

Dispersione ambientale del chlorpyrifos: valutazione della popolazione non professionalmente esposta e della contaminazione dell'ambiente domestico

*Francesco Pizzo, U.O. Prevenzione Ambientale Lavoro - APSS, Trento.
Dario Uber, U.O. Prevenzione e Sicurezza Ambienti di Lavoro - APSS, Trento.*

Fitofarmaci e Ambiente

Roma – 12,13 maggio 2010

Premessa

- Piano di attività per il controllo ufficiale della produzione, del commercio e dell'utilizzo dei prodotti fitosanitari - Anno 2008
 - Nell'anno 2008 l'Azienda Sanitaria ha predisposto un progetto di indagine su matrice biologica (urina) volto a verificare l'esposizione di tipo non professionale a prodotti fitosanitari in aree a forte vocazione agricola
-

Obiettivi dell'indagine

Obiettivi generali

- dare un contributo di conoscenza sul fenomeno “deriva” dei prodotti fitosanitari conseguente al trattamento antiparassitario delle aree coltivate.

Obiettivi specifici

- quantificare l'eventuale livello di assorbimento di fitosanitari in un gruppo specifico di popolazione attraverso la ricerca dei metaboliti della molecola scelta come “tracciante” in matrici biologiche (urina).
 - misurare la presenza dello stesso principio attivo “tracciante” all'interno degli ambienti di vita (ad es: cucina, camera da letto) di abitazioni poste in prossimità di aree coltivate.
-

Ambito della Ricerca

- **Popolazione generale**: non esposta professionalmente e residente in aree a forte vocazione agricola
 - **Ambiente domestico**: abitazioni poste in prossimità delle aree coltivate
-

PROGETTO
- 2008 -

Area oggetto dell'indagine

Provincia di Trento – Valle di Non

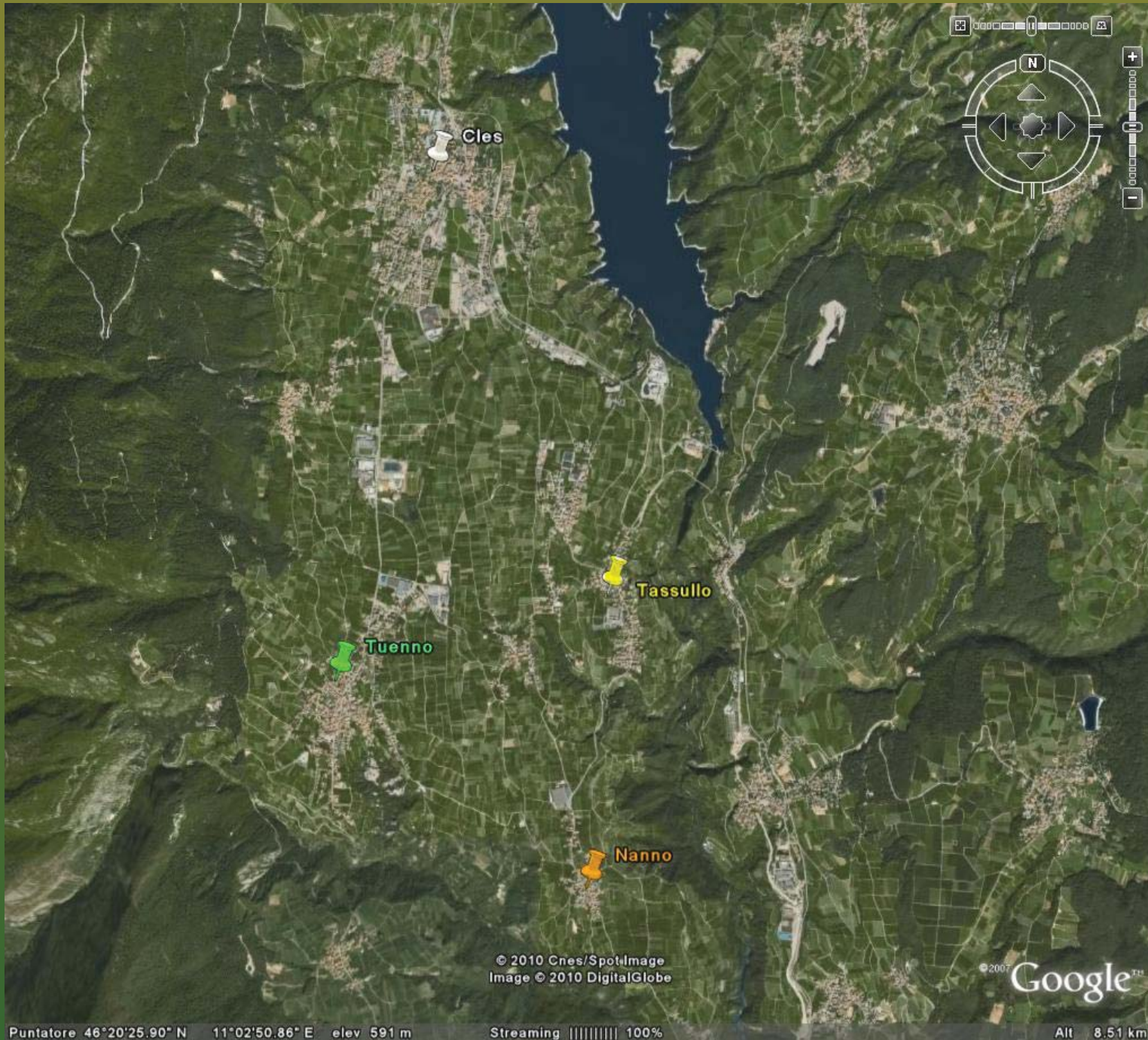


Comuni di:

- Tassullo
 - Nanno
 - Tuenno
 - Cles
-

Valle di Non





© 2010 Cnes/SpotImage
Image © 2010 DigitalGlobe

© 2007 Google™

Puntatore 46°20'25.90" N 11°02'50.86" E elev 591 m

Streaming ||||| 100%

Alt 8.51 km

Principio attivo “tracciante”

Chlorpyrifos/chlorpyrifos methyl

- Oggetto di approfondimento scientifico
 - Disponibilità di valori di riferimento → Studio SIVR ('99)
 - Metodi analitici
-

Disegno, strategia e procedure analitiche impiegati negli studi SIVR su TCP urinario

	SIVR Studio 1 (27)	SIVR Studio 2
Provenienza del campione	Residenza urbana (città di Pavia, Siena e Trento).	Residenza urbana (città di Novafeltria e Torino).
N campioni	42 (21 M e 21 F)	107
Età della popolazione (anni)	22-52	21-57
Tipo di campione		Seconda urina del mattino
Conservazione del campione	Congelamento (il campione risulta stabile per almeno 40 gg)	
Quality control/Quality assurance	Controlli interlaboratoriali su campioni <i>spiked</i> . Analisi di tutti i campioni in due laboratori con differenti tecniche strumentali.	Nella serie analitica.
Anno di campionamento	1997	1998
Raccolta campioni	Contenitori in polietilene schermati dalla luce senza aggiunta di conservativi o stabilizzanti	
Disegno del campionamento	Soggetti della popolazione generale (somministrazione di questionario ad hoc). Criteri di esclusione: fumo <5sig/die; consumo vino <250 ml/die; nessun trattamento farmacologico in atto; nessun impiego di fitofarmaci nell'ultimo anno.	Soggetti della popolazione generale (somministrazione di questionario ad hoc). 40 soggetti di Novafeltria sono stati campionati in due periodi dell'anno (inverno ed estate) per valutare l'influenza della stagione di prelievo.
Analisi statistica	ANOVA sulla base delle variabili del questionario	Confronti statistici sulla base delle variabili studiate

Aprèa C, Betta A, Catenacci G, Lotti A, Magnaghi S, Barisano A, Passini V, Pavan I, Sciarra G, Vitalone V, Minoia C. Reference values of urinary 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in the Italian population - validation of analytical method and preliminary results (multicentric study). *J AOAC Int* 1999; 82(2): 305-312.

Chlorpyrifos (CP) e Chlorpyrifos Methyl (CPM)

- Insetticidi organo fosforici ad ampio spettro usati in frutticoltura. Il CP è usato anche nella coltura del tabacco e per uso domestico. Il CPM è utilizzato nella viticoltura e per interventi di disinfestazione
 - Il CP è moderatamente persistente nei terreni con una emivita compresa tra i 60 e i 120 giorni, con un range di emivita tra 2 settimane fino a oltre un anno, in dipendenza dal tipo di terreno, da variabili climatiche ed altre condizioni meno definite
 - Il CP viene degradato dai raggi UV, per idrolisi chimica e dai microbi del terreno
-

Dimensioni del campione

20 abitazioni e **20 soggetti** ivi domiciliati:
numerosità adeguata agli obiettivi del progetto.

→ **Abitazioni**: da estrarre a partire da un elenco di case fornito all'amministrazione interessata (+ abitazioni di riserva)

→ **Soggetti**: scelti con caratteristiche di età e sesso sovrapponibili al campione dei valori di riferimento di popolazione per il principio attivo individuati

Criteri di selezione

Abitazioni

- Inscritte in contesto agricolo (vicino ai terreni trattati)
- Non residenza di operatori del settore agricolo/familiari

Soggetti

- Età 20 – 60 anni
 - Fumo < 5 sig./die
 - Vino < 250 cc./die
 - Non assunzione farmaci 30 giorni precedenti
 - Soggetti non esposti professionalmente e loro familiari
-

Disegno, strategia e procedure analitiche impiegati negli studi SIVR su TCP urinario

Caratteristiche dei soggetti:

- ✓ Età 20 – 60 anni
- ✓ Fumo < 5 sig./die
- ✓ Vino < 250 cc./die
- ✓ Non assunzione farmaci 30 giorni precedenti
- ✓ Soggetti non esposti professionalmente e loro familiari

	SIVR Studio 1 (27)	SIVR Studio 2
Provenienza del campione	Residenza urbana (città di Pavia, Siena e Trento).	Residenza urbana (città di Novafeltria e Torino).
N campioni	42 (21 M e 21 F)	107
Età della popolazione (anni)	22-52	21-57
Tipo di campione	Seconda urina del mattino	
Conservazione del campione	Congelamento (il campione risulta stabile per almeno 40 gg)	
Quality control/Quality assurance	Controlli interlaboratoriali su campioni <i>spiked</i> . Analisi di tutti i campioni in due laboratori con differenti tecniche strumentali.	Nella serie analitica.
Anno di campionamento	1997	1998
Raccolta campioni	Contenitori in polietilene schermati dalla luce senza aggiunta di conservativi o stabilizzanti	
Disegno del campionamento	Soggetti della popolazione generale (somministrazione di questionario ad hoc). Criteri di esclusione: fumo <5sig/die; consumo vino <250 ml/die; nessun trattamento farmacologico in atto; nessun impiego di fitofarmaci nell'ultimo anno.	Soggetti della popolazione generale (somministrazione di questionario ad hoc). 40 soggetti di Novafeltria sono stati campionati in due periodi dell'anno (inverno ed estate) per valutare l'influenza della stagione di prelievo.
Analisi statistica	ANOVA sulla base delle variabili del questionario	Confronti statistici sulla base delle variabili studiate

Metodi

- Indagine su matrice biologica (urina) – ricerca metaboliti di prodotti fitosanitari
 - Indagine su Campioni ambientali indoor – ricerca degli inquinanti negli ambienti di vita (cucina, camera da letto)
 - Ricerca di fattori di confondimento con questionario volto ad indagare tutte le possibili circostanze di esposizione per la popolazione esaminata e gli stili di vita
-

Metodi – 1

Indagine su matrici biologiche - urina

Metaboliti del Principio Attivo (CP e CPM) ricercato nelle urine delle persone in due periodi diversi nell'annata agricola:

- in un periodo lontano dal trattamento stesso (campione basale) con la finalità di evidenziare l'eventuale presenza della sostanza analizzata anche in assenza di esposizione ambientale derivante dai trattamenti
- in corrispondenza dello specifico trattamento

Raccolta della seconda urina del mattino.

Metodi – 2

Indagine ambientale

Campionamento di superfici normalmente non utilizzate all'interno delle abitazioni (ad esempio: superfici di armadi in cucine o pavimenti in camere da letto) su una superficie pari ad 1 dm²

Finalità:

Trarre informazioni sulla diffusione degli inquinanti in luoghi in cui si presuppone non esservi elevata contaminazione.

Principio attivo ricercato:

lo stesso previsto per l'indagine su matrici biologiche,

Periodi di campionamento:

1. Lontano dal trattamento
 2. Coincidente col trattamento
-

Metodi – 3

Ricerca fattori di confondimento

- Raccolta di un set di informazioni su fattori che possono, in varia misura, influenzare il risultato finale.
 - Questionario preliminarmente somministrato alla popolazione (abitudini alimentari).
-

Interpretazione dei Dati

La valutazione dell'esposizione non lavorativa a prodotti fitosanitari viene effettuata attraverso il **confronto con Valori di Riferimento (VR)** ricavati dalla popolazione generale.

- ❑ I livelli rilevabili nella popolazione generale sono l'espressione del contributo sia delle abitudini di vita sia del contatto con i vari comparti ambientali;
 - ❑ rappresentano il valore a cui tendere per contenere l'eventuale rischio di esposizione aggiuntivo della popolazione in esame rispetto a quella generale.
-

Valori di Riferimento

Impiego e utilità dei VRB per i fitofarmaci

La stima dei VRB è particolarmente importante per i fitofarmaci soprattutto ai fini di una precisa valutazione dei livelli lavorativi di esposizione. A causa della non disponibilità di relazioni dose/risposta per la prevalenza dei composti e della conseguente scarsità di limiti biologici, gli indicatori biologici disponibili assumono principalmente il significato di indici di esposizione e i VRB rappresentano il valore soglia al di sopra del quale il lavoro apporta un contributo espositivo superiore rispetto alla popolazione generale. I VRB, espressione del contributo che le abitudini di vita apportano agli indicatori biologici, rappresentano quindi il *target* a cui tendere, per contenere il rischio aggiuntivo che l'attività professionale comporta rispetto alla popolazione generale. A maggior ragione i valori di riferimento hanno estrema utilità per individuare situazioni di emergenza che possono verificarsi in caso di intossicazione o in caso di incidenti in seguito ad applicazioni illegali di fitofarmaci in ambiente domestico (35).

FASE OPERATIVA

Marzo – Maggio 2009

Selezione delle abitazioni

Sono state individuate (in collaborazione con i Comuni di Cles Tassullo, Nanno e Tuenno) circa 50 abitazioni rispondenti ai requisiti; da questo elenco è stato ricavato il campione previsto dal progetto:

1. abitazioni inserite in un contesto agricolo, appartenenti ad aree con caratteristiche omogenee;
2. abitazioni che non costituiscono domicilio per operatori del settore agricolo;

Sono state selezionate **23 abitazioni**

Soggetti reclutati

34 questionari distribuiti

- 21 soggetti idonei
 - 2 soggetti idonei con riserva
 - 11 soggetti non idonei
 - 2 soggetti non aderenti
- **23 soggetti inseriti nell'indagine**
17 Maschi; 6 Femmine
Età compresa tra 35 – 59 anni
-

Raccolta dei campioni

I Campagna: periodo lontano dai trattamenti

Giorni 2 e 4 marzo 2009

- 23 campionamenti ambientali (Wipe Test)
- 23 campionamenti urine

II Campagna: periodo di trattamento (*calendario ufficiale*)

Giorni 14, 15 e 21 maggio 2009

- 23 campionamenti ambientali (Wipe Test)
 - 22 campionamenti urine (1 soggetto non disponibile)
-

Le analisi

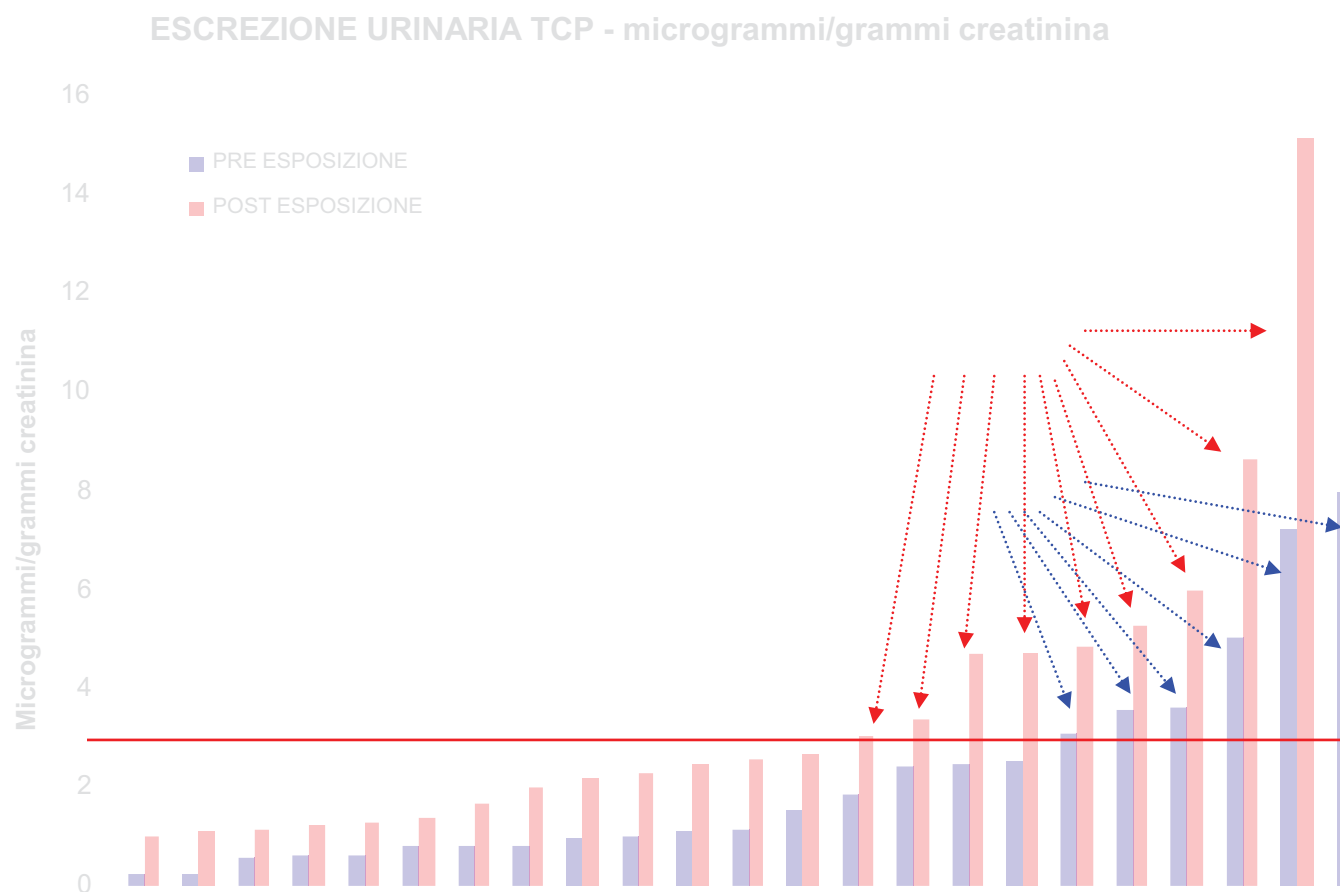
- ❑ I campioni di urina sono stati analizzati dal Laboratorio di Igiene e sanità Pubblica – APSS per la ricerca del metabolita 3,5,6-tricloro-2-piridinolo (TCP);
 - ❑ I campioni di polvere raccolti presso le abitazioni sono stati analizzati dal Laboratorio Chimico dell'APPA ricercando i principi attivi tal quali: chlorpyrifos e chlorpyrifos metile.
-

RISULTATI

TCPy

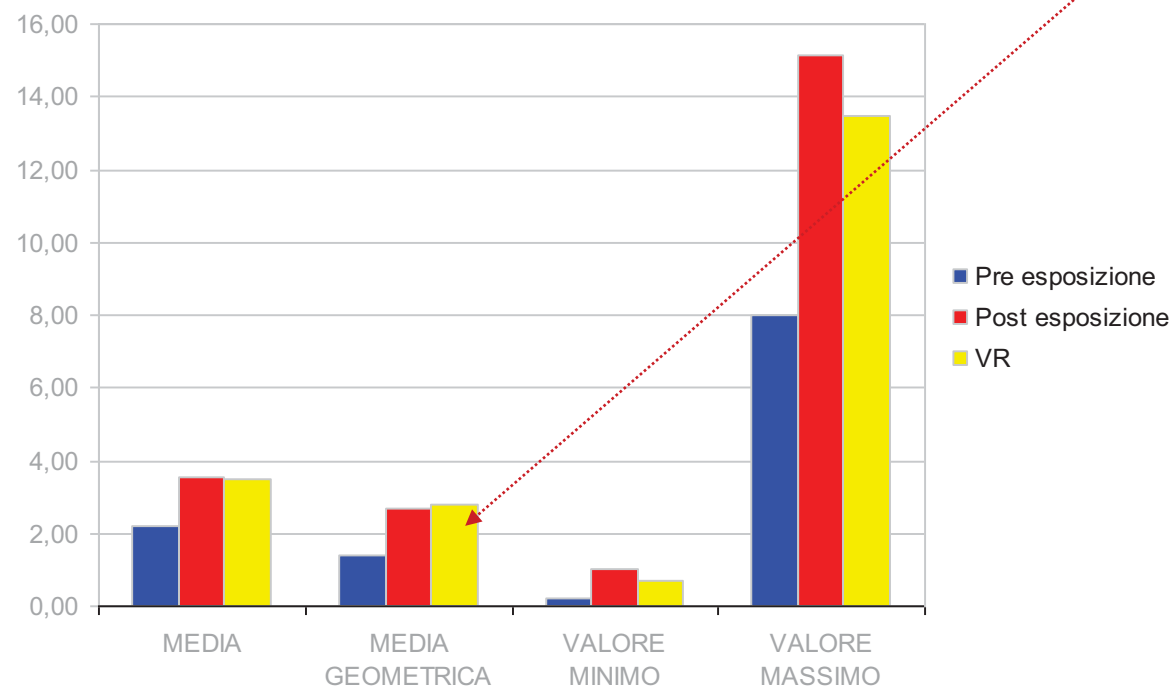
Metabolita Urinario

Tra la prima e la seconda campagna si riscontra un aumento (da 6 a 9) della numerosità dei soggetti che presentano un valore del metabolita urinario superiore al valore di riferimento.

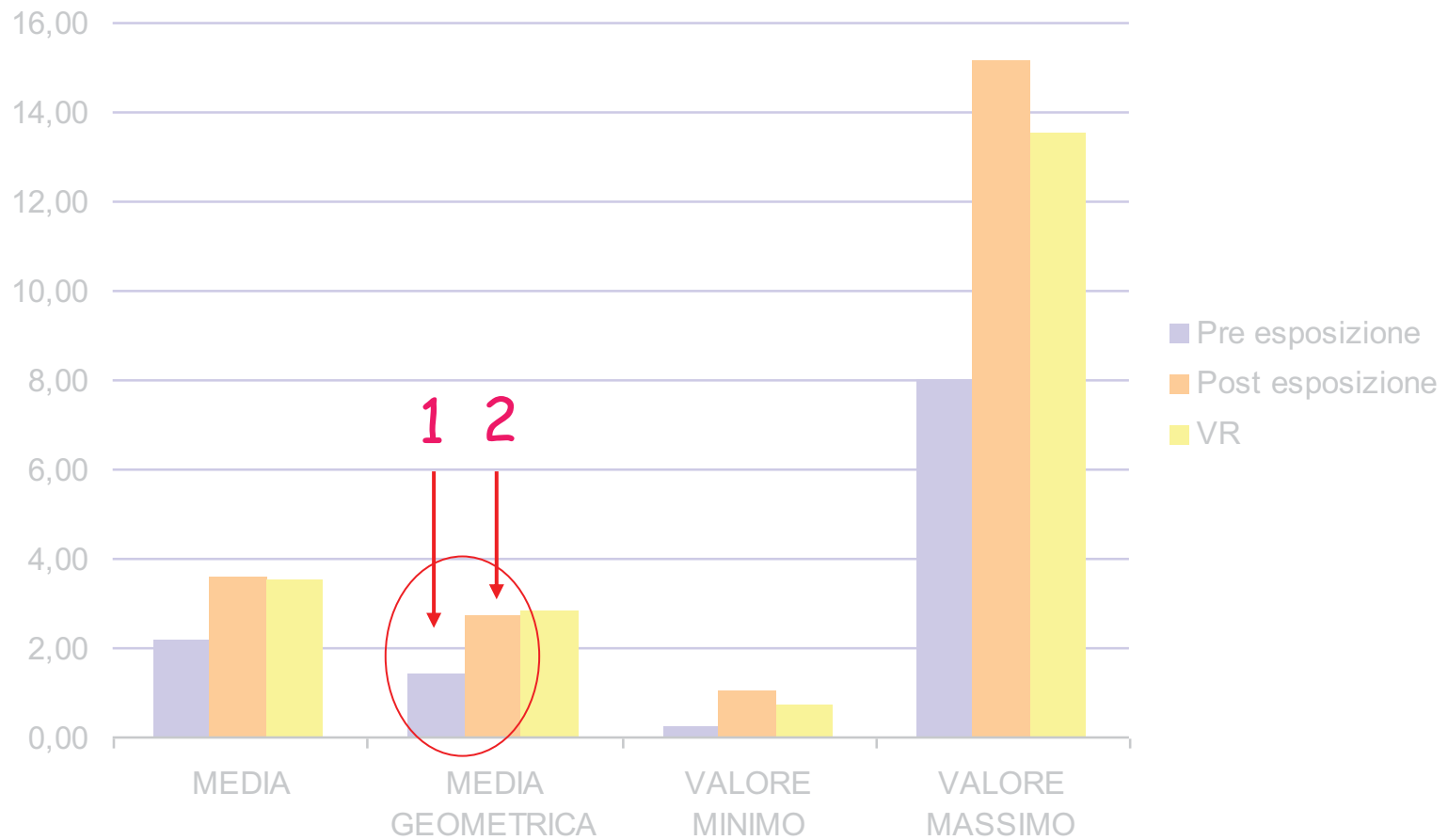


Escrezione urinaria di TCP ($\mu\text{g/g}$ creatinina) prima e dopo l'esposizione

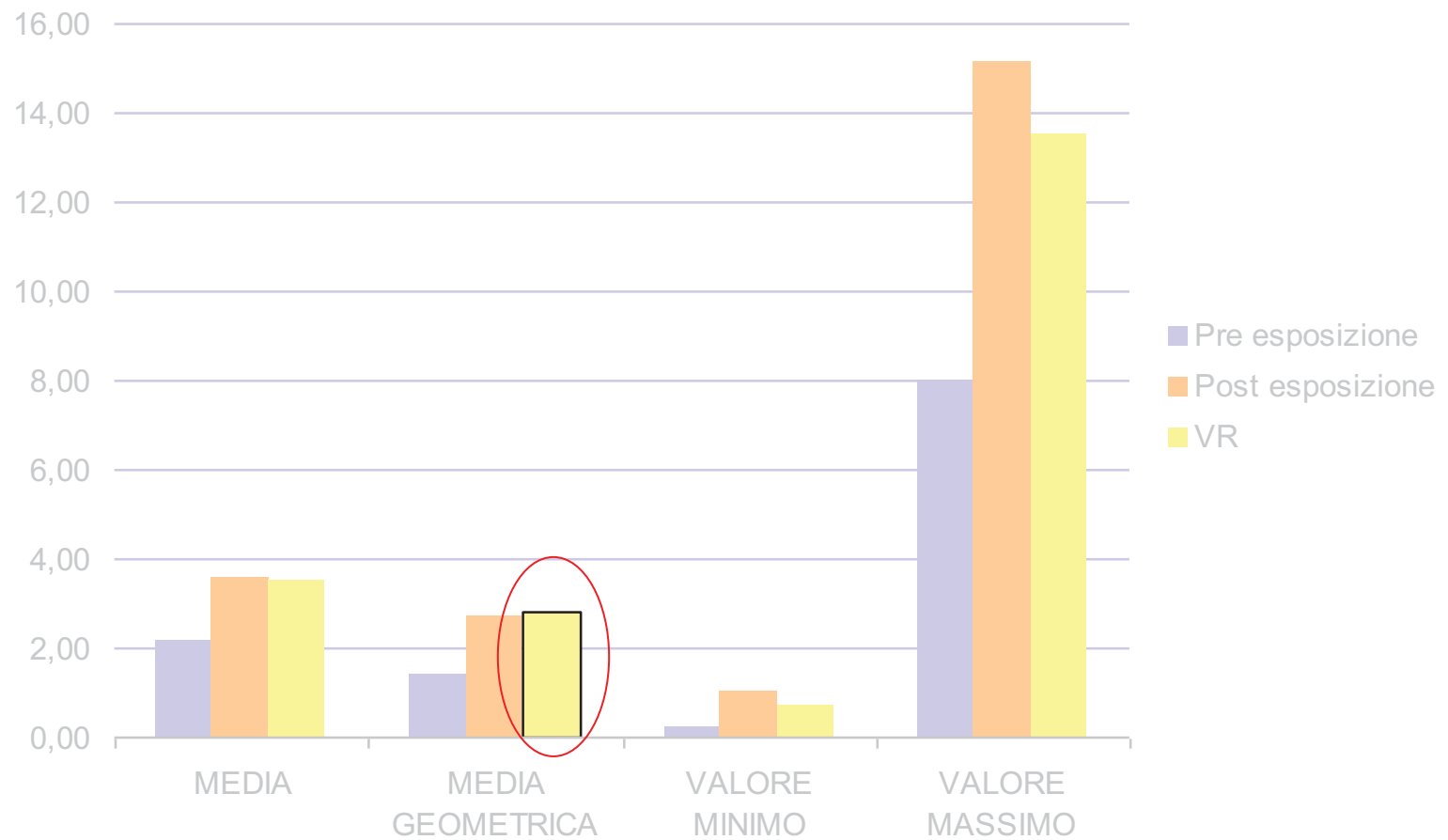
	Pre – esposizione	Post – esposizione	VR
MEDIA	2,18	3,57	3,5 +/- 2,8
MEDIANA	1,13	2,50	(---)
VALORE MASSIMO	8	15,13	13,5
VALORE MINIMO	0,22	1,01	0,7
MEDIA GEOMETRICA	1,425	2,71	2,8 +/-1,9

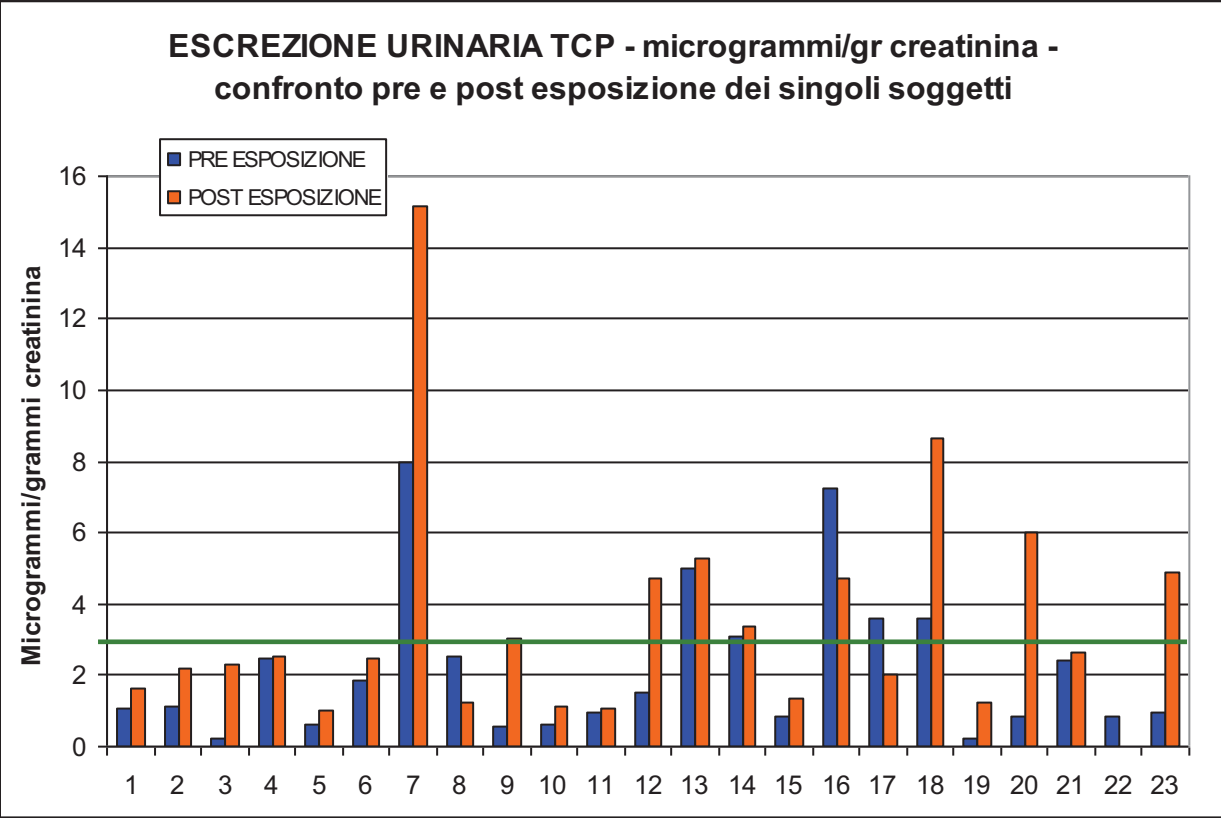


È osservabile un aumento del valore medio del metabolita riscontrabile nelle urine tra i campionamenti effettuati nella prima campagna e quelli relativi alla seconda.



In entrambe le campagne il valore medio del campione risulta essere dello stesso ordine di grandezza del valore di riferimento e quindi ad esso allineato





Commenti

- In riferimento ai singoli soggetti, si è registrato un **aumento dei valori** tra la prima e la seconda campagna **in 19 casi**; in 3 casi si è verificata una diminuzione. In 1 caso non è stato possibile raccogliere il campione in corrispondenza della seconda campagna per indisponibilità del soggetto partecipante (*grafici 2 e 3; tabella 2*).
 - Da un punto di vista statistico, **le differenze** riscontrate tra la prima e la seconda campagna **sono risultate significative** all'applicazione del test T di Wilcoxon.
-

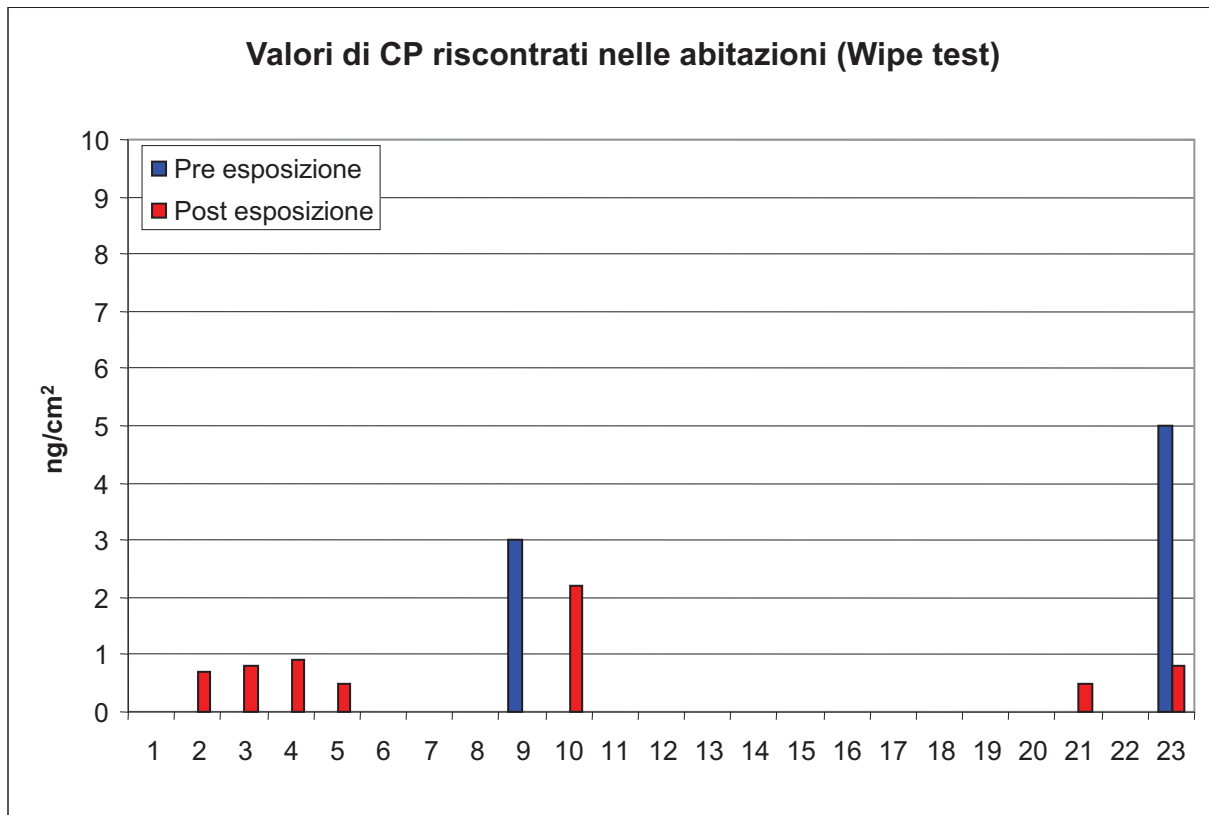
WIPE TEST

Campionamenti indoor

Valori di CP e CPM riscontrati in ambiente domestico (Wipe test) – ng/cm²

	CP		CPM	
	pre esposizione	post esposizione	pre esposizione	post esposizione
1	0	0	0	0
2	0	0,7	0	0
3	0	0,8	0	0
4	0	0,9	0	0
5	0	0,5	0	0
6	0	0	0	0
7	0	0	0	0
8	0	0	0	0
9	3	0	0	0
10	0	2,2	0	0
11	0	0	0	0
12	0	0	0	0
13	0	0	0	0
14	0	0	0	0
15	0	0	0	0
16	0	0	0	0
17	0	0	0	0
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0
21	0	0,5	0	0
22	0	0	0	0
23	5	0,8	0	0

Valori di CP riscontrati nelle abitazioni (Wipe test)



Commenti

- Le indagini eseguite sui campioni di polvere raccolta presso le abitazioni dei soggetti individuati (wipe-test) hanno rilevato la presenza del CP in 2 casi nella prima campagna e in 7 casi nella seconda.
 - La seconda molecola ricercata (CPM) non è stata riscontrata in nessun campione
-

Considerazioni sui risultati

Valori medi di TCP nelle urine prima campagna

- Allineati (in termini di ordini di grandezza/ μ grammi) a quanto riscontrabile in altri studi;
- In assenza di trattamenti, rendono conto di una probabile esposizione di tipo diverso (alimentare ? ambientale preesistente ?);
- Il valore medio rispetto al VR risulta basso (soggetti selezionati al fine di escludere importanti fattori di confondimento → maggior evidenza del peso dell'esposizione ambientale).

Valori di TCP nelle urine seconda campagna

- incremento della numerosità dei soggetti con valore superiore ai valori medi di riferimento (e comunque sostanzialmente ad essi allineati, in analogia alla prima campagna);
 - valori mediamente più alti.
 - Livelli non differenti, nella sostanza, da quelli riportati in altri lavori condotti su persone non professionalmente esposte e residenti in aree urbane.
-

Considerazioni sui risultati

Valori di TCP nelle urine

- Al fine di verificare la significatività statistica delle differenze riscontrate e, pertanto, accertare se tali differenze siano attribuibili ad una diversa esposizione o se invece siano dovute alla variabilità individuale che caratterizza questo tipo di indagine, si è applicato ai dati disponibili il test T di Wilcoxon;
 - → differenze statisticamente significative tra i valori riscontrati nelle due campagne;
 - → possibilità di un aumento dei livelli dei metaboliti urinari del chlorpyrifos a seguito dei trattamenti nella popolazione non professionalmente esposta e residente in vicinanza dei terreni trattati.
-

Considerazioni sui risultati

Wipe test e ai livelli di contaminazione indoor

- Aumento della numerosità dei riscontri positivi nei campioni raccolti in corrispondenza dei trattamenti (da 2 a 7);
 - → possibilità che i principi attivi utilizzati possano, per varie ragioni, (in primo luogo la deriva), distribuirsi anche all'interno delle abitazioni;
 - i valori riscontrati sono dell'ordine dei nanogrammi ($1\text{ng} = 1\text{gr} \times 10^{-9}$).
 - possono essere considerati tracce di prodotto che da un punto di vista tossicologico rivestono scarso significato
 - testimoniano comunque una contaminazione indoor influenzata dalla vicinanza del punto di campionamento con le aree trattate.
-

Conclusioni

Le osservazioni suggeriscono la possibilità di una distribuzione all'interno delle case dei principi attivi durante i trattamenti e di una esposizione aggiuntiva per la popolazione esaminata, pur nell'ambito dei valori di riferimento della popolazione generale (MG: 2,8 $\mu\text{g/g}$ creat).

Ulteriori riflessioni ...

Int. J. Hyg. Environ. Health 204, 175–180 (2001)
© Urban & Fischer Verlag
<http://www.urbanfischer.de/journals/intjhyg>

International Journal
of Hygiene and
Environmental Health

Biological monitoring of exposure of the general population to the organophosphorus pesticides chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl by determination of their specific metabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol

Holger M. Koch^a, Jochen Hardt^b, Jürgen Angerer^a

^a Institute and Outpatient Clinic of Occupational, Social and Environmental Medicine, University of Erlangen-Nuremberg, Schillerstraße 25/29, D-91054 Erlangen

^b Institute of Laboratory Medicine, Microbiology, and Environmental Hygiene, Augsburg Hospital, Stenglinstraße 2, D-86156 Augsburg

Received: February 13, 2001 · Accepted: May 22, 2001

Abstract

In this study we determined the concentrations of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPyr) in urine samples from the general population. TCPyr is a specific metabolite of the organophosphorus pesticides chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl. By the introduction of a new sensitive analytical method a limit of quantification (LOQ) of 0.1 µg per litre urine could be achieved, a tenfold improvement of recent methods. Extraction of TCPyr from the urine and the clean up process were carried out by automatic steam distillation. Separation and quantitative analysis were performed using capillary gas chromatography and mass selective detection in selected ion monitoring mode.

The excretion of TCPyr was studied by analysing spontaneous urine samples from 5 women and 45 men between the ages of 22 and 57 (median: 40 years) living in Mecklenburg-Vorpommern (Germany) who were not occupationally exposed to organophosphorus pesticides. TCPyr was detected in all specimens and the concentrations were quantified. The median excretion was 1.4 µg/l (range: 0.12 to 124.8 µg/l), the 95th percentile 11.3 µg/l. Under the worst case assumption that all TCPyr measured in urine originated from the intake of intact pesticides and not (less toxic) breakdown products, a TCPyr concentration of 1.4 µg/l urine corresponds to a daily intake of approximately 2.5 µg chlorpyrifos/chlorpyrifos-methyl. The intake at the 95th percentile would be about 23 µg chlorpyrifos/chlorpyrifos-methyl per day. According to FAO/WHO the acceptable daily intake (ADI) is 10 µg per kg bodyweight and day for both chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl.

Key words: biological monitoring – general population – pesticides – urine – chlorpyrifos – chlorpyrifos-methyl – 3,5,6-trichloro-2-pyridinol

Ulteriori riflessioni

- 11,3 $\mu\text{g/L}$ di metabolita (TCPyr) \rightarrow 23 μg al giorno di assunzione di principio attivo (CP e CPM)
 - Assunto il caso con riscontro nelle urine di TCPyr più elevato (2^a campagna: 11,63 $\mu\text{g/L}$) si può per analogia affermare che il corrispondente quantitativo di principio attivo assimilato sia all'incirca equivalente.
 - La dose giornaliera accettabile per il CP/CPM corrisponde attualmente a 10 $\mu\text{g/Kg}$ peso corporeo (per un uomo di 70 kg \rightarrow 700 $\mu\text{g/die}$)
-

Grazie per l'attenzione

Dario Uber – U.O. Prevenzione e Sicurezza negli Ambienti di Lavoro
APSS – Centro per i Servizi Sanitari – Viale Verona (Trento)
Tel. +39 0461 90 46 68
Email: dario.uber@apss.tn.it

Francesco Pizzo – U.O. Igiene Pubblica e Prevenzione Ambientale
APSS – Centro per i Servizi Sanitari – Viale Verona (Trento)
Tel. +39 0461 90 46 21
Email: francesco.pizzo@apss.tn.it