dicembre 2005, un *libro verde* intitolato «*Promuovere le diete sane e l'attività fisica: una dimensione europea nella prevenzione di sovrappeso, obesità e malattie croniche*» (4). Tale iniziativa intende avviare un dibattito su varie tematiche connesse all'*obesità* in vista di un intervento a livello comunitario che potrebbe completare, sostenere e coordinare i provvedimenti nazionali esistenti. Il 27 luglio (5) la Commissione ha presentato la sua prima relazione sull'applicazione della direttiva sul tabacco (6). L'atto legislativo si inserisce in una politica integrale di *lotta al tabacco* caratterizzata dall'adozione di misure legislative, dal sostegno alle attività di prevenzione e di cessazione del tabagismo su scala europea e dall'integrazione della lotta al tabagismo in una serie di altre politiche comunitarie.

Sicurezza alimentare

Garantire un livello elevato di tutela della salute umana e degli interessi dei consumatori nel settore alimentare, pur tenendo conto della molteplicità dei prodotti e garantendo un funzionamento efficace del mercato interno: su questi principi è fondata la politica comunitaria in materia di sicurezza alimentare. In seguito alla «crisi della mucca pazza» (encefalopatia spongiforme bovina, ESB) della fine degli anni novanta, gli obiettivi della politica comunitaria per la sicurezza alimentare sono stati notevolmente potenziati con il libro bianco del dicembre 2000 (7) e trasformati in linee d'azione in un regolamento adottato nel gennaio 2002 (8). Ogni anno vengono adottate varie misure di protezione della salute degli animali allevati nell'Unione o importati, volte a garantire la sicurezza dei prodotti alimentari da essi derivati. Visto il notevole calo dei casi di ESB,

la Commissione ha elaborato un calendario delle modifiche e delle semplificazioni che potrebbero essere apportate a breve, medio e lungo termine ai provvedimenti comunitari riguardanti tale malattia (9). L'8 giugno il Parlamento europeo e il Consiglio hanno inoltre adottato un regolamento (10) che proroga fino al 1 luglio 2007 l'applicazione delle misure transitorie per la prevenzione e l'eradicazione di talune encefalopatie spongiformi trasmissibili (l'ESB e altre malattie dello stesso tipo che colpiscono ovini e caprini ma non presentano gli stessi rischi per l'essere umano).

Benessere degli animali

Per completare i diversi regimi specifici riguardanti il benessere degli animali, la Commissione ha adottato il 30 maggio una proposta di direttiva che stabilisce norme di protezione dei *polli allevati per la produzione di carne* (11). Tali prescrizioni si basano sull'idea di ridurre al minimo i problemi relativi al benessere degli animali potenziando le procedure di autocontrollo negli allevamenti e integrando indicatori sul benessere dell'animale nell'ispezione *post mortem*. Come per il resto della legislazione comunitaria succitata, si tratta di norme di minima che non impediscono però agli Stati Membri di applicare eventualmente norme più rigorose. L'allargamento dell'Unione ai nuovi Stati Membri ha indotto il legislatore ad aggiornare le norme concernenti gli animali ed i prodotti dell'*acquacoltura*. Infatti, i nuovi Stati Membri portano in ambiente comunitario nuove specie di pesci, crostacei e molluschi. Per tale motivo la Commissione ha adottato una proposta di direttiva e una proposta di decisione volte a consolidare e aggiornare le prescrizioni di polizia sanitaria applicabili agli scambi di prodotti dell'*acquacoltura* (12).

- (1) COM(2004) [416](#).
- (2) COM(2005) [20](#).
- (3) COM(2003) [424](#).
- (4) COM(2005) [637](#).
- (5) COM(2005) [339](#).
- (6) Direttiva 2001/37/CE (GU [L 194](#) del 18.7.2001).
- (7) COM(1999) [719](#).
- (8) Regolamento (CE) n.178/2002 (GU [L 31](#) dell'1.2.2002).
- (9) COM(2005) [322](#).
- (10) Regolamento (CE) n. 932/2005 (GU [L 163](#) del 23.6.2005).
- (11) COM(2005) [221](#).
- (12) COM(2005) [362](#).

Riferimenti dell'Istituto Nazionale di Statistica - ISTAT

L'Istat ha diffuso il 24 maggio 2006 il quattordicesimo Rapporto annuale sulla situazione del Paese: il documento rappresenta il principale strumento di analisi relativo agli aspetti sociali, demografici ed economici della Nazione. Il volume riferisce che gli italiani sono una delle popolazioni più longeve d'Europa con una aspettativa di vita che, nelle Marche, raggiunge il valore massimo pari a 78 anni mentre registra il valore minimo in Campania con 75,7 anni. L'evoluzione della struttura della popolazione italiana residente (valutata per sesso e per età) nel medio/lungo periodo è monitorata dall'ISTAT che definisce uno scenario demografico provvisorio riferito al periodo 2005/2050. Nell'anno in corso vengono diffuse –con apposito calendario- le previsioni ufficiali articolate su base regionale. Le ipotesi evolutive adottate (pur se suscettibili di discostarsi dalle proiezioni definitive) per la simulazione circa le componenti demografiche principali (fecondità, sopravvivenza, migrazioni) costituiscono l'impianto scientifico-metodologico alle previsioni ufficiali. Per queste ultime si suppone un ulteriore miglioramento dei livelli di sopravvivenza rispetto a quanto già rilevato negli ultimi anni. In particolare, nelle simulazioni, la vita media degli uomini cresce da 77,4 anni nel 2005 a 83,6 anni nel 2050; quella delle donne da 83,3 a 88,8.

Anche per la fecondità s'ipotizza un aumento, sia pur contenuto, da 1,3 figli per donna nel 2005 a 1,6 figli per donna nel 2050, nel quadro di un assunto processo di convergenza della fecondità nazionale a quella media dei paesi Ue.

Link utili

<http://www.istat.it>

<http://www.sieds.it/links.html#C>

<http://www.istat.it/popolazione/stranieri/>

Allegato 2.

Progetti di ricerca europei (5° e 6° Programma Quadro) sugli Interferenti Endocrini a coordinamento italiano

(fonte: http://ec.europa.eu/research/endocrine/projects_ongoing_en.html)

<p>SENSPESTI (2003-2005) http://www.biologia.unige.it/falugi/senspesti.html</p>	<p>Tissue engineering of living biosensors to evaluate risks for health by pesticides affecting the cholinergic neurotransmitter system</p>	<p>Participating laboratories: 7 (IT, GB, HU, DE) Prof. Carla FALUGI University of Genova Dipart. Biologia Sperimentale, Ambientale, Applicata (DI.BI.S.A.A.) Viale Benedetto XV, N°5 I-16132 Genova, (Italy) Tel 39-010-3538055; FAX 39-010-353 8047 falugi@unige.it</p>	<p>Investigations on the molecular and functional responses of living cells and developing embryos of simple organisms to cholinergic pesticides, using appropriate</p>
<p>EASYRING (2003-2005) http://www.easyring.org/</p>	<p>Environmental-agent susceptibility assessment utilising existing and novel biomarkers as rapid non-invasive testing methods</p>	<p>Participating laboratories: 8 (IT, NO, DE, BE, GB) Coordinator: Dr. Alberta Mandich Università di Genova Dipartimento di Biologia Sperimentale, Ambientale ed Applicata, V.le Benedetto XV, 5 16132, Genoa, Italy Tel: +39 010 3538046 Fax: + 39 010 3538047 mandich@unige.it</p>	<p>Development of biomarkers for EDs and <i>in vitro</i> test systems; investigate short/long-term and low-level exposure effects of EDC mixtures in low vertebrates and small mammals</p>
<p>EDERA (2003-2005) http://www.edera.unimi.it/index.htm</p>	<p>Development and implementation of new <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> systems for the</p>	<p>Participating laboratories: 5 (IT, CH, SE, IE) Coordinator: Dr Adriana Maggi</p>	<p>Development of <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> testing systems to measure effects of low concentrations of EDC</p>

	characterisation of endocrine disruptors	University of Milan, Centre Milano Molecular Pharmacology Laboratory Via Balzaretti 9 20133 Milan, Italy Tel: +39 02 50318375 Fax: +39 02 50318284 Adriana.Maggi@unimi.it	
CAESAR (2005-2008) Project under negotiation	Computer assisted evaluation of substances according to regulations (Specific targeted research project)	Participating laboratories: 9 (IT, UK, FR, DE, SI, NL) Coordinator: Dr Emilio Benfenati Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" Via Eritrea 62, 20157 Milano, Italy Fax: +39-02-39001916 benfenati@marionegri.it	Produce (Q)SAR models for the prediction of the toxicity of chemical substances. Designed to be used for regulatory purposes, especially for REACH.

Allegato 3.

PANORAMICA DELLA SITUAZIONE NORMATIVA A LIVELLO EUROPEO DI COMPOSTI IDENTIFICATI COME POTENZIALI INTERFERENTI ENDOCRINI.

SOSTANZE CHIMICHE INDUSTRIALI

ALCHILFENOLI (4-ter-ottifenolo))

Restrizioni adottate ai sensi della direttiva 76/769/CEE: nessuna

BISFENOLO A

Restrizioni adottate ai sensi della direttiva 76/769/CEE: nessuna

FTALATI (Butilbenzil-, di(2-etil-esil), di-n-butil

Tipo di restrizione ai sensi della direttiva 76/769: i seguenti **ftalati** sono inseriti nell'allegato I della direttiva 76/769/CEE (elenco delle sostanze sottoposte a restrizioni):

[XX] I seguenti **ftalati** (o altri numeri CAS e EINECS che contengono la sostanza):

ftalato di bis (2-etilesile) (DEHP)

CAS n. 117-81-7

EINECS n. 204-211-0

ftalato di dibutile (DBP)

CAS n. 84-74-2

EINECS n. 201-557-4

ftalato di butilbenzile (BBP)

CAS n. 85-68-7

EINECS n. 201-622-7

Non possono essere utilizzati come sostanze o costituenti di preparati a concentrazioni superiori allo 0,1 % della massa del materiale plastificato nei **giocattoli** e negli **articoli di puericoltura**.
I giocattoli e articoli di puericoltura contenenti tali ftalati in concentrazione superiore al limite summenzionato non possono essere immessi sul mercato.

Provvedimento comunitario adottato: DIRETTIVA 2005/84/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 14 dicembre 2005 che modifica per la ventiduesima volta la direttiva 76/769/CEE del Consiglio concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati Membri relative alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso di talune sostanze e preparati pericolosi (**ftalati nei giocattoli e negli articoli di puericoltura**).

Entrata in vigore della direttiva: Gennaio 2006

Provvedimento nazionale adottato: direttiva non ancora recepita

POLIBROMODIFENILETERI

Tipo di restrizione ai sensi della direttiva 76/769/CEE: le seguenti sostanze sono inserite nell'allegato I della direttiva 76/769/CEE (elenco delle sostanze sottoposte a restrizioni):

difenil etere, derivato pentabromato C ₁₂ H ₅ Br ₅ O	1. Non può essere immesso sul mercato o utilizzato come sostanza o come componente di sostanze o di preparati in concentrazioni superiori allo 0,1 % in massa. 2. Non possono essere immessi sul mercato articoli contenenti tale sostanza, o parti nelle quali se ne fa uso in funzione di ritardante di fiamma, in concentrazioni superiori allo 0,1 % in massa.
difenil etere, derivato octabromato C ₁₂ H ₂ Br ₈ O	1. Non può essere immesso sul mercato o utilizzato come sostanza o come componente di sostanze o di preparati in concentrazioni superiori allo 0,1 % in massa. 2. Non possono essere immessi sul mercato articoli contenenti tale sostanza, o parti nelle quali se ne fa uso in funzione di ritardante di fiamma, in concentrazioni superiori allo 0,1 % in massa.

Provvedimento comunitario adottato: DIRETTIVA 2003/11/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 6 febbraio 2003 recante ventiquattresima modifica della direttiva 76/769/CEE del Consiglio relativa alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso di talune sostanze e preparati pericolosi (**pentabromodifenil etere, ottabromodifenil etere**) **rettificata** con

Rettifica della direttiva 2003/11/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 6 febbraio 2003, recante ventiquattresima modifica della direttiva 76/769/CEE del Consiglio relativa alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso di talune sostanze e preparati pericolosi (**pentabromodifenil etere, ottabromodifenil etere**) (*Gazzetta ufficiale dell'Unione europea L 42 del 15 febbraio 2003*)

Provvedimento nazionale adottato: decreto del Ministro della salute 17 aprile 2003, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana n. 185 dell'11 agosto 2003, concernente il recepimento delle direttive 2001/90/CE, 2001/91/CE e 2003/11/CE, recanti rispettivamente settimo, ottavo adeguamento al progresso tecnico dell'allegato I della direttiva 76/769/CEE e ventiquattresima modifica della direttiva 76/769/CEE relativa alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso di talune sostanze e preparati pericolosi (Creosoto - **Difeniletere pentabromato - Difeniletere octabromato**) Pubblicato nella Gazzetta Ufficiale 11 agosto 2003, n. 185.

Entrata in vigore del provvedimento nazionale: le restrizioni entrano in vigore a partire dal 15 agosto 2004.

PROVVEDIMENTO SUCCESSIVO relativo a **Etere di difenile, derivato pentabromato**

Tipo di restrizione ai sensi della direttiva 76/769: L'allegato I della dir. 76/769/CEE è modificato come segue: Nella seconda colonna del punto 44, intitolata «Etere di difenile, derivato pentabromato C₁₂H₅Br₅O», si aggiunge un nuovo paragrafo 3:
«3. A titolo di deroga, fino al 31 marzo 2006, le disposizioni dei paragrafi 1 e 2 non si applicano ai sistemi di evacuazione d'emergenza dei mezzi aerei.»

Provvedimento comunitario adottato: DIRETTIVA 2004/98/CE DELLA COMMISSIONE del 30 settembre 2004 recante modifica della direttiva 76/769/CEE del Consiglio relativa alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso **dell'etere di pentabromodifenile** nei sistemi di evacuazione d'emergenza dei mezzi aerei allo scopo di adattarne l'allegato I al progresso tecnico (*Gazzetta ufficiale dell'Unione europea L 305/63 del 1.10.2004*)

Provvedimento nazionale adottato: DECRETO del Ministero Della Salute del 18 ottobre 2005 Recepimento della direttiva 2004/98/CE, recante **adeguamento** al progresso tecnico dell'allegato 1 della direttiva 76/769/CEE, relativa alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso **dell'etere di pentabromodifenile** nei sistemi di evacuazione d'emergenza dei mezzi aerei. Gazzetta Ufficiale N. 20 del 25 Gennaio 2006

Entrata in vigore del provvedimento nazionale: Le disposizioni si applicano a decorrere dal 25 gennaio 2006.

PERFLUOROCTANI (PFOS)

Tipo di restrizione ai sensi della direttiva 76/769/CEE: la seguente sostanza è inserita nell'allegato I della direttiva 76/769/CEE (elenco delle sostanze sottoposte a restrizioni):

<p>"[XX]. perfluorottano sulfonati C₈F₁₇SO₂X (X = OH, sale metallico, alogenuro, ammidi, e altri derivati compresi i polimeri)</p>	<p>(1) Non possono essere immessi sul mercato o utilizzati come sostanza o componente di preparati in concentrazione pari o superiore allo 0,1% della massa. (2) Non possono essere immessi sul mercato in prodotti o parti dei medesimi in concentrazione pari o superiore allo 0,1% della massa" (3) A titolo di deroga i paragrafi 1 e 2 non si applicano: - ai fotoresist o ai rivestimenti antiriflesso utilizzati per processi fotolitografici - ai rivestimenti nel settore della fotografia industriale, applicati a pellicole, carte o lastre di stampa - agli abbattitori di nebbie e aerosol per la cromatura - ai fluidi idraulici per l'aviazione - alle schiume antincendio - ai sistemi chiusi controllati nei quali la concentrazione di PFOS rilasciati nell'ambiente è inferiore a 1 µg per kg e nei quali tale rilascio corrisponde a meno dello 0,1% della massa di PFOS utilizzati nel sistema.</p>
--	--

Provvedimento comunitario adottato: **Proposta** di DIRETTIVA DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO relativa alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso dei **perfluorottano sulfonati** (modifica della direttiva 76/769/CEE del Consiglio) Bruxelles, 5.12.2005 COM(2005) 618 definitivo).

TRIBUTILSTAGNO/OSSIDO (TBT/TBTO)	
Tipo di restrizione ai sensi della direttiva 76/769/CEE: i composti organostannici sono inseriti nell'allegato I alla direttiva 76/769/CEE (elenco delle sostanze sottoposte a restrizioni)	
Composti organostannici	<p>1. Non possono essere immessi nel mercato per essere utilizzati come sostanze e costituenti di preparazioni da utilizzare con funzioni di biocidi in vernici ad associazione libera.</p> <p>2. Non possono essere immessi nel mercato o utilizzati come sostanze e costituenti di preparazioni che abbiano funzione di biocidi per impedire la formazione di incrostazioni di microrganismi, piante o animali su:</p> <p>a) imbarcazioni di qualsiasi lunghezza da utilizzare per la navigazione marittima, costiera, estuariale, interna o lacustre;</p> <p>b) gabbie, galleggianti, reti e qualsiasi altra apparecchiatura o impianto utilizzato nella piscicoltura e nella molluschicoltura;</p> <p>c) qualsiasi apparecchiatura o impianto parzialmente o totalmente sommerso.</p> <p>3. Non possono essere utilizzati come sostanze o costituenti di preparazioni da impiegare nel trattamento delle acque industriali.</p>
Provvedimento comunitario adottato: DIRETTIVA 2002/62/CE DELLA COMMISSIONE del 9 luglio 2002 che adegua al progresso tecnico per la nona volta l'allegato I alla direttiva 76/769/CEE del Consiglio concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati Membri relative alle restrizioni in materia di ammissione sul mercato e di uso di talune sostanze e preparati pericolosi (composti organostannici) (<i>pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale L 183/58 del 12.7.2002</i>)	
Provvedimento nazionale adottato: DECRETO 11 febbraio 2003 Recepimento della direttiva 2002/62/CE, recante nono adeguamento al progresso tecnico dell'allegato I della direttiva 76/769/CEE del Consiglio del 27 luglio 1976, relativa alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso di talune sostanze e preparati pericolosi: composti organostannici su Gazzetta Ufficiale N. 111 del 15 Maggio 2003	
Data di entrata in vigore del provvedimento nazionale: a decorrere dall'11 febbraio 2003 nessun produttore o importatore può immettere sul mercato prodotti che non siano conformi alle prescrizioni del decreto	

ESACLOROBENZENE	
Tipo di restrizione ai sensi della direttiva 76/769/CEE: Restrizioni all'immissione su mercato di sostanze e preparati contenenti sostanze cancerogene l'esaclorobenzene compare nell'allegato in quanto sostanza cancerogena di categoria 2 .	
Provvedimento comunitario adottato: Direttiva 94/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 20 dicembre 1994 recante quattordicesima modifica della direttiva 76/769/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati Membri relative alla limitazione dell'immissione sul mercato e dell'uso di talune sostanze e preparati pericolosi Gazzetta ufficiale n. L 365 del 31/12/1994	
Provvedimento nazionale adottato: decreto del Ministro della sanità 12 agosto 1998, pubblicato nel supplemento ordinario alla Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana n. 14 del 13 gennaio 1999, concernente il recepimento della direttiva 94/60/CE recante 14ma modifica della direttiva 76/769/CEE (Pubblicato nella Gazz. Uff. 18 gennaio 1999, n. 13, S.O.)	
Data di entrata in vigore del provvedimento nazionale: le restrizioni entrano in vigore dal 1° marzo 1999	

POLICLOROBIFENILI (non diossina-simili)

Tipo di restrizione ai sensi della direttiva 76/769/CEE: Divieto di commercializzazione di PCB e PCT.

1. - **Difenili policlorurati (PCB)**, ad eccezione dei difenili mono e diclorurati

Non sono ammessi, i preparati, inclusi gli oli usati, la cui percentuale in PCB o in PCT supera lo 0,01 % in peso.. Tuttavia sono ammesse le seguenti categorie alle condizioni qui di seguito indicate:
1. al massimo fino al 30 giugno 1986: apparecchi elettrici a sistema chiuso; trasformatori, resistenze e induttanze;
2. al massimo fino al 30 giugno 1986: grandi condensatori (1 kg di peso totale); 3. al massimo fino al 30 giugno 1986: piccoli condensatori (purché la percentuale massima di cloro dei PCB sia del 43 % e che essi non contengano più del 3,5 % di difenili pentaclorurati o di difenili maggiormente clorurati); // // 4. al massimo fino al 30 giugno 1986: fluidi termovettori negli impianti caloriferi a sistema chiuso; // // 5. al massimo fino al 30 giugno 1986: fluidi idraulici per l'equipaggiamento sotterraneo delle miniere; // // - L'uso degli apparecchi, impianti e fluidi indicati ai punti da 1 a 5, in esercizio alla data del 30 giugno 1986, continua a essere consentito sino alla loro eliminazione o sino al termine della loro durata operativa. // // - Gli Stati Membri possono tuttavia, per motivi di protezione della salute e dell'ambiente, vietare nel loro territorio l'uso di tali apparecchi, impianti e fluidi prima della loro eliminazione o del termine della loro durata operativa. // // - L'immissione sul mercato d'occasione di tali apparecchi, impianti e fluidi non destinati all'eliminazione è vietata dal 30 giugno 1986. // // - Gli Stati Membri, qualora non ritengano possibile, per ragioni tecniche, utilizzare prodotti di sostituzione, possono continuare ad autorizzare l'uso dei PCB, dei PCT e dei loro preparati, quando queste sostanze siano destinate unicamente, in condizioni normali di manutenzione del materiale, a completare il livello dei liquidi contenenti PCB in impianti esistenti in buono stato di esercizio e acquistati prima dell'entrata in vigore della presente direttiva; // // 6. al massimo fino al 30 giugno 1986: prodotti di base e prodotti intermedi destinati a essere trasformati in altri prodotti non soggetti al divieto della direttiva 76/769/CEE e delle direttive che ne hanno recato successiva modifica; oltre la data del 30 giugno 1986, gli Stati Membri, a condizione che abbiano previamente inviato una notifica motivata alla Commissione, possono accordare deroghe al divieto di immissione sul mercato e di utilizzazione di questi prodotti di base e prodotti intermedi, sempreché ritengano che tali deroghe non abbiano conseguenze pericolose per la salute e per l'ambiente. // //

Provvedimento comunitario adottato: Direttiva 85/467/CEE del Consiglio del 1o ottobre 1985 recante sesta modifica (PCB/PCT) della direttiva 76/769/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati Membri relative alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso di talune sostanze e preparati pericolosi (*Gazzetta ufficiale n. L 269 del 11/10/1985 pag. 0056 – 0058*)

Provvedimento nazionale adottato: D.P.R. 24 maggio 1988, n. 216 Attuazione della direttiva 85/467/CEE, recante modifica della direttiva 76/769/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati Membri relativi alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso di talune sostanze e preparati pericolosi, ai sensi dell'art. 15 della L. 183/87 (*Suppl. ord. N. 55 G.U. 20 giugno 1988, n. 143*).

PRODOTTI FITOSANITARI

DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano) (insetticida)

- 1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **NO**
- 2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia **NO**
- 3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
DDT (insetticida)	Frutta..... Ortaggi..... Legumi da granella..... Semi oleaginosi..... Patate..... Tè..... Luppolo..... Cereali..... Erbe aromatiche ed infusionali (essiccati commerciali)..... Caffè (crudo).....	<u>0,05*</u> <u>0,05*</u> <u>0,05*</u> <u>0,05*</u> <u>0,05*</u> <u>0,2</u> <u>0,05*</u> <u>0,05*</u> 1 0,1	Sostanza attiva non ammessa nei prodotti fitosanitari Somma di p,p'-DDT, o, p'-DDT, p,p'-DDE e p,p'-TDE (DDD), espressa come DDT.

ETRIDIAZOLO (fungicida)1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **NO**2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
ETRIDIAZOLO (fungicida)	Fragole Ortaggi	0,05 0,05	

FENARIMOL (fungicida)1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **NO**2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
---	--------------------------------------	---------------------	------

FENARIMOL (fungicida)	Pomacee, uve, fragole, banane	<u>0,3</u>	
	<u>0,5</u>	
	Albicocche, pesche	<u>1</u>	
	<u>0,1</u>	
	Ciliegie, ribes a grappoli, uva spina.....	<u>0,02*</u>	
	Lamponi	<u>0,5</u>	
	<u>0,2</u>	
	Altra frutta	<u>0,05</u>	
	<u>0,02*</u>	
	Pomodori, peperoni	<u>0,02*</u>	
	<u>0,02*</u>	
	Cucurbitacee con buccia commestibile	<u>0,02*</u>	
	..	<u>0,05*</u>	
	Cucurbitacee con buccia non commestibile	<u>5</u>	
	<u>0,02*</u>	
	Altri ortaggi		
		
	Legumi da granella		
		
	Semi oleaginosi		
.....			
Patate			
Tè.....			
Luppolo			
.....			
Cereali			
.....			

IMAZALIL (fungicida)

1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE:

SI

EUR-Lex 31997L0073

Direttiva 97/73/CE della Commissione del 15 dicembre 1997 recante iscrizione di una sostanza attiva (Imazalil) nell'allegato I della direttiva 91/414/CEE del Consiglio sull'immissione in commercio dei prodotti fitosanitari (Testo rilevante ai fini del SEE)

DIRETTIVE E DECISIONI	RECEPIMENTO NAZIONALE	TERMINE PER L'ADEGUAMENTO DA PARTE DELLE IMPRESE DEI PRODOTTI REGISTRATI (FASE I)	TERMINE PER LA PRESENTAZIONE DELL' ALLEGATO III SUL FORMULATO MONOCOMPOSTO (FASE II)	TERMINE PER L'ADEGUAMENTO DA PARTE DELL'UFFICIO DELLE REG.NI (FASE II)
DIRETTIVA 97/73/CE	DM 16.12.1998 (G.U. N.69 DEL 24.03.1999)	31/01/1999	30/06/2002	01/01/2003

2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
IMAZALIL (fungicida)	Agrumi, pomacee	<u>5</u>	
	Banane	<u>2</u>	
	Altra frutta	<u>0,02*</u>	
	Pomodori	<u>0,5</u>	
	<u>0,2</u>	
	Cucurbitacee con buccia commestibile...	<u>2</u>	
	Meloni	<u>0,02*</u>	
	Altri ortaggi	<u>0,02*</u>	
	Legumi da granella	<u>0,02*</u>	
	Semi oleaginosi	<u>0,02*</u>	
	Patate novelle	<u>5</u>	
	Patate tardive	<u>0,1*</u>	
	Tè	<u>0,1*</u>	
Luppolo	<u>0,02*</u>		
Cereali			

LINURON (diserbante)

1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE:

SI

EUR-Lex 32003L0031 Direttiva 2003/31/CE della Commissione, dell'11 aprile 2003, che modifica la direttiva 91/414/CEE del Consiglio con l'iscrizione delle sostanze attive 2,4-DB, beta-ciflutrin, ciflutrin, iprodione, linuron, idrazide maleica e pendimetalin (Testo rilevante ai fini del SEE) <i>Gazzetta ufficiale n. L 101 del 23/04/2003 pag. 0003 – 0009</i>				
DIRETTIVE E DECISIONI	RECEPIMENTO NAZIONALE	TERMINE PER L'ADEGUAMENTO DA PARTE DELLE IMPRESE DEI PRODOTTI REGISTRATI (FASE I)	TERMINE PER LA PRESENTAZIONE DELL' ALLEGATO III SUL FORMULATO MONOCOMPOSTO (FASE II)	TERMINE PER L'ADEGUAMENTO DA PARTE DELL'UFFICIO DELLE REG.NI (FASE II)
DIR. 2003/31/CE DELL'11.04.2003	DM 20/06/03 (GU N. 219 del 20/09/2003)	01/01/2004	30/06/2006	31/12/2007

2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia:

SI

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
LINURON (diserbante)	<u>Valori in vigore fino al 3.6.2005:</u>		
	Carote, rape, fagioli senza baccello, fagiolini, asparagi, sedani, finocchi, carciofi	0,05	
	Semi di soia e di girasole	0,05	
	Patate	0,05	
	Frumento, orzo, segale, mais	0,05	
	<u>Valori in vigore dal 4.6.2005:</u>		Limiti massimi comunitari provvisori

	Frutta	<u>0,05*</u>	
		
	Carote, pastinaca, prezzemolo a grossa radice	<u>0,2</u>	
	<u>0,5</u>	
	Sedani rapa	<u>1</u>	
	Prezzemolo, foglie di sedano		
	Fagioli senza baccello, piselli senza baccello, sedani	<u>0,1</u>	
	<u>0,05*</u>	
	Altri ortaggi	<u>0,05*</u>	
	<u>0,1*</u>	
	Legumi da granella	<u>0,05*</u>	
	Semi oleaginosi	<u>0,1*</u>	
	Patate	<u>0,1*</u>	
	<u>0,05*</u>	
	Tè		
		
	Luppolo		
		
	Cereali		
		

MANCOZEB (fungicida)

1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **SI**

EUR-Lex 32005L0072

Direttiva 2005/72/CE della Commissione, del 21 Ottobre 2005, che modifica la direttiva 91/414/EEC del Consiglio con l'iscrizione delle sostanze attive chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, mancozeb, maneb, e metiram (Testo rilevante ai fini del SEE)

2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
---	--------------------------------------	---------------------	------

MANCOZEB (fungicida)	Agrumi, ribes a grappoli, uva spina, olive.....	<u>5</u>	Somma di mancozeb, maneb, metiram, propineb e zineb, espressa come CS2. (1) Valore derivante da componenti naturali nella matrice che interferiscono nel metodo ufficiale basato sulla determinazione del CS2 (2) Somma di mancozeb, maneb, metiram, propineb, zineb, metam sodium, ziram
	Frutta a guscio	<u>0,1*</u>	
	Pomacee	<u>3</u>	
	Albicocche, pesche, uve da tavola e da vino, fragole.....	<u>2</u>	
	Ciliegie, prugne	<u>1</u>	
	Altra frutta	<u>0,05*</u>	
	Carote, sedani rapa, salsefrica, witloof.....	<u>0,2</u>	
	Ravanelli, solanacee (esclusi i pomodori), cetriolini, zucchine, cavoli ricci	<u>2</u>	
	Agli, cipolle, scalogni, cetrioli, cucurbitacee con buccia non commestibile, cavoli a foglia (esclusi cavoli ricci), sedani.....		
	Cipolline, cavoli ad infiorescenza, cavoli a testa, fagioli con baccello, piselli con baccello.....	<u>0,5</u>	
	Pomodori, porri	<u>1</u>	
	Cavoli rapa, fagioli senza baccello, piselli senza baccello.....	<u>3</u>	
	Lattughe e simili, erbe fresche.....	<u>0,1</u>	
	Crescione acquatico	<u>5</u>	
	Altri ortaggi	<u>0,3</u>	
	Legumi da granella	<u>0,05*</u>	
	Semi di colza	<u>0,05*</u>	
	Altri semi oleaginosi	<u>0,5</u>	
	Patate	<u>0,1*</u>	
	Tè	<u>0,1</u>	
	Luppolo	<u>0,1*</u>	
	Capperi	<u>25</u>	
	Orzo, avena	25(1)	
	Frumento, segale	<u>2</u>	
	Altri cereali	<u>1</u>	
	Barbabietola da zucchero	<u>0,05*</u>	
Tabacco (fresco)	<u>2</u>		
Tabacco (essiccato commerciale)	2(2) 10(2)		

MANEB (fungicida)

1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **SI**

EUR-Lex 32005L0072

Direttiva 2005/72/CE della Commissione, del 21 Ottobre 2005, che modifica la direttiva 91/414/EEC del Consiglio con l'iscrizione delle sostanze attive chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, mancozeb, maneb, e metiram (Testo rilevante ai fini del SEE)

2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
MANEB (fungicida)	Vedere MANCOZEB		Somma di mancozeb, maneb, metiram, propineb e zineb, espressa come CS2.

METOSSICLORO (insetticida)

1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **NO**

2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **NO**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
---	--------------------------------------	---------------------	------

METOSSICLORO (insetticida)	Frutta	<u>0,01</u> *	Sostanza attiva non ammessa nei prodotti fitosanitari
	<u>0,01</u> *	
	Ortaggi	<u>0,01</u> *	
	<u>0,01</u> *	
	Legumi da granella	<u>0,01</u> *	
	<u>0,1</u> *	
	Semi oleaginosi	<u>0,1</u> *	
	<u>0,01</u> *	
	Patate		
	Tè		
Luppolo			
.....			
Cereali			
.....			

MICLOBUTANIL (fungicida)

1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **NO**

2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
---	--------------------------------------	---------------------	------

MICLOBUTANIL (fungicida)	Agrumi	<u>3</u>	
	<u>0,05*</u>	
	Frutta a guscio	<u>0,5</u>	
	<u>0,3</u>	
	Pomacee, pesche, prugne		
	Albicocche		
	<u>1</u>	
	Ciliegie, uve da tavola e da vino, fragole, more, lamponi, ribes a grappoli, uva spina	<u>2</u>	
	<u>0,02*</u>	
	Banane		
	<u>0,2</u>	
	Altra frutta	<u>0,3</u>	
	<u>0,5</u>	
	Carote, rafani, pastinache, prezzemolo a grossa radice, cucurbitacee con buccia non commestibile	<u>0,1</u>	
	<u>5</u>	
	Pomodori, melanzane	<u>0,02*</u>	
	Peperoni, carciofi	<u>0,05*</u>	
	<u>0,02*</u>	
	Cucurbitacee con buccia commestibile...	<u>0,05*</u>	
	Dolcetta	<u>2</u>	
	<u>0,02*</u>	
	Altri ortaggi	<u>0,1</u>	
		
Legumi da granella			
.....			
Semi oleaginosi			
.....			
Patate			
.....			
Tè			
.....			
Luppolo			
.....			
Cereali			
.....			
Vino			
.....			

PENCONAZOLO (fungicida)1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **NO**2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
PENCONAZOLO (fungicida)	Pomacee, uve da tavola e da vino	<u>0,2</u>	
	Albicocche, pesche	<u>0,1</u>	
	Ribes a grappoli	<u>0,5</u>	
	Altra frutta	<u>0,05*</u>	
	Cucurbitacee con buccia non commestibile	<u>0,1</u>	
	Carciofi.....	<u>0,2</u>	
	Altri ortaggi.....	<u>0,05*</u>	
	Legumi da granella.....	<u>0,05*</u>	
	Semi oleaginosi.....	<u>0,05*</u>	
	Patate.....	<u>0,05*</u>	
	Tè.....	<u>0,1*</u>	
	Luppolo.....	<u>0,5</u>	
	Cereali.....	<u>0,05*</u>	
	Tabacco.....	0,5	

PROCIMIDONE (fungicida)1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **NO**2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
PROCIMIDONE (fungicida)	Frutta a guscio	<u>0,05</u>	
	Pere	<u>1</u>	
	Drupacee (escluso le ciliegie)	<u>2</u>	
	Uve, fragole, actinidie	<u>5</u>	
	Lamponi	<u>10</u>	
	Altra frutta	<u>0,02*</u>	
	Agli, cipolle, scalogni	<u>0,2</u>	
	Solanacee, witloof, fagioli con baccello..	<u>2</u>	
	Cucurbitacee, piselli con baccello	<u>1</u>	
	Lattughe e simili	<u>5</u>	
	Piselli senza baccello	<u>0,3</u>	
	Altri ortaggi	<u>0,02*</u>	
	Piselli da granella	<u>0,2</u>	
	Altri legumi da granella	<u>0,02*</u>	
	Semi di girasole (con guscio), di colza e di soia	<u>1</u>	
	Altri semi oleaginosi	<u>0,05*</u>	
	Patate	<u>0,02*</u>	
	Tè	<u>0,1*</u>	
	Luppolo	<u>0,1*</u>	
	Cereali	<u>0,02*</u>	
Tabacco (fresco)	0,1		
Tabacco (essiccato commerciale)	0,5		
Vino	0,5		
Olio di girasole e di colza	1		

PROPICONAZOLO (fungicida)

1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **SI**

EUR-Lex 32003L0070

Direttiva 2003/70/CE della Commissione, del 17 luglio 2003, che modifica la direttiva 91/414/CEE del Consiglio con l'iscrizione delle sostanze attive mecoprop, mecoprop-P e propiconazolo (Testo rilevante ai fini del SEE)

DIRETTIVE E DECISIONI	RECEPIMENTO NAZIONALE	TERMINE PER L'ADEGUAMENTO DA PARTE DELLE IMPRESE DEI PRODOTTI REGISTRATI (FASE I)	TERMINE PER LA PRESENTAZIONE DELL' ALLEGATO III SUL FORMULATO MONOCOMPOSTO (FASE II)	TERMINE PER L'ADEGUAMENTO DA PARTE DELL'UFFICIO DELLE REG.NI (FASE II)
DIRETTIVA 2003/70/CE DEL 17.07.2003	DM 26/11/03 (G.U.N.30 DEL 06/02/2004)	01/06/2004	30/11/2006	31/05/2008

2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
PROPICONAZOLO (fungicida)	Albicocche, pesche	<u>0,2</u>	
	Uve	<u>0,5</u>	
	<u>0,1</u>	
	Banane	<u>0,05*</u>	
	<u>0,05*</u>	
	Altra frutta	<u>0,05*</u>	
	<u>0,05*</u>	
	Ortaggi	<u>0,05*</u>	
	<u>0,1*</u>	
	Legumi da granella	<u>0,1*</u>	
Semi oleaginosi	<u>0,05*</u>		
Patate	0,05		
.....			
Tè			
.....			
Luppolo			
.....			

	Cereali Barbabietole da zucchero		
--	--	--	--

TEBUCONAZOLO (fungicida)

1) Iscrizione in allegato I della Direttiva n.91/414/CEE: **NO**

2) Sostanza presente in prodotti autorizzati in Italia: **SI**

3) Limiti massimi di residui ammessi sui prodotti vegetali:

Denominazione sostanza attiva e principale attività fitoiatrica	Prodotti destinati all'alimentazione	LMR in mg/Kg (=ppm)	Note
TEBUCONAZOLO (fungicida)	Frutta a guscio	0,05	
	Mele, pere	1	
	Albicocche, ciliegie, pesche, prugne	0,5	
	Uve	1	
	Pomodori	0,5	
	Peperoni, carciofi	0,5	
	Cetrioli, zucchine.....	0,05	
	Asparagi	0,2	
	0,05	
	Meloni, cocomeri	2	
	Frumento, segale	0,5	
	Orzo, avena		
	Vino		

ALLEGATO 4.

Parere formulato dal Gruppo di Lavoro, su invito del Ministero dell’Ambiente, sulla eventuale inclusione in *Annex I* di due composti ad uso fitosanitario, Procimidone e Fenarimol, in discussione a livello Europeo anche per i possibili effetti endocrini.

Il *procimidone* (N-(3,5-diclorofenil)1,2-dimetilciclopropano-1,2-dicarbossimide), è un fungicida il cui utilizzo è autorizzato in Italia per il trattamento sia del terreno che della coltura prima e dopo il raccolto (spray) e per derrate alimentari immagazzinate (actinidia). Nella Tabella 1 sono riportati i limiti massimi dei residui ammessi sulla base del Decreto Ministeriale 27 agosto 2004

Tabella 1. Limiti massimi residui di procimidone

Prodotto	LMR in mg/Kg (= ppm)
Frutta a guscio	0,05
Pere	1
Drupacee (escluso le ciliegie)	2
Uve, fragole, actinidie	5
Lamponi	10
Altra frutta	0,02*
Agli, cipolle, scalogni	0,2
Solanacee, witloof, fagioli con baccello	2
Cucurbitacee, piselli con baccello	1
Lattughe e simili	5
Piselli senza baccello	0,3
Altri ortaggi	0,02*
Piselli da granella	0,2
Altri legumi da granella	0,02*
Semi di girasole (con guscio), di colza e di soia	1
Altri semi oleaginosi	0,05*
Patate	0,02*
Tè	0,1*
Luppolo	0,1*
Cereali	0,02*
Tabacco (fresco)	0,1
Tabacco (essiccato commerciale)	0,5
Vino	0,5
Olio di girasole e di colza	1

* Indica il limite inferiore convenzionale di determinazione analitica.

Per la vite, il procimidone costituisce uno dei trattamenti di elezione ed è anche la molecola riscontrata in maggior concentrazione, a parità di trattamento, sul frutto fresco e disidratato. Bisogna, tuttavia, sottolineare che nell’uva passa il procimidone, al contrario di altri composti, non è concentrato dal processo di essiccamento e, anzi, il lavaggio richiesto prima dell’essiccamento in forno, riduce del 40% la contaminazione (Cabras e Angioni, 2000).

Nel vino, i residui di procimidone si concentrano in gran quantità nel sedimento e solo una piccola percentuale passa nella bevanda (Cabras e Angioni, 2000).

Nel mercato ortofrutticolo di Bologna (CAAB), il secondo per grandezza in Italia, le derrate alimentari con residui di procimidone sono riscontrate spesso e rappresentano il tipo di contaminazione più diffuso (Figure 1 e 2) specialmente per quanto riguarda le fragole e i peperoni (A. Colacci e L. Prete, articolo in preparazione).

Negli alimenti di origine animale i limiti massimi (0.05 mg/kg nelle carni, latte o uova fresche) sono considerati come somma di iprodione, vinclozolin e di tutti i metaboliti contenenti la frazione 3,5-dicloroanilina.

Nel 1994 negli USA sono stati proposti limiti massimi tollerabili di procimidone nell'uva e nei prodotti derivati di 5 ppm basandosi su una rassegna della letteratura allora esistente che portava a una classificazione del procimidone, da parte di EPA, come cancerogeno B2. E', comunque, interessante notare che negli studi di cancerogenesi condotti nei ratti, si nota una spiccata preferenzialità d'organo. Ratti esposti a una assunzione cronica di procimidone attraverso la dieta (0, 100, 300, 1,000, and 2,000 ppm) per 104 settimane hanno sviluppato un incremento dell'incidenza tumorale, correlata con la dose, delle cellule interstiziali del testicolo, un incremento di iperplasia ovarica e di adenomi ipofisari nelle femmine e citomegalia epatica in entrambi i sessi. Una RfD di 0.035 mg/kg/day è stata ricavata da studi di tossicità riproduttiva e dello sviluppo nei ratti, basata su un NOEL di 3,5 mg/kg/giorno per tossicità dello sviluppo indotta per assunzione orale di procimidone. Il NOEL per la tossicità riproduttiva è di 12.5 mg/kg/giorno basato su effetti di tossicità materno-fetale indotti da dosi uguali o superiori a 125 mg/kg/giorno.

Procimidone non è risultato in grado di indurre mutagenesi nel test di Ames, o di indurre sintesi non programmata di DNA. Induce invece un incremento significativo della trasformazione cellulare in cellule BALB/c 3T3 (Perocco et al. 1993)

Negli ultimi anni, tuttavia, è andata accumulandosi una ricca letteratura sulla capacità del procimidone di indurre effetti teratogeni in animali da esperimento e di esplicare attività antiandrogena in diversi modelli in vivo e in vitro, mediante inibizione dell'attivazione di geni mediati dal recettore per gli androgeni.

Il trattamento perinatale con procimidone riduce la distanza ano-genitale nei maschi, induce retrazione dei capezzoli, ipospadia, fallo bifido, tasca vaginale e riduzione della grandezza delle ghiandole sessuali accessorie (Gray et al., 2001). Anche l'istologia della prostata dorsolaterale e ventrale e delle vescicole seminali è fortemente influenzata dall'esposizione a procimidone che induce fibrosi, infiltrazione cellulare e iperplasia epiteliale (Ostby et al., 1999)

Nel modello Hershberger, il test nel roditore raccomandato da OECD per la caratterizzazione dei composti con attività androgena o anti-androgena, il procimidone incrementa del 122% il peso delle ghiandole surrenali alla dose più alta saggiata (100 mg/kg/g) e diminuisce significativamente il peso delle vescicole seminali e della ghiandola prostatica ventrale anche alle dosi più basse (25 mg/kg/g). Anche tutti gli altri marcatori considerati nel test (muscoli bulbocavernosi e elevatori, glande, ghiandole bulbouretrali) risultano influenzati dal trattamento con procimidone, in relazione alla dose utilizzata (25 mg/kg/g, 50 mg/kg/g, 100 mg/kg/g) (Kang et al., 2004). L'efficacia del procimidone in questo test è stata quasi analoga a quella del controllo positivo rappresentato da flutamide e più elevata degli altri pesticidi saggiati (vinclozolin, linuron, p,p'-DDE) (Kang et al., 2004).

Le dosi che determinano effetti correlati all'attività di interferenza endocrina sono molto più basse di quelle evidenziate nei test di tossicità riproduttiva e sulle quali sono state calcolati gli indici di NOEL e RfD e inducono a una riconsiderazione dei limiti massimi tollerabili in alimenti di largo consumo come fragole, uva e kiwi.

Un ulteriore elemento di preoccupazione è rappresentato dalla co-presenza di più residui con attività di interferenza endocrina nella stessa matrice alimentare. E' stato recentemente dimostrato che la combinazione di 11 molecole, presenti a concentrazioni di per sé inattive, induce effetti additivi sull'attività del 17beta-estradiolo sul recettore alfa (Rajapakse et al., 2002). Il procimidone è frequentemente riscontrato in combinazione con altri residui, specialmente con vinclozolin. Gli effetti combinati di procimidone e vinclozolin sono stati dimostrati sia in vitro, in cellule CHO trasfettate con il recettore per gli androgeni, sia in vivo in ratti castrati trattati con testosterone. A parità di dose (100 mg/kg), vinclozolin ha un effetto leggermente superiore al procimidone sui parametri considerati nel test in vivo (peso prostata ventrale, vescicole seminali, muscoli bulbocavernosi elevatori e ghiandole bulbouretrali). Gli stessi effetti sono indotti dalla combinazione delle due molecole alla dose di 25 mg/kg (Nellemann et al, 2003).

La dimostrata attività antiandrogena del procimidone ha indotto l' Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA) a restringere l'utilizzo del procimidone, cancellando le registrazioni esistenti e suggerendo possibili alternative (Tabella 2).

Tabella 2. Alternative proposte da APVMA all'uso di procimidone

Usi da eliminare	Alternative
Drupacee e agrumi (<i>Monilinia fructicola</i>)	carbendazim, chlorothalonil, cyprodinil, dithianon, iprodione, mancozeb, propiconazolo, thiram, triforine, ziram.
Uva (muffa grigia, <i>Botrytis cinerea</i>)	captan, carbendazim, iprodione, cyprodinil, fludioxonil.
Vite (muffa grigia, <i>Botrytis cinerea</i>)	Perossido di idrogeno, acido perossiacetico, peroxyacetic acid, pyrimethanil
Lattuga (muffa grigia, <i>Botrytis cinerea</i>) (sclerotinia o muffa bianca)	iprodione, thiram
Fragole (muffa grigia, <i>Botrytis cinerea</i>)	captan, carbendazim, copper, fenhexamid, iprodione, pyrimethanil, thiram, tolyfluanid
Pomodoro (muffa grigia, <i>Botrytis cinerea</i>) (sclerotinia o muffa bianca)	chlorothalonil, guazatina, iprodione
Fagioli (sclerotinia o muffa bianca)	Nessuna alternativa registrata

La US-EPA ha avviato una revisione del procimidone, con richiesta di presentazione di pareri e commenti. L'uso di questo composto non è registrato negli Stati Uniti e Canada, ma sono stati fissati limiti per consentire l'importazione di derrate alimentari dall'estero.

Bibliografia

- Cabras P. e Angioni A. *J. Agric. Food Chem.* 48: 967-973, 2000
- Gray LE, Ostby J, Furr J, Wolf CJ, Lambright C, Parks L, Veeramachaneni DN, Wilson V, Price M, Hotchkiss A, Orlando E, Guillette L *Hum Reprod Update.* 7: 248-264, 2001
- Ostby et al., 1999
- Kang I H, Kim H.S., Shin J-H, Kim T S , Moon H J, Kim I Y, Choi K S , Kil K S, Park Y I, Dong M S, Han S Y *Toxicology* 199: 145-159, 2004
- Nellemann C, Dalgaard M., Rye Lam H, Vinggaard AM *Toxicol. Sci.* 71: 251 .262 , 2003
- Ostby J, Kelce WR, Lambright C, Wolf CJ, Mann P, Gray LE Jr. *Toxicol Ind Health.* 15: 80-93, 1999.
- Perocco P., Colacci A., Grilli S. *Env Mol Mut.* 21: 81-86 1993
- Rajapakse,N.,Silva,E.,and Kortenkamp,A. *Environ.Health Perspect.* 110: 917 .921, 2002

Conclusioni

Le evidenze scientifiche indicano chiaramente che il *Procimidone* è un antiandrogeno e che tale effetto è critico per la valutazione del rischio, ciò si verifica a livelli di dose pi bassi rispetto ad eventuali altri effetti; inoltre l'organismo in via di sviluppo è chiaramente più suscettibile (v. RfD proposta da U.S. E.P.A.).

Ciò è confermato dal fatto che il *Procimidone* è stato usato a livello internazionale (OECD) come composto sicuramente positivo per la validazione del test di Hershberger come screening *in vivo* per la identificazione di sostanze che interagiscono con l'attività del recettore androgeno.

Queste sono caratteristiche tipiche di un composto in categoria 2 per la tossicità dello sviluppo ("chiara evidenza in studi sperimentali"), che pertanto *non può essere collocato in Allegato 1*, a prescindere da considerazioni di esposizione (che pure possono destare qualche preoccupazione, come dai dati presentati sopra).

L'unico dubbio potrebbe venire dal fatto che gli effetti sono stati riscontrati essenzialmente sul ratto, e pertanto non si può escludere una (parziale) specie-specificità/o una alta suscettibilità del ratto rispetto ad altre specie, tra cui l'essere umano.

Tuttavia, va considerato che

- a) il ratto è una specie modello correntemente utilizzata per gli studi di tossicologia e che i dati ottenuti su tale specie possono non venire considerati solo se vi è una solida base scientifica per considerare altre specie più simili all'essere umano
- b) manca una chiara dimostrazione delle specie-specificità degli effetti del *Procimidone*.

Nel caso del *Fenarimol* emergono in maniera evidente effetti endocrini nei roditori da laboratorio; il tipo e meccanismo di tali effetti variano con la dose e, presumibilmente, con lo status endocrino e la capacità di attivazione metabolica dell'organismo bersaglio (fattori che, a loro volta, sono potenzialmente associati con il sesso e con l'età).

Tali effetti hanno una potenziale rilevanza sia per le alterazioni della funzione riproduttiva sia, per quanto con minore evidenza, per l'induzione di tumori.

Per contro si desume la mancanza di studi a lungo termine (in particolare test a 2 generazioni) che permettano la caratterizzazione tossicologica del *Fenarimol* sulla base di parametri aggiornati (ad es., la completa valutazione degli effetti sulla spermatogenesi o sullo sviluppo neurocomportamentale della prole, parametro - quest'ultimo- potenzialmente suscettibile all'azione di inibitori dell'aromatasi).

Per il *Fenarimol* da una parte mancano i requisiti per una classificazione in categoria 2 per la tossicità riproduttiva e dello sviluppo, che precluderebbe l'inclusione della sostanza in allegato 1. Tali requisiti (presenti, invece per il *Procimidone*) comprendono l'evidenza chiara di effetti riproduttivi e sullo sviluppo, in presenza di minima tossicità generale nell'adulto e senza evidenze che indichino una specie-specificità.

Dall'altra, la mancanza di tali requisiti è dovuta all'assenza di test appropriati per la classificazione dei potenziali Interferenti Endocrini secondo criteri aggiornati: per contro la sostanza è chiaramente positiva, sia in test in vitro sia in test in vivo validati dall'OECD (uterotrofic assay, hersberger assay).

Il Gruppo di Lavoro suggerisce, dunque, di adottare un approccio *basato sul principio di precauzione*: la sostanza non *dovrebbe venire inclusa in allegato 1 prima della effettuazione di test a medio-lungo termine* (in particolare il test a 2 generazioni) secondo protocolli aggiornati ed appropriati per la valutazione di effetti endocrini.

Appendice. Parere espresso dall'Istituto Superiore di Sanità (dr.ssa Emanuela Testai) sul documento del Gruppo di Lavoro

Ministero della Salute

Dip. per la Salute Pubblica Veterinaria, la
Nutrizione e la Sicurezza degli Alimenti
Ufficio XIII

ROMA

Risposta alla Vs. n° 18162 ex DGVA (P): Trasmissione dei pareri del gruppo di lavoro per la sorveglianza dell'esposizione a Interferenti Endocrini relativi alle sostanze attive procymidone e fenarimol.

In relazione a quanto richiesto da codesto Ministero, dopo aver analizzato la documentazione pervenuta, al fine di fornire alla delegazione Italiana un parere in merito alle problematiche che verranno discusse presso il Consiglio della UE per l'inclusione in Allegato I della direttiva 91/414/CEE delle sostanze attive in oggetto si fa presente quanto segue.

Relativamente alla sostanza attiva procymidone, si ritiene che i dati disponibili siano sufficienti alla classificazione della sostanza in Categoria 2 per la tossicità riproduttiva e dello sviluppo (con frase di rischio R61). I requisiti per la classificazione in categoria 2 che comprendono: chiara evidenza di effetti riproduttivi e sullo sviluppo, in assenza di tossicità generale nell'adulto (o in presenza di effetti minimi) e indicazioni di specie-specificità sono infatti soddisfatti dai dati disponibili sul procymidone. Tale sostanza attiva è infatti in grado di provocare in uno studio a due generazioni su ratto effetti marcati quali ipospadia, ridotta distanza urogenitale, atrofia testicolare, diminuzione del peso della prostata, retrazione dei capezzoli, in assenza di tossicità parentale. Gli effetti sono dovuti alla attività anti-androgena (attraverso il legame con il recettore per gli androgeni) e alla ipersecrezione di testosterone nel ratto. E' stato dimostrato che il procymidone è in grado di legarsi anche al recettore umano, per cui è plausibile che effetti simili a quelli osservati nel ratto possano verificarsi anche nella specie umana.

La sostanza inoltre mostra attività cancerogena dopo somministrazione cronica, tale da richiedere classificazione con frase di rischio R40: nei ratti il bersaglio critico è di nuovo l'apparato riproduttivo (iperplasia delle cellule interstiziali del testicolo) mentre nei topi sono stati evidenziati epatoblastomi.

Si ritiene quindi che durante la discussione la delegazione italiana possa sostenere la non inclusione della sostanza in Allegato 1, in accordo con la posizione ufficiale assunta dalla Commissione Consultiva Prodotti Fitosanitari e dall'Italia in sede comunitaria, contraria alla inclusione in allegato 1 di sostanze classificate in categoria 1 e 2 per cancerogenesi, genotossicità e tossicità riproduttiva e dello sviluppo.

In merito ai documenti pervenuti si ritiene comunque utile fare alcuni commenti al parere relativo al procymidone (seppure non definitivo), preparato dal Gruppo di Lavoro per la sorveglianza dell'esposizione a Interferenti Endocrini.

Il NOEL considerato per l'eventuale calcolo di ADI nella proposta europea di inclusione in Allegato 1, è ricavato dallo studio a due generazioni, che evidenzia i danni alla nascita più sopra citati, ed è pari a $2.5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$. I dati ottenuti con il modello Hershberger per caratterizzare l'attività antiandrogena del procymidone, a cui si fa riferimento nel parere, evidenziano effetti dose-dipendenti alle tre dosi saggiate (Kang et al, *Toxicology*, 199, 145-159, 2004). Tuttavia, la dose più

bassa, alla quale molti degli effetti misurati sono statisticamente significativi, seppur di minore entità rispetto alle dosi più elevate, è $25 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$. Risulta quindi non del tutto giustificata l'affermazione secondo la quale 'Le dosi che determinano effetti correlati all'attività di interferenza endocrina sono molto più basse di quelle evidenziate nei test di tossicità riproduttiva e sulle quali sono stati calcolati gli indici NOEL e RfD...'. Si potrebbe in ugual modo concludere che l'attività di interferenza endocrina, causa dell'insorgere delle problematiche riproduttive evidenziate nel test a due generazioni, non sono tossicologicamente rilevanti al NOEL, non esitando in alcun effetto misurabile.

A questo proposito, vale la pena di sottolineare che lo squilibrio della omeostasi endocrina non è un *endpoint* tossicologico *per se*, ma rappresenta piuttosto uno dei meccanismi di azione attraverso il quale una sostanza può agire, provocando in alcune specie effetti tossici.

Questo concetto è stato fortemente ribadito dallo SCHER (Scientific Committee Health and Environmental Risks) della DG SANCO in un suo recente parere, al quale si rimanda per dettagli (http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scher/docs/scher_o_015.pdf). Nel parere si discute anche la problematica legata ad insorgenza di effetti alle basse dosi e si enfatizza la necessità di migliorare la predittività degli attuali test di tossicità utilizzati per la valutazione del rischio, introducendo tra i parametri da studiare anche quelli relativi al sistema ormonale, senza necessariamente il bisogno di introdurre ulteriori test su animali.

Le considerazioni relative alla possibile esposizione simultanea a più sostanze attive con lo stesso bersaglio e/o meccanismo di azione rappresentano un problema sicuramente rilevante da un punto di vista tossicologico. E' però importante sottolineare che, sulla base dei risultati dei piani di monitoraggio coordinati dal Ministero della Salute su frutta, verdure e cereali, la co-presenza di più residui sulla stessa derrata non è un fatto frequente e che, quando avviene, generalmente il numero di residui diversi è basso (<5). Quindi è più plausibile una esposizione simultanea (o in tempi tali da permettere la presenza contemporanea di dosi interne della sostanza e/o dei suoi metaboliti) a più sostanze provenienti da fonti/matrici diverse, piuttosto che alla co-presenza sulla stessa derrata. Nonostante la rilevanza del problema, allo stato attuale non è preso in considerazione nel processo di valutazione del rischio ai fini dell'inclusione in Allegato 1 e quindi non può essere utilizzato nella discussione ai fini di una posizione della delegazione italiana.

Relativamente alla sostanza attiva fenarimol, mancano i requisiti necessari ad una classificazione in categoria 2 per la tossicità riproduttiva e dello sviluppo, che, per i principi sopra enunciati, precluderebbe per l'Italia l'inclusione in Allegato 1. La ridotta fertilità e gli effetti al parto indotti da trattamenti con fenarimol ed evidenziati in uno studio multigenerazionale in roditori indicano che la sostanza debba essere classificata in categoria 3 per la tossicità riproduttiva, con frasi di rischio R62-R63 e R64. Studi meccanicistici indicano che tali effetti sono mediati da inibizione della aromatasi (o CYP19), enzima chiave nella biosintesi degli estrogeni (a partire da precursori androgeni). Non si ritiene che i dati disponibili siano sufficienti a giustificare una richiesta di non inclusione in Allegato 1.

Infatti sebbene i dati *in vitro* indichino una attività sia estrogenica che anti-estrogenica del fenarimol, effetti che implicherebbero la concomitanza di meccanismi di azione diversa, come indicato correttamente nel parere del Gruppo di Lavoro per la sorveglianza dell'esposizione a Interferenti Endocrini, tali effetti sono stati evidenziati *in vivo* solo alla dose di $200 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$, (Vinggaard et al, *Toxicology*, 207, 21-34, 2005; Andersen et al., *Toxicol. Lett.* 163, 142.152, 2006), molto più alta dei valori di NOEL utilizzati per derivare ADI e AOEL.

Infatti un NOEL di $2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ per gli effetti sulla fertilità è stato identificato nello studio multigenerazionale; gli effetti sullo sviluppo sono minori, e il NOEL è $13 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$. La sostanza non ha effetti cancerogeni e in uno studio cronico (due anni) nel ratto è stato identificato un NOEL di $1.3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ (effetti epatici non gravi sono stati evidenziati alla dose superiore saggiata). Sulla base di questi dati è stato proposto a livello UE di utilizzare il NOEL più basso (derivato dallo studio cronico) per il calcolo della ADI, e il NOEL derivato dallo studio

multigenerazionale per il calcolo dell'AOEL. Questi valori dovrebbero quindi coprire anche gli effetti derivanti dall'interferenza sull'attività endocrina.

Tuttavia si concorda con alcune delle preoccupazioni espresse nel documento a riguardo degli effetti e si suggerisce di tenerne conto durante la discussione. In particolare si rileva che per i calcoli di ADI e AOEL è stato proposto un fattore di sicurezza =100, mentre sembrerebbe più opportuno utilizzare un fattore di sicurezza addizionale almeno = 2, considerando sia la natura degli effetti indotti dalla sostanza sul sistema riproduttivo, soprattutto in relazione al possibile rischio per i bambini allattati al seno (espresso con la frase R64), che l'incertezza nella valutazione degli effetti sul sistema endocrino, per i quali un NOEL non è stato chiaramente definito (i dati *in vivo* disponibili sono ottenuti con un'unica dose di trattamento).