

#### **6.4.2.1.1 Tumore alla Vescica**

##### **Premessa**

Il tumore alla vescica è la quinta neoplasia più frequentemente diagnosticata negli italiani di sesso maschile, essendo responsabile del 7% delle nuove forme di tumore nell'uomo e del 2% delle nuove forme di tumore nella donna. L'incidenza di cancro alla vescica analizzata su base regionale appare più elevata in Campania rispetto a tutte le altre Regioni italiane, con una incidenza di 96 casi per centomila maschi e 15 casi per centomila femmine (vedasi AIRTUM, I numeri del cancro in Italia 2018) In Regione Campania, il tumore alla vescica rappresenta il 15% circa delle nuove diagnosi di malignità nei maschi ed è il terzo tumore più frequente dopo come il tumore al polmone (circa 120 casi per centomila maschi) e quello alla prostata (110 casi per 100 mila abitanti). Ulteriori evidenze epidemiologiche indicano che nell'ambito della Regione Campania, l'incidenza di tumore alla vescica è particolarmente elevata nelle province di Napoli e Caserta. Numerose evidenze epidemiologiche in letteratura denunciano una incidenza di tumore alla vescica in Campania, e in modo particolare nelle province di Napoli e Caserta, particolarmente elevata. Purtroppo, tale anomalia, che rappresenta una situazione unica a livello mondiale, considerando che l'incidenza standardizzata nel mondo si attesta intorno ai 5-20 casi per centomila maschi, da una parte, rimane non spiegata per la mancanza di ricerche che abbiano efficacemente definito i fattori eziopatogenetici specifici legati al particolare territorio e alla popolazione residente, dall'altra del tutto non affrontata e gestita da un punto di vista di sanità pubblica, essendo la programmazione sanitaria regionale del tutto scevra di interventi di prevenzione primaria e secondaria utili per il tumore vescicale.

Diversi contaminanti ambientali, sia di origine naturale che antropica, sono noti per aumentare il rischio di carcinoma vescicale. Un aumento del rischio di mortalità per tumore vescicale di circa il 7% è stato riscontrato adottando un approccio meta-analitico nei residenti nelle vicinanze di siti con contaminazione ambientale accertata. Tra i contaminanti potenzialmente responsabili l'Arsenico, COV (contaminanti organici volatili) tetracloroetilene e tricloroetilene, idrocarburi policiclici aromatici.

##### **Obiettivi**

Gli obiettivi di questo studio sono eterogenei e molteplici e sono di seguito riassunti:

- a) Valutare la correlazione tra incidenza tumorale ed esposizione a contaminanti ambientali, nelle aree di interesse regionali individuate, tenendo conto di fattori di confondimento quali dieta e stile di vita;
- b) stimare l'accuratezza diagnostica per tumore vescicale a qualsiasi stadio dell'uso combinato di indagini strumentali routinarie e test molecolari di ultima generazione;
- c) valutare la differente esposizione a contaminanti ambientali dei casi diagnosticati rispetto ai controlli scelti tra i pazienti con cistoscopia negativa;
- d) valutare il tasso di compliance alla cistoscopia.

##### **Disegno di Studio**

I soggetti, individuati a partire dall'attività di screening su popolazione residente in aree di particolare interesse, in caso di positività ai test

- Microscopico: Ematuria;
- Chimico: Metaboliti Cov;
- Fisico: Aspetto;
- Molecolare: Espressione Genica NanoString RNA;

saranno indirizzati ad un approfondimento diagnostico che prevedrà:

- a) esame citologico delle urine e cistoscopia;
- b) ecografia.

Tutti i soggetti che risulteranno affetti da carcinoma vescicale di qualunque stadio saranno arruolati nello studio clinico e, integrati da casi reclutati in centri oncologici campani di eccellenza in trattamento e cura per il tumore della vescica, sottoposti a

- a) questionari Epic su stile di vita ed abitudini alimentari;
- b) anamnesi personale e patologica;
- c) prelievo ematico per la valutazione dei biomarcatori di esposizione (contaminanti organici – metalli potenzialmente tossici- ed inorganici – diossine e composti diossino-simili).

I valori ottenuti in questa popolazione saranno comparati a quelli ottenuti in individui arruolati nello studio SPES e negli studi descritti nella presente proposta progettuale, accoppiati per età e negativi alla cistoscopia, in modo da stimare l'odds di avere un tumore vescicale rispetto a non averlo, a seconda dei livelli di contaminante misurati.

#### **6.4.2.1.2 Cancro del Colon-Retto**

##### **Premessa**

In virtù dell'esperienza maturata dall'IZSM nei piani di monitoraggio ambientale e in studi clinici centrati sul rapporto ambiente-salute, il progetto di ricerca presentato propone un modello esplorativo di "Ricerca Sanitaria Traslationale", che trova specifica applicazione nello studio eziologico e patogenetico del carcinoma del colon—retto (CCR), con possibili ricadute cliniche di estremo interesse per il SSN, nell'ambito della prevenzione primaria (interventi su dieta e su microbiota intestinale) e secondaria (diagnosi precoce). Molti sono i fattori che concorrono a determinare l'insorgenza del CCR: dieta, stile di vita, malattie infiammatorie intestinali croniche, predisposizione genetica, esposizione a sorgenti di contaminazione. Dal momento che il tumore del colon-retto si sviluppa a partire da una condizione pre-maligna (polipo adenomatoso) che permane per lungo tempo senza dare segni e sintomi evidenti e può essere diagnosticata e rimossa attraverso un esame invasivo ma sicuro (colonscopia), l'intervento di screening basato sul sangue occulto fecale associato a colonscopia in caso di positività ha mostrato comprovata efficacia nel diminuire i tassi di mortalità specifica, a patto che venga condotto seguendo una organizzazione logistico-operativa efficiente, e sia accompagnato da campagne di sensibilizzazione e informazione che possano accrescere in maniera incisiva la consapevolezza del rischio e della possibilità di guarigione grazie alla diagnosi precoce. I dati di prevalenza per il CCR fanno

riferimento all'andamento dei tassi di mortalità (Fonte AIRTUM) che, nel ventennio 1988-2008, mostrano un trend positivo in Regione Campania e per le singole province, rispetto alla media nazionale, sia nella popolazione maschile che femminile (target 50-74 anni). La popolazione screenata per CCR nel 2018, nell'ambito del piano Prima Prevenzione, supera le percentuali medie nazionali relative all'anno 2018 (GISCOR), con 51.000 adesioni pari al 50 % di copertura.

## Obiettivi

Fulcro dello studio osservazionale proposto è una valutazione olistica delle condizioni predisponenti la patologia che si traduce nella ricerca di un profilo predittivo del rischio di insorgenza del CCR, che tenga conto delle singole cause eziologiche, e della combinazione delle stesse, con particolare focus sulla correlazione ambiente – salute, in un'ottica innovativa di prevenzione primaria (interventi profilattici) e secondaria (diagnosi precoce).

## Disegno di Studio

Al fine di raggiungere gli end point trattati nell'apposita sezione (Approfondimento) si è deciso applicare un modello di confronto tra diverse coorti, pertanto il disegno di studio adottato sarà quello di tipo caso-controllo.

Tre i principali filoni di studio per i fattori eziologici indagati:

1. Predisposizione genetica;
2. Esposizione a sorgenti di contaminazione;
3. Abitudini alimentari e microbiota intestinale.

La popolazione arruolata (età target 50-74 anni, di entrambi i sessi) sarà suddivisa in quattro coorti di studio, stratificate sulla base dell'esito analitico ai test di screening per CCR (I livello – test di rilevazione del sangue occulto nelle feci FOBT; II livello – colonscopia; III livello – esame istologico), ottenuti nel piano Prima Prevenzione:

- a. I coorte: popolazione positiva al test FOBT, ma negativa all'esame endoscopico (controlli sani), n=50 individui;
- b. II coorte: popolazione positiva al test FOBT, positiva all'esame endoscopico per la presenza di polipo adenomatoso benigno, ma con esame istologico negativo per carcinoma, n= 50 individui;
- c. III coorte: popolazione positiva al test FOBT, positiva all'esame endoscopico per la presenza di lesione polipoide, con esame istologico positivo per carcinoma (stadio pT1/2N0M0), n= 50 individui;
- d. IV coorte: popolazione positiva al test FOBT, positiva all'esame endoscopico, positiva all'esame istologico positivo per carcinoma (stadio pT3/4N0 o pT1-4N1-2), n= 50 individui.

Sulle quattro coorti di popolazione saranno raccolti, elaborati e confrontati dati e risultanze sperimentali per ciascuno dei tre filoni di eziopatogenesi indagati:

- Questionari su abitudini alimentari, stile di vita, anamnesi clinico-patologica;

- Whole-exome sequencing e miRNA circolanti per l'individuazione di mutazioni germinali o somatiche predisponenti la patologia;
- Metaboloma;
- Microbioma intestinale;
- Contaminanti organici e inorganici e rispettivi metaboliti.

### 6.4.2.1.3 *Diabete Mellito di Tipo II*

#### **Premessa**

Secondo dati ISTAT, nel 2011 sono state quasi 3 milioni le persone che hanno dichiarato di essere diabetiche, corrispondenti a circa il 4,9% della popolazione. Una prevalenza superiore alla media nazionale si riscontra al Sud, ove risiedono circa 900 mila diabetici, contro 650 mila al Nordovest, 600 mila al Centro, 450 mila al Nord-est e circa 350 mila nelle Isole. Il diabete è associato a complicanze estremamente invalidanti, che coinvolgono il cuore (infarto del miocardio, cardiopatie), reni (insufficienza renale), vasi sanguigni (ipertensione o altre malattie cardiovascolari, ictus, piede diabetico, ecc.), occhi (glaucoma, retinopatie, ecc.). È gravato da costi economici e sociali elevatissimi – basti pensare alla invalidità associata alle complicanze su menzionate e alle risorse economiche richieste per la cura farmacologica del diabete e delle complicanze medesime. Nella regione Campania, la mortalità nei maschi per diabete è di 50,4 per 100 mila abitanti, seconda in Italia solo a quella della Sicilia, mentre per le donne è di 51,2 per 100 mila abitanti, la più alta in Italia. Oltre alla familiarità, obesità e sedentarietà rappresentano i principali fattori di rischio per l'insorgenza del diabete mellito di tipo 2, mentre una dieta salutare, un peso normale, un'attività fisica moderata e continua nel tempo sono in grado di diminuire il rischio di diabete attraverso la riduzione dei lipidi nel sangue, della pressione arteriosa, nonché dell'insulino-resistenza periferica. Una meta-analisi recentemente pubblicata da Song ed altri ha analizzato il rapporto tra i livelli nei fluidi biologici di diossine, policlorobifenili [PCB], pesticidi clorurati, bisfenolo A [BPA], e ftalati e l'insorgenza di diabete mellito di tipo 2 in 41 studi trasversali e 8 studi prospettici. Le concentrazioni sieriche di diossine, PCB e pesticidi clorurati sono risultate essere significativamente associate al rischio diabete mellito di tipo 2; infatti, confrontando i pazienti con concentrazioni più alte vs. quelli con concentrazioni più basse, i rischi relativi (RR) erano di 1.91 (95% intervallo di confidenza [CI] 1,44-2,54) per le diossine, 2,39 (95% CI 1,86-3,08) per i PCB totali e 2.30 (95% CI 1,81-2,93) per i pesticidi clorurati. Inoltre, le concentrazioni urinarie di BPA e ftalati sono state anch'esse associate al rischio di diabete mellito di tipo 2, con rischi relativi di 1,45 (95% CI 1,13-1,87) per il BPA e 1.48 (95% CI 0,98-2,25) per gli ftalati. Infine, concentrazioni più elevate di interferenti endocrini sono state associate ad indicatori di alterata glicemia a digiuno e insulino-resistenza. Va sottolineato come i contaminanti organici persistenti in grado di agire quali interferenti endocrini siano stati altresì associati all'insorgenza di diabete gestazionale. Una plausibile ipotesi biologica risiede nella capacità da parte dei contaminanti menzionati di attivare il recettore arilico (AhR), causando insulino resistenza. Anche il mercurio e gli idrocarburi policiclici aromatici, secondo alcuni studi, potrebbero avere un ruolo nella patogenesi dell'insulino-resistenza.

## Obiettivi

L'obiettivo primario della sezione dello studio SPEM focalizzata sul Diabete Mellito di Tipo II è di valutare l'associazione dei livelli di attività diossino-simile plasmatici con la diagnosi di diabete; come obiettivi secondari sarà studiata l'associazione con i livelli di idrocarburi policiclici aromatici e i metalli nei fluidi biologici.

## Disegno di Studio

La popolazione screenata nella linea di intervento sanitario, individuata per positività al test IFG Glicometro, sarà sottoposta ad approfondimento diagnostico per la patologia da insulino-resistenza. Nel dettaglio, infatti, una condizione di alterata glicemia a digiuno, rilevata attraverso il test IFG, si accompagna ad insulino-resistenza e ad un aumento del rischio cardiovascolare, potendo inoltre evolvere in diabete mellito di tipo II conclamato, con un rischio del 50% che tale progressione si manifesti nel decennio successivo alla diagnosi.

I soggetti saranno preventivamente indirizzati ad esami di approfondimento quali Hb glicata, e la diagnosi sarà confermata 1) con il riscontro di almeno due valori di glicemia a digiuno  $\geq 126$  mg/dl; 2) riscontro di glicemia casuale  $\geq 200$  mg/dl in presenza di sintomi tipici del diabete: poliuria, polidipsia, dimagrimento); 3) glicemia 2 ore dopo carico orale di glucosio (OGTT)  $\geq 200$  mg/dl.

I casi diagnosticati, arruolati nello studio clinico di approfondimento, integrati da casi individuati in centri campani di eccellenza in trattamento e cura per il diabete mellito di tipo II, saranno sottoposti a:

- questionari Epic su stile di vita ed abitudini alimentari;
- anamnesi personale e patologica;
- analisi su biomarcatori di esposizione e di effetto per valutare la potenziale correlazione della patologia con i contaminanti ambientali.

### 6.4.2.1.4 Patologie Cardiovascolari

#### Premessa

Studi preclinici e studi clinici sull'esposizione professionale hanno messo in luce una significativa correlazione tra l'esposizione a contaminanti xenobiotici, quali metalli pesanti (cadmio, piombo, arsenico, mercurio) e idrocarburi policiclici aromatici, e lo stress ossidativo, l'infiammazione e l'aterosclerosi. Nello studio di Lustberg et al, i soggetti con livelli di piombo nel sangue di 20-29 mcg / dL avevano una maggiore mortalità per qualsiasi causa (RR 1,46, 95% CI, 1,14-1,86) e per cause cardiocircolatorie (RR 1,39, 95% CI, 1,01-1,91) rispetto a quelli aventi piombemia sotto i 10 mcg / dL. Menke et al. hanno riportato che per ogni aumento di 2 volte dei livelli di cadmio urinario negli uomini è si è riscontrato un aumento della mortalità per tutte le cause (HR 1,28, 95% CI, 1,15-1,23) e per cause cardiovascolari (HR 1.21, 95% CI, 1,07-1,36). In uno studio condotto su circa 10 mila individui, è stata esplorata l'associazione tra le concentrazioni urinarie di otto metaboliti di IPA e la presenza di vasculopatia periferica, che è a sua volta strettamente associata al rischio di infarto miocardico (stessa patogenesi su base aterosclerotica). In un modello di regressione logistica, soggetti appartenenti al

terzile medio e alto della curva di distribuzione dei metaboliti del fluorene, 2-idrossifluorene (2-FLUO) e 3-idrossifluorene (3-FLUO), e del fenantrene, 1-idrossifenantrene (1-PHEN) e 2-idrossifenantrene (2-PHEN), mostravano una prevalenza significativamente più alta di arteriopatia periferica rispetto ai soggetti appartenenti al terzile più basso dopo aggiustamento per abitudine tabagica, diabete mellito e altre covariate (per 2-FLUO, il 3 ° terzile: OR = 2.22, 95% CI = 1,13-4,37, p per trend = 0,02; For 3-FLUO, 3 ° terzile: OR = 2.36, 95% CI: 1,16-4,77, p per trend = 0,02; per 1-PHEN, 3 ° terzile: OR = 1.84, 95% CI: 1,01-3,37, p per trend = 0.04; per 2-PHEN, 3 ° terzile: OR = 1,76, 95% CI: 1,07-2,88, p per trend = 0.03).

Un altro studio ha valutato le concentrazioni urinarie di 1-idrossipirene (1-OHP), quale principale biomarker di esposizione ai pireni, in 58 pazienti che avevano avuto diagnosi di infarto miocardico acuto e in 41 controlli, riscontrando nei primi livelli significativamente più elevati di 1-OHP rispetto ai controlli (p <0.05).

## Obiettivi

L'obiettivo primario dello studio SPEM, per la sezione dedicata alle patologie cardiovascolari, sarà quello di valutare l'associazione tra i livelli plasmatici di idrocarburi policiclici aromatici con la recente insorgenza di infarto del miocardio o altre condizioni di morbilità nello spettro del cardiovascolare. Gli obiettivi secondari saranno di valutare l'odds ratio associato a tutti gli altri contaminanti valutati.

## Disegno di Studio

La popolazione screenata nella linea di intervento sanitario, individuata per esito positivo del test ECG e per IFG sarà indirizzata ad approfondimento diagnostico per la patologia infarto del miocardio o per altre patologie cardiovascolari.

I casi diagnosticati, arruolati nello studio clinico di approfondimento ed integrati da casi individuati in centri campani di eccellenza in trattamento e cura per patologie cardiovascolari, saranno sottoposti a:

- questionari Epic su stile di vita ed abitudini alimentari;
- anamnesi personale e patologica;
- analisi su biomarcatori di esposizione e di effetto per valutare la potenziale correlazione della patologia con i contaminanti ambientali.

### 1.1.1. SPEL – Studio di popolazione relativo all'esposizione lavorativa

#### Premessa

La notevole variabilità delle lavorazioni industriali svolte nel settore, infatti, associata all'innumerabile quantità di sostanze/miscele e prodotti chimici utilizzati nei vari procedimenti lavorativi, espone i lavoratori a molti fattori di rischio occupazionali che si possono tradurre in malattie professionali o più genericamente "correlate al lavoro".

Il tema della sicurezza e della salute sui luoghi di lavoro viene affrontato in diversi dispositivi normativi, all'interno dei quali vengono definiti i fattori di rischio a cui sono potenzialmente esposti i lavoratori.

Nella fattispecie, i principali riferimenti per la sorveglianza dei rischi e della salute occupazionale sono costituiti dai documenti di valutazione dei rischi e dai registri di esposizione a sostanze cancerogene (D. Lgs 626/94) nonché dai dati aggregati di rischio dei lavoratori sottoposti a sorveglianza sanitaria (D. Lgs 81/2008).

Da un'attenta analisi di tali dispositivi emergono una serie di criticità che ne limitano pesantemente l'uso per scopi di sorveglianza:

- incompletezza quali -e quantitativa delle fonti, in quanto raramente contengono dati di esposizione accurati a fattori psicosociali ed ergonomici e soprattutto risulta del tutto insufficiente ed incompleta la caratterizzazione dell'esposizione (i livelli sono spesso quelli rilevati in condizioni ottimali, che non tengono conto della variabilità dell'esposizione e dei picchi relativi ad attività meno routinarie).
- eterogeneità dei metodi utilizzati per la valutazione di rischi (anche se c'è una discreta standardizzazione dei metodi per la misurazione di agenti chimici e fisici).

In tale ottica, risulta di fondamentale importanza realizzare specifiche indagini sanitarie-occupazionali, volte a valutare ed approfondire le conoscenze sui rischi derivanti dall'esposizione alle sostanze che vengono utilizzate nel ciclo produttivo in modo tale da prevenire le malattie causate dall'esposizione professionale. Un modello di valutazione e caratterizzazione del rischio occupazionale che può colmare le carenze e le lacune dei dispositivi normativi in materia di tutela della salute dei lavoratori, fornendo al contempo strumenti idonei a supporto degli organi deputati al controllo. La numerosità delle noxae patogene ed il sovrapporsi delle stesse nelle diverse condizioni di lavoro possono determinare situazioni di notevole complessità, che, per essere efficacemente affrontate, necessitano del contributo delle conoscenze epidemiologiche, tossicologiche ed igienistico-industriali. L'epidemiologia, quindi, può contribuire in concreto a rinnovare ed aggiornare l'attività di medicina del lavoro e a fondare quest'ultima su evidenze e prove di efficacia attraverso metodologie capaci di garantire la validità dell'osservazione di relazioni tra esposizioni ed effetti, combinare osservazioni e studi indipendenti su associazioni esposizione-rischi e condurre una valutazione quantitativa, nonché impostare studi ad hoc di valutazione di efficacia di misure di sorveglianza, monitoraggio e prevenzione.

La sorveglianza sanitaria rappresenta un terreno particolarmente fertile per valutazioni di efficacia e per l'acquisizione di dati di evidenza, ma ancora poco sfruttato. Una collaborazione tra diversi centri e strutture dedicati alla medicina e igiene del lavoro è indispensabile per riuscire a sfruttare questa opportunità.

## **Obiettivi**

Lo studio intende valutare l'esposizione del lavoratore attraverso l'analisi di biomarcatori di esposizione e di effetto, integrando l'attività di monitoraggio e controllo a cui sono preposti gli organi di competenza, in modo da consentire un'adeguata e più approfondita conoscenza dei rischi a cui sono potenzialmente

soggetti i lavoratori esposti. Il disegno dello studio prevede il monitoraggio di una coorte selezionata di lavoratori esposti a eventuali agenti chimici, operanti in diversi settori, come:

- impianti di trattamento rifiuti;
- Vigili del Fuoco;
- Operatori agricoli e zootecnici;
- Benzinai
- Lavanderie industriali e concherie.

L'esposizione sarà valutata attraverso lo sviluppo di un apposito modello di valutazione del rischio chimico.

L'obiettivo è quello di individuare la correlazione tra esposizione a sostanze, considerate nocive e/o cancerogene dalla normativa, e salute dei lavoratori, in modo da applicare le opportune azioni di prevenzione a tutela della salute degli addetti. Attraverso lo sviluppo di sinergie positive tra diversi operatori della prevenzione ambientale e sanitaria, in un quadro istituzionale certo e definito, (ITN Pascale, Dipartimento di Sanità Pubblica UNINA), il progetto propone uno sperimentale e innovativo modello teorico. Il focus è quello di implementare un'operazione di controllo del territorio volto a garantire la più assoluta trasparenza e valenza scientifica, delineando un percorso che affronti in maniera sistematica gli impatti ambientali, socioeconomici, sanitari e fornisca gli indirizzi per uno sviluppo del territorio condiviso dalla comunità e dalla realtà imprenditoriale.

Gli obiettivi specifici prefissati nel progetto sono:

- Integrare il modello di valutazione del rischio chimico a cui sono esposti i lavoratori
- Valutare una ipotetica correlazione tra esposizione occupazionale e salute dei lavoratori attraverso specifiche attività di monitoraggio e ricerca.
- Collaborare alla realizzazione di un modello per la prevenzione primaria e secondaria di malattie lavoro-correlate.
- Fornire strumenti scientifici e soluzioni procedurali di supporto ai vari organi di controllo, in modo da attuare le misure previste dalla normativa in termini di prevenzione e sicurezza dei lavoratori.

### **Disegno di Studio**

Il processo di valutazione del Rischio da esposizione ad agenti chimici si articola, su tre fasi fondamentali:

- Valutazione del pericolo. Alla base vi è un'attenta e scrupolosa analisi della Scheda di Sicurezza del prodotto, in cui sono elencate e descritte tutte le proprietà intrinseche di pericolo della sostanza oggetto della valutazione.
- Valutazione dell'esposizione. Bisogna tener conto delle modalità attraverso la quale i lavoratori esposti possono entrare in contatto con la sostanza, della frequenza di utilizzo, della quantità massima e di valutazioni ambientali e rilevazioni biologiche volte a caratterizzare la presenza della sostanza nell'ambiente di lavoro e/o l'assorbimento nell'organismo.

- Caratterizzazione del rischio. Sulla base dei risultati emersi dalle due fasi precedenti elaborando una serie di misure preventive, protettive e di sorveglianza sanitaria, rivolte a eliminare o ridurre, la possibilità di esposizione alla sostanza nell'ambito dello scenario lavorativo analizzato, e in parallelo a monitorarne la presenza e la diffusione.

Lo studio prevede tre piani di azione:

1) Valutazione Preliminare

Compilazione di un questionario preliminare da sottoporre a ciascun operatore, da parte di un medico autorizzato, che raccolga le seguenti informazioni:

- Tipologia di attività aziendale
- Mansione svolta
- Orario e carico di lavoro
- Eventuale esposizione a sostanze chimiche
- Formazione del personale sul rischio chimico
- Comportamento del lavoratore sul luogo di lavoro.
- Anamnesi patologica riguardo i sintomi ipoteticamente correlati all'esposizione a sostanze chimiche (problemi respiratori, epatici, neurologici, ecc.).

2) Parte Ambientale

Valutazione dei livelli di esposizione alle sostanze chimiche/miscele utilizzate durante i processi lavorativi, attraverso l'utilizzo di campionatori attivi e passivi si procederà a determinare le relative concentrazioni negli ambienti di lavoro e l'esposizione dei singoli addetti.

3) Parte Analitica

Raccolta e analisi dei campioni biologici secondo il protocollo delle Studio riportati nell'apposita sezione.

### 6.4.3 GEMMA

#### Premessa

I Disturbi dello Spettro Autistico (DSA) sono caratterizzati da una grave compromissione delle capacità di comunicazione e interazione sociale, con vari deficit nella comunicazione e nell'area degli interessi e delle attività. Questi disturbi si manifestano nella maggior parte degli individui di solito nei primi anni di vita e sono accompagnati da un certo grado di ritardo mentale. I DSA si manifestano con un uso stereotipato dei movimenti, del linguaggio o degli oggetti; eccessiva aderenza a routine, rituali motori o verbali e/o resistenza al cambiamento; fissazione per interessi particolari o ristretti in modo anormale nella durata o nell'intensità; iper o ipo reattività agli stimoli sensoriali o inusuale interesse per particolari dettagli dell'ambiente. Il disturbo Autistico, disturbo di Asperger e il disturbo Generalizzato dello Sviluppo non altrimenti specificano fanno parte dei DSA. Negli ultimi anni si sono registrati considerevoli progressi nella definizione eziopatogenetica dei

DSA, con l'acquisizione di evidenze a favore dell'ipotesi che determinati fattori organici possano contribuire all'insorgenza interferendo nella fase dello sviluppo del Sistema Nervoso Centrale. Allo stato attuale, tuttavia, è possibile asserire che fattori biologici noti siano identificabili con i DSA solo nel 20% dei casi; una definizione eziopatogenetica più precisa appare però raggiungibile attraverso l'impiego delle scienze omiche, come nello studio qui presentato.

## **Obiettivi**

Obiettivo primario dello studio GEMMA (Studio Multicentrico, prospettico, interventistico, no-profit su bambini a rischio di disturbi dello spettro autistico) è l'individuazione e la validazione dei biomarker multi omici predittivi di sviluppo dei DSA in bambini a rischio.

Gli obiettivi secondari dello studio sono:

1. Il confronto dei fattori/variabili sotto riportati fra i bambini che sviluppano il DSA con o senza sintomi GI con bambini a rischio d'età, sesso e sintomi GI equivalenti che non hanno sviluppato il DSA:
  - Composizione del microbioma/metagenoma-metatrascriptoma
  - Composizione del metaboloma
  - Funzione della barriera intestinale
  - Risposta immunitaria
  - Neuroinfiammazione
2. Il confronto dei seguenti fattori/variabili in bambini a rischio che sviluppano il DSA con o senza sintomi GI prima e dopo l'insorgenza della patologia:
  - Composizione del microbioma/metagenoma-metatrascriptoma
  - Composizione del metaboloma
  - Funzione della barriera intestinale
  - Risposta immunitaria
  - Neuroinfiammazione

## **Disegno di Studio**

Si tratta di uno studio multicentrico, prospettico, no profit con un braccio osservazionale ed uno interventistico, per la valutazione dei bambini a rischio di DSA. Il braccio interventistico non prevede la somministrazione di farmaci. Non esiste a tutt'oggi uno studio prospettico che esamini l'insorgenza di DSA nei bambini a rischio di sviluppare detta condizione. Questo studio permetterà di rilevare un'incidenza dello sviluppo del DSA su bambini che hanno parenti di primo grado che hanno già ricevuto una diagnosi accertata di DSA, in un orizzonte temporale (3 anni) riconosciuto come l'intervallo di tempo nel corso del quale i bambini sviluppano generalmente il DSA. Lo stretto monitoraggio a partire dalla nascita di questi bambini a rischio consentirà inoltre di valutare i fattori intrinseci ed estrinseci (compresi i biomarker) che possono essere correlati all'insorgenza del DSA rispetto ad un gruppo di bambini che non sviluppano il DSA (il gruppo di 'controllo' di bambini a rischio arruolati nello studio che non sviluppano il DSA). Si prevede di arruolare 600 bambini a

rischio di DSA lungo un periodo di 3 anni (vedi calcolo delle dimensioni del campione) in 3 sedi: Salerno, Boston, Dublino, i (il numero di arruolamenti previsto è lo stesso per ogni sede, circa 200 soggetti) onde ottenere le popolazioni target valutabili descritte nelle sezioni successive.

Le popolazioni target valutabili dello studio per i confronti clinici e biologici comprendono i quattro gruppi sotto riportati (ogni gruppo comprenderà almeno 20-30 soggetti valutabili per un totale di almeno 80-120 soggetti valutabili):

- 1) bambini a rischio neuro competenti che non presentano sintomi gastrointestinali (NC),
- 2) bambini a rischio neuro competenti che presentano sintomi gastrointestinali (NC-GI),
- 3) bambini con DSA che non presentano sintomi gastrointestinali (DSA) e
- 4) bambini con DSA che presentano sintomi gastrointestinali (DSA-GI).

A mano a mano che i bambini ricevono diagnosi di DSA questi verranno assegnati in sequenza ad uno dei gruppi 3 o 4; i bambini neuro competenti verranno seguiti fino a 36 mesi di età e i dati selezionati alla fine dello studio forniranno le informazioni per i confronti con i gruppi di controllo corrispondenti. Tutti i 600 bambini verranno esaminati con visite cliniche e di laboratorio periodiche per un periodo di 36 mesi, o, nel caso di bambini che sviluppano il DSA, fino a formulazione della diagnosi, in base ad una verifica annuale intermedia dei dati clinici sui bambini arruolati nello studio. L'arruolamento proseguirà per un periodo di 30 mesi al fine di massimizzare il numero di bambini idonei che hanno ricevuto diagnosi di DSA o per un periodo più lungo in quei casi in cui il numero di soggetti arruolati sia insufficiente, garantendo in tal modo un minimo di 20 soggetti valutabili per ciascun gruppo.

Si rimanda per i dettagli alle apposite sezioni dedicate e al capitolo approfondimenti

#### **6.4.4 Atlante Regionale delle Neoplasie – Registro Tumori.**

##### **Premessa**

Scopo primario della sorveglianza epidemiologica da rischio ambientale è favorire azioni di prevenzione primaria: identificare possibili fonti ambientali di rischio per la salute delle popolazioni e proporre la loro rimozione e/o mitigazione. Una corretta e non generica sorveglianza epidemiologica mirata si concretizza attraverso:

- identificazione puntuale, di aree territoriali a rischio specifico per fattori di rischio puntuali; analisi della letteratura evidenziano che in genere si tratta di microaree geografiche e non di macro aree di grandi dimensioni;
- identificazione, nelle aree identificate a rischio, di effetti sanitari definiti e con possibile correlazione ai fattori di rischio individuati;
- indicazione di misure puntuali, sanitarie e non, mirate a fornire una risposta specifica al problema rilevato ed al rischio identificato.

A queste considerazioni di carattere generale, si aggiungono alcune considerazioni riferite alla patologia oncologica. Questa si caratterizza per essere una patologia cronico degenerativa a genesi multifattoriale e con lunghi tempi di latenza, nell'ordine di 10 – 20 anni; in tale multifattorialità l'ambiente può rivestire un ruolo determinante. La sorveglianza epidemiologica da rischio ambientale implica la conoscenza e la puntuale definizione degli elementi in studio, tra cui i principali:

- caratterizzazione del rischio ambientale riferito al territorio che si va a sorvegliare: tipologia dell'inquinante rilevato e sue vie di diffusione;
- complessità delle interazioni ambiente/cancro che si vanno a realizzare: vie di trasmissione inquinante/soggetto esposto, tempi di esposizione, analisi fattori confondenti;
- strumenti di epidemiologia che si intendono utilizzare: tipologia degli indicatori di rischio e degli indicatori di esito, metodologie di analisi, misure per la definizione del rischio.

Infine va detto che gli studi e le analisi condotte nell'ambito della epidemiologia da rischio ambientale si configurano inizialmente come studi descrittivi di popolazione, finalizzati alla sola descrizione degli eventi osservati ed alla possibile rilevazione di correlazioni tra dato sanitario e dati ambientali; solo studi successivi, di carattere analitico e con utilizzo di dati personali e non di popolazione, disegnati ad hoc sulla base delle ipotesi di correlazioni fatte dagli studi descrittivi, potranno entrare nel merito di possibili nessi di causalità tra evento sanitario rilevato e fattore di rischio individuato.

##### **Obiettivo**

**Implementare sull'intero territorio regionale un sistema di sorveglianza epidemiologica continua correlata a rischio ambientale**

1. Strutturazione per fini epidemiologici dei flussi informativi regionali in ambito sanitario: Schede di Dimissione Ospedaliera, dati di mortalità generale e specifici per causa, dati di incidenza oncologica prodotti dalla Rete di Registrazione Oncologica Regionale, dati prodotti dal Registro Regionale delle

malformazioni e difetti congeniti;

### **Indicatori**

Realizzazione di un portale regionale open su cui rendere pubblici ed interattivi:

- atlante regionale di mortalità generale e specifico per causa, con dettaglio comunale, per il periodo 2006/2014;
- atlante regionale di incidenza oncologica, con dettaglio comunale, per il periodo 2008/2013;
- atlante regionale dei Ricoveri Ospedalieri, con dettaglio comunale, per il periodo 2006/2017;
- report regionale riferito alle malformazioni e difetti congeniti per il periodo 2003/2015;

2. Georeferenzazione e linkage dei dati di incidenza e mortalità oncologica con dati ambientali, con dettaglio di particella censuale, in almeno una ASL regionale;

### **Indicatori**

- pubblicazione di mappe di rischio ambientale dell'ASL di riferimento con dettaglio comunale e sub-comunale su dati di incidenza oncologica e mortalità generale e specifica per causa;
- pubblicazione di mappe riferite alla rilevazione, se presente, di cluster di incidenza e mortalità oncologica con dettaglio comunale e per particella censuale;
- pubblicazione di mappe riferite alla rilevazione, se presente, di cluster di incidenza e mortalità oncologica in aree limitrofe a fonti di rischio ambientale nel raggio di 500, 1000 e 3000 metri.

3. Georeferenzazione e linkage dei dati di incidenza e mortalità oncologica con dati ambientali, con dettaglio di particella censuale, su una estensione territoriale di riferimento di almeno il 50 % della popolazione regionale;

### **Indicatori**

- Ricerca, e pubblicazione, se presenti, di cluster di incidenza e mortalità oncologica con dettaglio comunale e per particella censuale su una estensione territoriale di riferimento di almeno il 50 % della popolazione regionale;
- Ricerca, e pubblicazione, se presenti, di cluster di incidenza e mortalità oncologica in aree limitrofe a fonti di rischio ambientale nel raggio di 500, 1000 e 3000 metri.

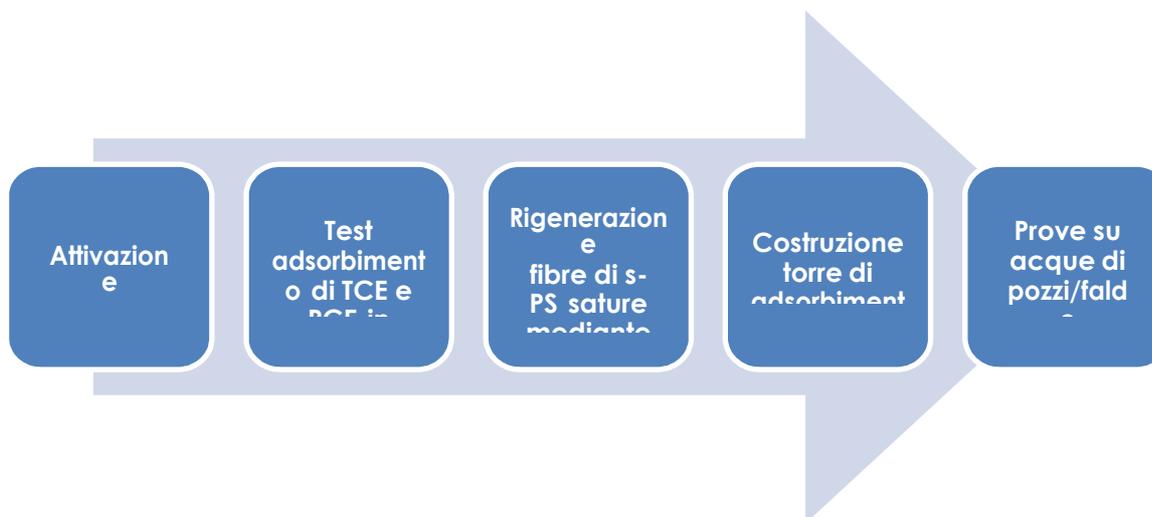


## 7. ALLEGATO RICERCA

## 7.1. ABSTRACT

Questo progetto di ricerca ha l'obiettivo di individuare un **processo efficace, efficiente e a costi sostenibili** per il risanamento di falde acquifere inquinate da composti clorurati presenti in Campania. Infatti, nella Regione Campania sono stati rilevati diversi pozzi contaminati da tricloroetilene (TCE) e tetracloroetilene (PCE), altamente pericolosi per l'uomo e per l'ambiente. Pertanto, l'individuazione di una tecnica efficiente e a costi sostenibili di depurazione delle acque risulta indispensabile al fine di garantire l'obiettivo di qualità secondo i limiti riportati nel D. Lgs. 152/2006.

In particolare, si propone l'utilizzo di un materiale adsorbente innovativo, fibre di polistirene sindiotattico (s-PS) attivate nella forma nanoporosa cristallina  $\delta$ , da inserire all'interno di torri di adsorbimento operanti in continuo. **Mediante studi effettuati presso l'Università degli Studi di Salerno, sono stati sviluppati processi, anche brevettati, sulla produzione e utilizzo/rigenerazione di tali fibre ed hanno dimostrato che i composti organici volatili (VOC), possono essere preferenzialmente adsorbiti nella forma nanoporosa cristallina  $\delta$  delle fibre di s-PS;** in tal modo, si ha la formazione della struttura cristallina clatrata, **in cui i VOC si comportano da molecole ospiti.** Grazie a questo particolare meccanismo di adsorbimento, **questo materiale può superare l'efficacia delle tecniche tradizionali perché è possibile avere una elevata selettività del processo ma, soprattutto, la capacità di captare anche tracce (dell'ordine dei ppb) degli inquinanti presenti nell'acqua.** Le fibre di s-PS, già prodotte industrialmente, possono essere attivate con uno specifico processo e rigenerate mediante un processo altrettanto semplice e scalabile, che prevede l'utilizzo di anidride carbonica in condizioni supercritiche (SC-CO<sub>2</sub>), che allontana in modo puntuale le molecole di solvente organico rendendo le nano cavità delle fibre di s-PS pronte per alloggiare nuove molecole ospiti. Le prove di eliminazione di inquinanti clorurati, quali principalmente TCE e PCE, verranno condotte su scala laboratorio prima, su una torre di adsorbimento poi, e, infine, su una torre pilota in continuo, utilizzando acque di falda inquinate provenienti da selezionati siti campani. Di seguito, sono rappresentate, mediante un diagramma a blocchi, le fasi principali del progetto di ricerca.



## 7.2. INQUINAMENTO DELLE ACQUE

*In questa sezione sarà introdotto e descritto il problema dell'inquinamento delle acque, con particolare attenzione ai principali inquinanti e alle normative di riferimento in Italia e in Europa. È anche riportato un focus sulla situazione in Regione Campania.*

L'acqua rappresenta un bene primario per l'intera esistenza: ogni forma di vita è legata ad essa e gran parte delle attività umane vertono sulla possibilità di accedere a tale risorsa. È una risorsa rinnovabile; eppure, per milioni di persone, l'impossibilità di accedere in maniera adeguata a risorse idriche mette in pericolo l'esistenza stessa e la possibilità di sviluppo e progresso.

Con il termine di inquinamento dell'acqua si indica un'alterazione della composizione o dello stato fisico della risorsa idrica, legata completamente o parzialmente all'attività umana, che ne modifica le naturali caratteristiche chimiche, fisiche, biologiche e microbiologiche, così da costituire un pericolo per l'ambiente e per tutte le comunità viventi. Esistono due principali vie attraverso le quali gli inquinanti raggiungono l'acqua: la via diretta e la via indiretta. L'inquinamento per via diretta avviene quando vengono riversate direttamente, nei corsi d'acqua, sostanze inquinanti, senza alcun trattamento di depurazione. La via indiretta, invece, si ha quando le sostanze inquinanti arrivano nei corsi d'acqua tramite aria e suolo.

Le principali fonti di inquinamento possono essere:

- naturali, ovvero legate a fenomeni non dipendenti da azioni antropiche;
- urbane o domestiche, legate, cioè, all'immissione di liquami e reflui civili;
- agricole, derivanti principalmente da un uso eccessivo e scorretto di fertilizzanti e pesticidi con cui vengono trattati i terreni, che possono condurre a condizioni di eutrofizzazione;
- industriali, legati in primo luogo ai residui di lavorazione, ovvero scarichi, nei corpi idrici, di sostanze tossiche e non biodegradabili provenienti dai processi produttivi (metalli pesanti, oli minerali, idrocarburi, ammoniaca, solventi clorurati, etc.).

L'esistenza di un ciclo idrogeologico che lega dinamicamente tra loro le varie fasi ambientali, inoltre, costituisce un importante meccanismo di trasporto e diffusione degli inquinanti eventualmente presenti nelle acque, cosicché il problema può riguardare tanto le acque superficiali e marine quanto quelle sotterranee.

È possibile distinguere gli agenti che causano un'alterazione delle proprietà naturali delle acque in due grandi categorie: i macroinquinanti e i microinquinanti.

I macroinquinanti sono sostanze di per sé non tossiche, aventi però una velocità di immissione tale che i cicli biogeochimici non riescono del tutto a smaltirle. Esempi tipici sono i nitrati, i fosfati e molti altri composti organici. I microinquinanti, invece, possono essere sia di natura organica, come pesticidi, idrocarburi ed altri prodotti di sintesi, sia di natura inorganica, come ad esempio metalli pesanti. Nella maggior parte dei casi, si tratta di composti non biodegradabili o lentamente biodegradabili, per cui le loro concentrazioni nell'ambiente tendono facilmente ad aumentare e, di conseguenza, aumenta anche la possibilità di contatto con le varie specie viventi. Un ulteriore problema è che tali sostanze sono difficilmente metabolizzate, per cui tendono ad accumularsi negli esseri viventi, riuscendo così anche a passare da un anello all'altro della catena alimentare. La tossicità dei microinquinanti organici è fortemente incrementata dai lunghi tempi di permanenza nell'ambiente che ne favoriscono i fenomeni di diffusione e trasporto tra le varie fasi ambientali, quali fenomeni di evaporazione, strippaggio, precipitazione, adsorbimento e così via. Le proprietà chimico-fisiche di queste sostanze, infatti, le rendono potenziali inquinanti non soltanto per le acque, ma anche per l'atmosfera e per i suoli, indipendentemente dal modo in cui esse vengono immesse nell'ambiente. Negli ultimi anni, grazie alle diverse scoperte in campo medico, circa la cancerogenicità di molti microinquinanti (IARC, 2004), l'attenzione e la preoccupazione verso tali composti ha subito un notevole aumento. Ciò ha incrementato fortemente la consapevolezza circa il problema dell'inquinamento delle risorse idriche e ha determinato anche un aumento dell'attenzione verso livelli di concentrazione di tali contaminanti sempre più bassi, una volta ritenuti innocui. La maggior parte dei microinquinanti organici è costituita da prodotti di sintesi, per cui la loro immissione nell'ambiente è principalmente legata ad attività svolte dall'uomo. L'interesse sempre maggiore circa l'impatto ambientale di tali composti, ha spinto verso la ricerca di nuove strategie per la tutela delle acque, sia per prevenirne l'inquinamento, sia per bonificare i corpi idrici già contaminati. Con il termine bonifica si intende l'insieme di interventi atti alla rimozione della fonte di inquinamento o alla riduzione dell'agente inquinante presente nelle acque, o anche nei suoli, ad un livello inferiore ai limiti di accettabilità previsti dalla normativa, in funzione della destinazione d'uso e al fine di assicurare la salvaguardia della qualità delle diverse matrici ambientali.

In generale, la salvaguardia della qualità delle acque può essere garantita attraverso strumenti legislativi, piani di monitoraggio e attraverso la pianificazione di azioni mirate alla prevenzione o alla depurazione. Sicuramente una possibile soluzione potrebbe essere quella di limitare o addirittura proibire l'utilizzo di alcune sostanze, sostituendole con altri composti aventi un minor impatto ambientale. Tuttavia, non è semplice, a causa della larga diffusione di molte di queste sostanze in

numerosi campi e in numerose applicazioni. Più semplice, invece, risulta essere l'impiego di trattamenti depurativi delle acque, immediatamente a valle degli impianti in cui si utilizzano i microinquinanti in questione. Al fine di individuare un'efficiente e corretta strategia di bonifica, è, però, necessario avere informazioni circa la tipologia chimica del contaminante e circa la sua possibilità di distribuzione nelle varie matrici ambientali.

La rimozione di microinquinanti organici dalle acque, quindi, rappresenta oggi un problema di vasto interesse a livello mondiale, sia per gli effetti tossici di tali sostanze sull'ambiente e quindi anche sul genere umano, sia per le forti restrizioni legislative da cui essi sono interessati.

In questo progetto, particolare attenzione è stata posta su alcuni composti organici volatili clorurati (VOCs); in particolare, **tricloroetilene (TCE)** e **tetracloroetilene (PCE)**. In questa categoria di composti, si distinguono due principali classi di inquinanti delle acque, ossia i composti aromatici e i composti alifatici, caratterizzati da strutture molecolari completamente diverse. In entrambi le classi, tuttavia, rientrano i composti alogenati, in cui uno o più atomi di idrogeno sono sostituiti con eteroatomi del gruppo degli alogeni. Tali composti riscontrano un notevole interesse nel panorama della chimica delle acque per la preoccupante tossicità nei confronti dell'ambiente e degli esseri viventi. I composti organici volatili alifatici alogenati, ed in particolare quelli clorurati, sono infatti considerati tra i peggiori microinquinanti a causa della loro forte tossicità, correlabile proprio alla presenza di un legame con un alogeno, che influisce sulla natura del composto e sulle sue caratteristiche chimico-fisiche. Tali composti risultano tra i principali inquinanti delle acque, soprattutto delle acque di falda, non soltanto in Italia, ma anche in paesi esteri, quali ad esempio gli Stati Uniti (National Research Council, 1994).

### 7.2.1. I SOLVENTI CLORURATI

I solventi organici clorurati sono composti organici, ossia molecole di idrocarburi, alogeno-sostituite, contenenti cioè almeno un atomo di cloro connesso, attraverso un legame covalente, alla catena di atomi di carbonio. Possono essere saturi, insaturi o aromatici. Un elenco di alcuni dei principali solventi clorurati, è riportato nella **Tabella 1**.

Nome	Abbreviazione	Formul	Altri nomi
Tetracloroetene	PCE	C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>	Tetracloroetilene, Percloroetilene
Tricloroetene	TCE	C <sub>2</sub> HCl <sub>3</sub>	Tricloroetilene, Trielina
1,1-dicloroetene	1,1-DCE	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Cloruro di vinilidene
Cloroetene	VC	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> Cl	Cloruro di vinile
Cloroetano	CA	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> Cl	Cloruro di etile, etilcloruro
Tricloroetano	CF	CHCl <sub>3</sub>	Cloroformio

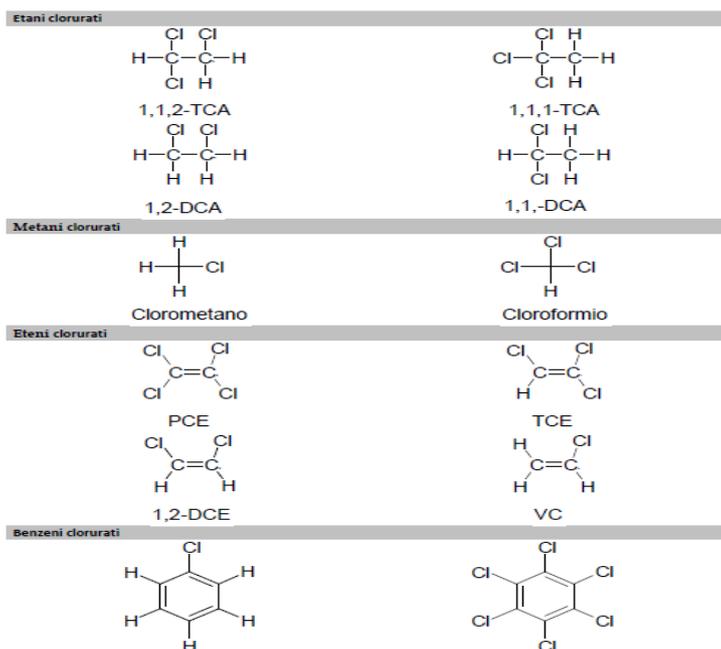
Tetraclorometano	CT	CCl <sub>4</sub>	Tetracloruro di carbonio, perclorometano
Diclorometano	DCM	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Cloruro di metilene
Clorobenzene	CB	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Cl	Fenilcloruro, clorobenzolo
Esaclorobenzene	HCB	C <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	Perclorobenzene

**Tabella 1.** Principali solventi clorurati

I solventi clorurati più comuni possono essere, inoltre, suddivisi in quattro classi:

- Etani clorurati,
- Metani clorurati,
- Eteni clorurati,
- Benzeni clorurati.

In **Figura 25**, sono riportate le formule di struttura di alcuni dei composti appartenenti a tali categorie.



**Figura 25.** Formule strutturali di alcuni dei principali solventi clorurati

Le proprietà chimico-fisiche dei solventi clorurati influenzano il loro comportamento e trasporto nell'ambiente e possono essere riassunte nel seguente modo:

- all'aumentare del numero di atomi di cloro presenti, il peso molecolare e la densità, generalmente, aumentano, mentre la tensione di vapore e la solubilità in acqua diminuiscono;
- ad eccezione del cloroetano e del cloruro di vinile, i quali sono gassosi a pressione e temperatura ambiente, sono tutti composti liquidi e più densi dell'acqua. Ciò fa sì che, in

presenza di una fase acquosa, i solventi clorurati tendono a migrare verso il basso, fino a raggiungere strati di suolo “impermeabili”, e questo rende la loro individuazione e il loro trattamento ancora più difficoltosi;

- hanno una solubilità in acqua dell’ordine dei g/L, a 25 °C, con un massimo di 20 g/L per il diclorometano. In una fase acquosa, quindi, è possibile ritrovare una quantità disciolta di tali solventi molto elevata rispetto alle concentrazioni limite previste dalle normative, che sono di ordini di grandezza inferiori rispetto ai limiti di solubilità;
- la tensione di vapore varia da un minimo di 30 mmHg a 25 °C (1,1,2–tricloroetano) ad un massimo di 600 mmHg a 25 °C (1,1–dicloroetilene);
- il logaritmo in base dieci del coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua è nel range 0.48–2.64. Questo significa che, all’interno di una falda acquifera contaminata, ad esempio, il solvente clorurato sarà maggiormente presente nella fase acquosa, piuttosto che nel terreno.

Nella **Tabella 7**, sono riportate le principali caratteristiche chimico-fisiche di alcuni dei solventi clorurati di maggior interesse.

**Tabella 7.** Proprietà chimico - fisiche di alcuni composti clorurati

Composto	Peso molecolare [g/mol]	Densità [g/mL]	Solubilità in acqua [g/L]	Tensione di vapore [atm]
Vinilcloruro	62.5	0.916	2.76	1.19
Diclorometano	85	1.3266	20	0.335
Cloroformio	119.4	1.4832	7.92	0.243
Tricloroetilene	131.4	1.4642	1	0.0862
Tetracloroetilene	165.8	1.6227	0.15	0.0222

Gli utilizzi di questi composti sono piuttosto vari e differenziati, anche se, per le loro caratteristiche chimiche, sono molto spesso utilizzati come solventi industriali. Più in generale, vengono utilizzati come sgrassanti per metalli, come intermedi chimici, per la pulitura a secco, per l’estrazione di particolari composti, nei processi di lavorazione della plastica, della gomma, della carta, delle vernici e degli adesivi. Nella **Tabella 8**, sono schematizzati i principali utilizzi industriali di alcuni, tra i più comuni, solventi clorurati.

Solvente clorurato	Principale utilizzo industriale
--------------------	---------------------------------

1,2 - DCA	Produzione del cloruro di vinile, del PVC, solvente
Cloruro di vinile (VC)	Produzione del PVC e di altri solventi clorurati
Clorometano	Produzione di siliconi
Triclorometano	Solvente, produzione di idroclorofluorocarburi (HCFC)
1,1,1 – tricloroetano	Solvente, lavaggio a secco
Tetraclorometano	Solvente, produzione di clorofluorocarburi (CFC)
Tetracloroetilene	Solvente, lavaggio a secco
Tricloroetilene	Solvente, lavaggio a secco

**Tabella 8.** Principali utilizzi industriali di alcuni dei più comuni solventi clorurati

La produzione industriale di tali composti è aumentata in maniera consistente nel secolo scorso, raggiungendo un picco negli anni 60' [Field et al., 2004]. A seguito di pratiche di impiego, utilizzo e smaltimento improprie, i solventi clorurati sono diventati tra i principali inquinanti di suoli ed acque, sia superficiali che sotterranee. Già nel 1993, essi costituivano più del 50% di inquinanti riscontrati nei pozzi delle aree industriali del milanese ed, in termini di concentrazioni, è possibile affermare che essi sono responsabili di circa il 90% dell'inquinamento di tali falde. Per quanto riguarda gli effetti tossicologici, benché essi cambino in funzione della specifica sostanza, si può affermare che gran parte di tali composti possiede tossicità epatica, renale ed emopoietica. Le intossicazioni possono verificarsi attraverso le vie respiratorie, oppure per assorbimento cutaneo. Un'esposizione acuta a gran parte di essi causa irritazione alle vie respiratorie, alle vie digestive, agli occhi ed, inoltre, essi possono comportare, in alcuni individui, anche pericolose reazioni allergiche. I soggetti colpiti da intossicazione possono avvertire disturbi neurologici, mal di testa, vertigini o nausea, disturbi alla vista, lacrimazione e numerosi altri effetti. L'esposizione cronica, d'altra parte, nuoce al sistema immunitario e l'assorbimento prolungato può dare origine ad anemie, effetti genotossici, leucemie ed altre forme tumorali (Agency for toxic substances and disease registry).

### **7.2.1.1. DIFFUSIONE E TRASPORTO DEI SOLVENTI CLORURATI NELL'AMBIENTE**

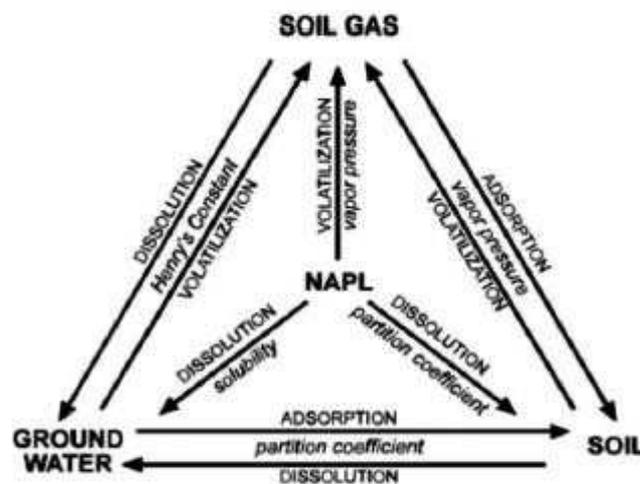
A causa di un'errata gestione dei solventi clorurati, ci si trova di fronte ad un elevato accumulo di tali composti nelle falde acquifere e nei suoli. Tale problema non è limitato alla sola Italia, bensì è esteso in tutta Europa ed anche negli Stati Uniti, motivo per cui si stanno cercando possibili soluzioni per porvi rimedio. Il trasporto e la diffusione di questi contaminanti nell'ambiente esterno dipendono, principalmente, dalle loro proprietà chimico-fisiche.

In generale, un solvente contaminante viene normalmente rilasciato come liquido puro e viene indicato con l'acronimo NAPL, che sta per "Non Aqueous Phase Liquid". Una volta raggiunto

l'equilibrio nel suolo, esso può presentarsi suddiviso in quattro fasi ben distinte:

- può essere presente, in parte, ancora come liquido puro (NAPL);
- in parte può dissolvere nell'acqua sotterranea;
- in parte può essere adsorbito dal terreno;
- ed, infine, un'ultima parte può volatilizzare nei gas presenti nel sottosuolo.

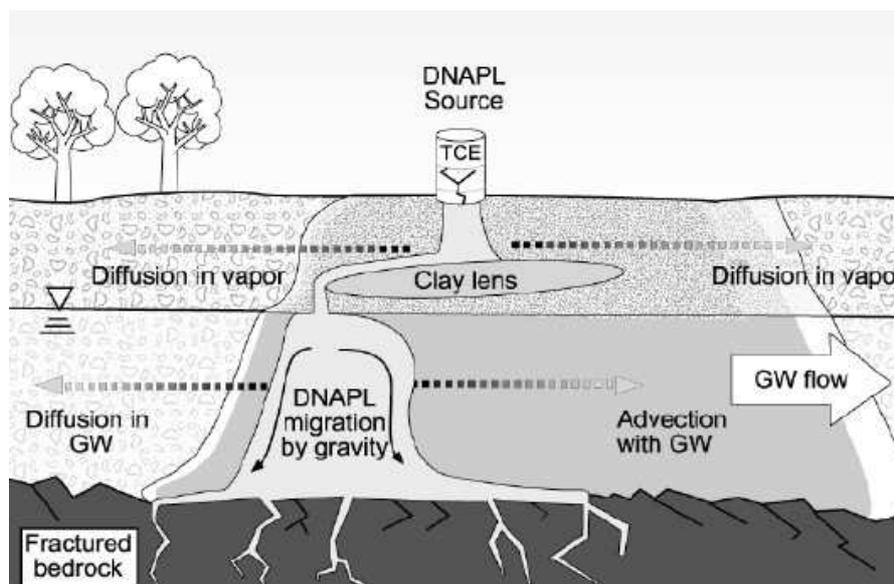
Di seguito, è mostrata una ripartizione schematica dell'equilibrio tra le quattro fasi, precedentemente elencate (**Figura 26**).



**Figura 26.** Equilibri tra le fasi di ripartizione dei solventi clorurati nel suolo

Come è possibile notare dalla Figura 2, la ripartizione del contaminante e l'equilibrio tra le quattro fasi dipendono fortemente dalle caratteristiche chimico-fisiche del solvente stesso. In particolare, l'equilibrio tra il liquido puro, la fase adsorbita dal terreno e la fase disciolta in acqua è determinato dalla solubilità in acqua e dal coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua specifico del contaminante. L'equilibrio tra la fase liquida pura, la fase adsorbita nel terreno e la fase gas presente nel sottosuolo, invece, è determinata dalla tensione di vapore. Infine, l'equilibrio tra la fase disciolta nell'acqua e la fase gas presente nel sottosuolo dipende dalla costante di Henry.

Se si considera un solvente clorurato, essendo più denso dell'acqua, esso dà origine a fasi non acquose molto dense, indicate con l'acronimo DNAPL, che sta per "Dense Non Aqueous Phase Liquid". Anche i solventi clorurati rispettano gli equilibri sopra descritti, ma, a causa della loro elevata densità e della loro bassa viscosità, tendono a migrare più velocemente attraverso il suolo, raggiungendo più facilmente il fondo della falda acquifera, dove tendono a stratificare su uno strato "impermeabile", formando una sorta di "piscinetta" di fase separata. Inoltre, durante la migrazione verso il basso, una porzione della fase non acquosa separata può rimanere intrappolata nelle porosità della fase solida, a causa di forze capillari, causando così una contaminazione lungo tutta la verticale, all'interno del sottosuolo, come rappresentato in **Figura 27**.



**Figura 27.** Rappresentazione del trasporto dei solventi clorurati nel sottosuolo

Le fasi DNAPL, trovandosi nelle zone più profonde delle falde acquifere, sono molto difficili da riconoscere ed individuare; anche le operazioni di bonifica risultano più complesse, dal momento che esse si comportano come fonti di rilascio graduale di inquinante e, quando presenti in alte concentrazioni, tendono ad inibire i batteri adibiti alla loro degradazione, sfavorendo così anche la bonifica biologica.

Il trasporto del contaminante attraverso il sottosuolo, fino al raggiungimento delle falde acquifere è, quindi, un processo molto complesso, dipendente sia dalle caratteristiche chimico-fisiche del contaminante stesso, sia dalle caratteristiche idrogeologiche del sito interessato; inoltre, esso è caratterizzato dalla coesistenza di vari meccanismi: adsorbimento, diffusione, convezione.

### **7.2.1.2. EMISSIONI DI ORIGINE ANTROPICA E NORMATIVE SUI VALORI LIMITE DI CONCENTRAZIONE DEI SOLVENTI CLORURATI**

La maggior parte dei microinquinanti organici è rappresentata da composti di sintesi e, quindi, la loro presenza nelle acque è legata principalmente ad attività antropiche. In Italia, il registro nazionale INES (Inventario Nazionale delle Emissioni e delle loro Sorgenti) raccoglie informazioni sulle emissioni in aria ed acqua di specifici inquinanti provenienti dai principali settori produttivi (attività energetiche, produzione e trasformazione dei metalli, industria dei prodotti minerali, industria chimica e impianti chimici, gestione dei rifiuti, etc.). I dati riportati sono raccolti sulla base di dichiarazioni rese dai gestori dei suddetti impianti, alle quali sono essi tenuti in base al decreto-legge D. Lgs. 152/06. In particolare, tale decreto stabilisce che i gestori degli stabilimenti trasmettano all'Autorità Competente e al Ministero dell'Ambiente, tramite l'Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente e dei Servizi Tecnici (APAT), entro il 30 aprile di ogni anno, i dati caratteristici relativi all'impianto e alle emissioni in aria e acqua,

dell'anno precedente. In ambito europeo, i dati sono raccolti nell'omologo registro europeo EPER (European Pollutant Emission Register).

Entrambi i registri sono nati nell'ambito della direttiva 96/61/CE sulla riduzione integrata dell'inquinamento, meglio nota come direttiva IPPC (Integrated Pollution Prevention and Control). Nella **Tabella 9**, si riportano i dati ricavati dal registro INES relativi alle emissioni di alcuni microinquinanti organici sul territorio italiano. Tali valori sono riferiti agli anni 2002 e 2003 e sono divisi per fase ambientale (aria e acqua) [<http://www.eper.sinanet.apat.it>].

	Acqua [Kg/anno]		Aria [Kg/anno]	
	2002	2003	2002	2003
Benzene			517426.1	475832.5
Cloroformio				536.2
Diclorometano	5512.6	1582.6	191477.0	180430.9
Fenoli	126131.2	113534.4		
Pentaclorobenzen	12.9	48.0		
Tetracloroetilene			333158.0	43770.0
Tetraclorometano			138.7	
Tricloroetilene			4789.0	3286.0

**Tabella 9.** Dati relativi alle emissioni di alcuni microinquinanti organici sul territorio italiano, riferiti agli anni 2002 e 2003 e ricavati dal registro I.N.E.S.

Nella **Tabella 10**, sono mostrati i dati relativi all'Unione Europea, ricavabili dal registro EPER, riferiti all'anno 2001 [<http://eper.cec.eu.int/eper>].

	Acqua [tons/anno]	Aria [tons/anno]
Benzene		3961.33
Cloroformio		234.44
Diclorometano	113.68	5930.38
Fenoli	1323.19	
Pentaclorofenolo		0.469
Tetracloroetilene		754.85
Tetraclorometan		109.05
Tricloroetilene		2704.03

**Tabella 10.** Dati relativi alle emissioni di alcuni microinquinanti organici sul territorio europeo, riferiti all'anno 2001 e ricavati dal registro E.P.E.R.

Per quanto riguarda i dati sulle acque sotterranee, la loro disponibilità è legata unicamente a campagne di

monitoraggio. L'Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente e dei Servizi Tecnici (APAT) riporta la presenza nelle acque sotterranee principalmente di composti organici volatili quali cloroformio, 1,1,1-tricloroetano, tricloroetilene e tetracloroetilene (APAT, 2004). Campagne di monitoraggio condotte dall'ARPAC (Azienda Regionale Protezione Ambientale Campania) confermano sostanzialmente il trend nazionale, evidenziando in particolare la presenza di tricloroetilene e tetracloroetilene, probabilmente dovuta ad un consistente impiego in ambito industriale (ARPAC, 2005).

Le indicazioni fornite dai dati tossicologici e la diffusione delle fonti di emissione, principalmente di origine antropica, obbligano ad intraprendere azioni concrete nei confronti della diffusione dei microinquinanti organici nelle acque e nei suoli. Alcuni dei composti organo-clorurati, infatti, pongono in serio pericolo la salute dell'uomo, per cui, nei paesi maggiormente industrializzati nel mondo, sono stati stabiliti i limiti di concentrazione massima ammissibile (CMA), per le acque destinate ai consumi umani e non. Già nel 1982 la CEE compilò una lista di 129 sostanze potenzialmente nocive per l'ambiente acquatico e per la salute dell'uomo e, tra queste, ben 118 erano composti organo-alogenati [Berbenni et al., 1993].

L'obiettivo di salvaguardia ambientale e umano, però, deve necessariamente avvalersi anche di strumenti preventivi, ovvero di una legislazione che permetta di regolare opportunamente l'immissione di tali composti nell'ambiente. Negli ultimi decenni, la crescente sensibilità verso i problemi legati alla presenza di microinquinanti nelle acque e nei suoli, diretta conseguenza anche di un'evoluzione delle conoscenze scientifiche in materia, si è tradotta in un sistema di norme sempre più stringenti.

#### **In Italia, la normativa relativa ai limiti per le acque potabili è contenuta nel decreto legislativo**

**D. Lgs. n. 31 del 2 febbraio 2001**, che sostituisce ed implementa il n. 236 del 24 maggio 1988. La legge di riferimento che regola la presenza di sostanze inquinanti nei suoli e nelle acque sotterranee e superficiali, nonché i limiti sulle emissioni sia di reflui civili che industriali nelle acque superficiali, in fognatura pubblica e nel suolo, è il D. Lgs. n. 152 del 3 aprile 2006. Tale legge ha unificato e sostituito la precedente normativa (D. Lgs. n. 152, 11 Maggio 1999 e D.M. n. 471 del 25 Ottobre 1999) confermando tutti i limiti da essa precedentemente imposti per tutti i composti organici fin qui analizzati e, inoltre, ha introdotto nuovi vincoli relativi alle emissioni nei cicli produttivi degli inquinanti stessi. In Europa, la normativa di riferimento per le acque è la 2000/60/CE e i successivi aggiornamenti. Con questa direttiva, l'Unione Europea organizza la gestione delle acque interne superficiali, sotterranee, di transizione e costiere, per prevenirne e ridurre l'inquinamento, proteggere l'ambiente e migliorare le condizioni degli ecosistemi acquatici. In Italia, tale normativa è stata recepita dal **decreto ministeriale n. 367 del 6 novembre 2003**, in cui sono fissate linee guida programmatiche, al fine di garantire il raggiungimento di un certo standard di qualità per le sostanze pericolose, da conseguire in due successivi passi temporali, ossia rispettivamente con scadenza 2008 e 2015. I nuovi limiti per i microinquinanti organici, differenziati per acque dolci superficiali, acque salate o lagunari, risultano essere particolarmente restrittivi, con il preciso intento di preservare l'intero ecosistema acquatico.

Un quadro generico delle norme attualmente in vigore, in particolare sui limiti di concentrazione e di

emissione di alcuni dei microinquinanti organici alifatici clorurati (potenziali cancerogeni e non) è riportato nelle **Tabelle 11 e 12**. Si noti che, in particolare per le acque, i limiti ammissibili sono molto bassi: dell'ordine delle parti per miliardo (ppb).

Sostanza	Siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale [mg/Kg]	Siti ad uso commerciale e industriale
<b>Alifatici clorurati cancerogeni</b>		
Clorometano	0.1	5
Diclorometano	0.1	5
Triclorometano	0.1	5
Cloruro di Vinile	0.01	0.1
1,2-Dicloroetano	0.2	5
1,1-Dicloroetilene	0.1	1
<b>Tricloroetilene</b>	<b>1</b>	<b>10</b>
<b>Tetracloroetilene</b>	<b>0.5</b>	<b>20</b>
<b>Alifatici clorurati non cancerogeni</b>		
1,1-Dicloroetano	0.5	30
1,2-Dicloroetilene	0.3	15
1,1,1-Tricloroetano	0.5	50
1,2-Dicloropropano	0.3	5
1,1,2-Tricloroetano	0.5	15
1,2,3-Tricloropropano	1	10
1,1,2,2-Tetracloroetano	0.5	10

**Tabella 11.** Valori di concentrazione limite accettabili nel suolo e sottosuolo in riferimento alla specifica destinazione d'uso (Fonte: D. Lgs. 152/2006, Parte IV, Allegato 5, Tab. 1)

Sostanza	Acque sotterranee Valore limite	Acque superficiali Obiettivo di qualità [ $\mu\text{g/L}$ ]
<b>Alifatici clorurati cancerogeni</b>		
Clorometano	1.5	
Diclorometano		20
Triclorometano	0.15	12
Tetraclorometan		12
Cloruro di Vinile	0.5	0.5
1,2-	3	10
1,1-	0.05	
<b>Tricloroetilene</b>	<b>1.5</b>	<b>10</b>
<b>Tetracloroetilen</b>	<b>1.1</b>	<b>10</b>
Esaclorobutadien	0.15	0.1
Sommatoria organoalogenati	10	
<b>Alifatici clorurati non cancerogeni</b>		
1,1-	810	
1,2-	60	
1,2-	0.15	
1,1,2-	0.2	
1,2,3-Tricloropropano	0.001	
1,1,2,2-Tetracloroetano	0.05	

**Tabella 12.** Valori di concentrazione limite accettabile in acque sotterranee e criteri di qualità in acque superficiali (Fonte: D. Lgs.152/2006, Parte IV, Allegato 5, Tab. 2 e Parte III, Allegato 1, Tab. 1/A)

### 7.2.1.3. TECNOLOGIE PER IL TRATTAMENTO DI ACQUE INQUINATE DA SOLVENTI ORGANICI CLORURATI

In questa sezione, saranno elencati i principali trattamenti convenzionali di depurazione delle acque

*inquinata da solventi organici clorurati. In particolare, sarà approfondito il processo di adsorbimento e le caratteristiche dei materiali adsorbenti, facendo riferimento anche alla letteratura scientifica. A valle di questa analisi, saranno evidenziati i principali limiti presentati dai materiali adsorbenti finora proposti.*

Per la depurazione delle acque inquinate da solventi organici clorurati, sono state adottate nel tempo svariate tecnologie. Data la loro struttura molecolare sufficientemente semplice sono possibili numerosi tipi di intervento, tra cui: **trattamenti biologici** con utilizzo di particolari specie di microrganismi [Hashimoto et al., 2000]; impiego di **processi a membrana** [Couffin et al., 1998]; **trattamenti con carbone attivo** [Kilduff et al., 1998; Bemnowska et al., 2003; Li et al., 2005] o con altri **solidi adsorbenti; processi catalitici** [Yamazaki et al., 2001].

L'utilizzo di un particolare trattamento depurativo non è da considerarsi universalmente valido per tutti i microinquinanti organici, a causa dell'enorme varietà di composti e delle profonde differenze che caratterizzano il comportamento nelle acque di ognuno di essi.

Per quanto riguarda le acque naturali, le tipologie di intervento possono essere *in-situ*, ovvero effettuando il trattamento senza movimentazione delle acque dal loro sito naturale, oppure *ex-situ*, effettuando, cioè, il trattamento in appositi impianti installati in loco (on-site), o in impianti dislocati (off-site). Per le acque sotterranee, in particolare, la tecnica di trattamento convenzionale è quella del *pump and treat*; tale strategia prevede l'intercettazione della falda inquinata, l'emungimento dell'acqua attraverso un sistema di messa in pressione dell'acquifero, il trattamento depurativo in superficie in opportuno sito e la successiva reimmissione all'interno dell'acquifero stesso.

I trattamenti convenzionali, quali quelli di sedimentazione e filtrazione, a cui vengono normalmente sottoposte le acque, siano esse reflue che naturali, risultano inadeguati per la riduzione delle concentrazioni di alcuni solventi clorurati ed, in particolare, di tricloroetilene e tetracloroetilene, a livelli al di sotto di quelli previsto per legge.

**Per il trattamento depurativo di acque inquinate da tri- e tetracloroetilene sono state proposte, per esempio, soluzioni specifiche riconducibili a diversi processi:**

- Air stripping,
- Adsorbimento,
- Processi ossidativi,
- Processi riduttivi,
- Processi biologici.

In alcuni casi, sono state proposte anche soluzioni che prevedono l'utilizzo di due o più processi in serie o in parallelo tra quelli indicati, per un trattamento più spinto del refluo da depurare. Infatti, tra i principali limiti di queste tecniche, vi è proprio la difficoltà di effettuare una depurazione completa quando le quantità di inquinanti in gioco sono particolarmente basse e la complessità di controllo quando si tratta di reazioni chimiche, con relativi costi di gestione.

Un processo potenzialmente applicabile, con costi spesso accettabili, è l'adsorbimento. Tale processo, consolidato per i meccanismi che lo governano, permette di trattare in modo compatto grandi quantitativi di acqua, in modalità semi-continua o continua. Pertanto, **in questo progetto, ci soffermeremo sul processo di adsorbimento.**

## 7.2.2.IL PROCESSO DI ADSORBIMENTO

L'adsorbimento impiega un materiale solido per rimuovere un inquinante presente in forma disciolta nell'acqua. Questo processo si basa sull'interazione chimica superficie-soluto, che si instaura tra il materiale solido e l'inquinante in soluzione. Essendo un fenomeno che riguarda la superficie equivalente del solido, i materiali che vengono comunemente utilizzati sono tutti ad elevata superficie specifica. Nel caso specifico di trattamento di correnti liquide inquinate da TCE e PCE, i tipici materiali adsorbenti, più utilizzati e nominati in letteratura, sono i carboni attivi granulari.

### 7.2.2.1. TEORIA DELL'ADSORBIMENTO

L'adsorbimento è definito come un fenomeno di trasferimento di materia in cui una molecola di una specie chimica in fase fluida (gas, liquida) si lega alla superficie di un solido con cui viene in contatto, grazie alla presenza di forze di attrazione che si generano sulla superficie di interfaccia solido/fluido. La specie sottoposta ad adsorbimento è detta "adsorbato", la fase solida, invece, è nota come "adsorbente". Da un punto di vista termodinamico, l'adsorbimento è un processo spontaneo ( $\Delta G < 0$ ) e caratterizzato da una diminuzione dell'entropia della sostanza inglobata nel solido ( $\Delta S < 0$ ). Inoltre, è un fenomeno esotermico ( $\Delta H < 0$ ), per cui risulta favorito da basse temperature.

A seconda delle forze che si instaurano tra il materiale adsorbente e l'inquinante, è possibile distinguere due diversi tipi di adsorbimento:

- Adsorbimento fisico,
- Adsorbimento chimico.

Nell'adsorbimento fisico, la molecola del contaminante viene trattenuta sulla superficie del materiale adsorbente da deboli forze di natura elettrostatica, con energia di legame molto bassa, quali forze di Van der Waals, forze di dispersione o di London, e così via. Si parla, invece, di adsorbimento chimico o di chemiadsorbimento, quando entrano in gioco veri e propri legami chimici, che possono essere ionici o covalenti e che, generalmente, determinano una modifica delle configurazioni elettroniche. L'adsorbimento chimico è molto più selettivo e, in molti casi, anche irreversibile. Le principali caratteristiche dei due tipi di adsorbimento sono riportate nella **Tabella 13**.

<b>Adsorbimento fisico</b>	<b>Adsorbimento chimico</b>
Basso calore di adsorbimento	Alto calore di adsorbimento
Interazioni soluto – adsorbente non specifiche	Interazioni soluto – adsorbente altamente specifiche
Adsorbimento monolayer o multilayer	Adsorbimento solo monolayer
Non si ha dissociazione delle specie adsorbite	Può comportare dissociazione delle specie adsorbite
Significativo solo a basse temperature	Possibile in un intervallo di temperature molto più ampio
Rapido, non attivato, reversibile	Attivato, può essere lento e irreversibile
Non si ha trasferimento di elettroni sebbene sia possibile la polarizzazione del sorbato	Trasferimento di elettroni per la formazione del legame sorbato - adsorbente

**Tabella 8.** Principali caratteristiche distintive dell’adsorbimento fisico e chimico [Ruthven, 1984]

Lo studio termodinamico e la modellazione dei processi di adsorbimento vengono condotti mediante la realizzazione di *isoterme di adsorbimento*, ossia relazioni empiriche che legano la concentrazione della specie adsorbita sul solido per unità di massa del solido adsorbente ( $\omega$ ) alla concentrazione della specie in

soluzione (C), ad una fissata temperatura e in condizioni di equilibrio termodinamico.

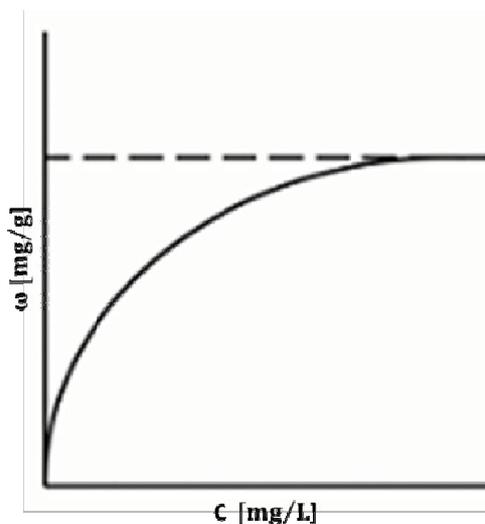
Nel tempo, sono stati sviluppati diversi modelli per descrivere il fenomeno dell’adsorbimento; essi sono tutti basati su considerazioni di tipo empirico e permettono di interpretare il fenomeno mediante equazioni parametriche. Tra i più noti vi sono le equazioni di Langmuir, Freundlich, Henry, B.E.T. e molti altri.

Il modello di Langmuir fu inizialmente sviluppato in riferimento al chemiadsorbimento, ma risulta valido anche per un adsorbimento di tipo fisico, nei casi in cui la concentrazione di soluto è bassa e non determina interazioni con il solvente. In tale modello, l’adsorbimento è descritto come una reazione tra molecole di soluto ed un numero definito di siti attivi del solido adsorbente, in maniera che ogni sito possa adsorbire una sola molecola e che non vi siano interazioni di alcun genere tra le molecole adsorbite. Di conseguenza, in condizioni di equilibrio, il numero di molecole adsorbite risulta uguale al numero di molecole desorbite. Il modello di Langmuir è tra i più utilizzati nei casi reali; tuttavia, in alcuni casi, le ipotesi su cui si basa non risultano verificate, per cui da esso sono stati derivati altri modelli alternativi, quale, ad esempio, il modello di Freundlich, che ipotizza che la superficie del solido adsorbente è energeticamente eterogenea e che, in essa, i siti attivi ad energia minore sono i più diffusi (al crescere del livello energetico, il numero di siti attivi ad esso associabili si riduce).

Quando la concentrazione di soluto è sufficientemente bassa da poter ipotizzare che la molecola di soluto risulta isolata dalle altre e non riceve alcuna influenza dalla loro presenza, la relazione di equilibrio tra la concentrazione in fase fluida e quella sul solido adsorbente può essere descritta da un modello lineare, del tutto analogo alla legge di Henry per le soluzioni di un gas in un liquido. Tale modello è il più semplice e risulta valido quando si ha un ricoprimento solo parziale della superficie esterna del solido.

Infine, il modello B.E.T., che prende il nome dai suoi inventori (Brunauer, Emmet e Teller), è un'estensione del modello di Langmuir, valido nell'ipotesi di adsorbimento multilayer sulla superficie del solido. Di seguito (**Figure 4-7**), sono riportate le espressioni delle isoterme, i parametri e le ipotesi di partenza di ciascuno di questi modelli, con una rappresentazione della tipica forma dell'isoterma prevista da essi.

- Modello di Langmuir



**Figura 4.** Isotherma di Langmuir

dove:

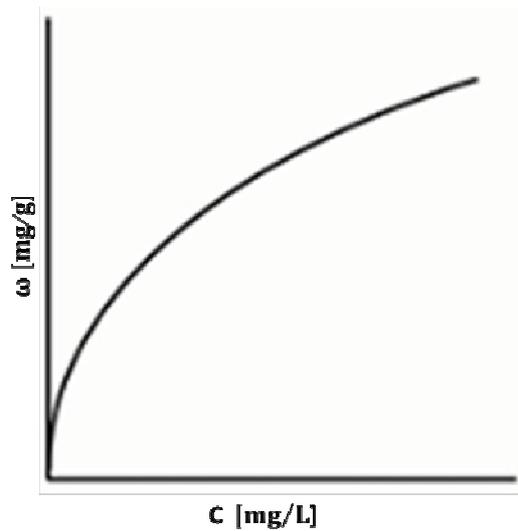
$$\omega = \frac{\omega_{\max} \cdot K \cdot C}{1 + K \cdot C}$$

$K$  = costante di equilibrio termodinamica

$\omega_{ax}$  = massima quantità di soluto adsorbibile, mg/g

Ipotesi di partenza: Adsorbimento monolayer; assenza di interazione soluto-solvente; siti attivi isoenergetici.

- Modello di Freundlich

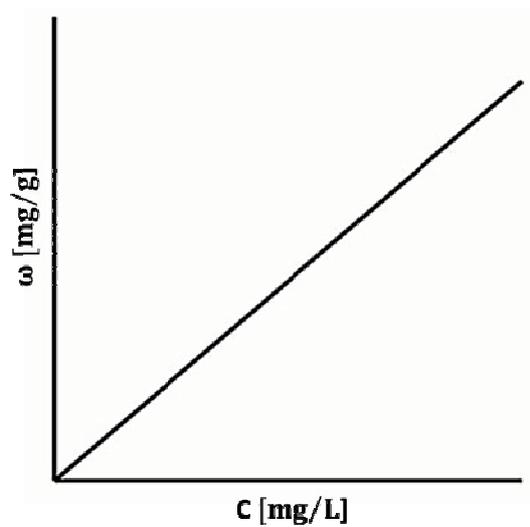


**Figura 5.** Isotherma di Freundlich

$$\omega = K \cdot C^n$$

$n$  = funzione dell'energia di legame, compreso nel range  $[0,1]$  Ipotesi di partenza: Distribuzione esponenziale delle energie sui siti attivi.

- Modello di Henry



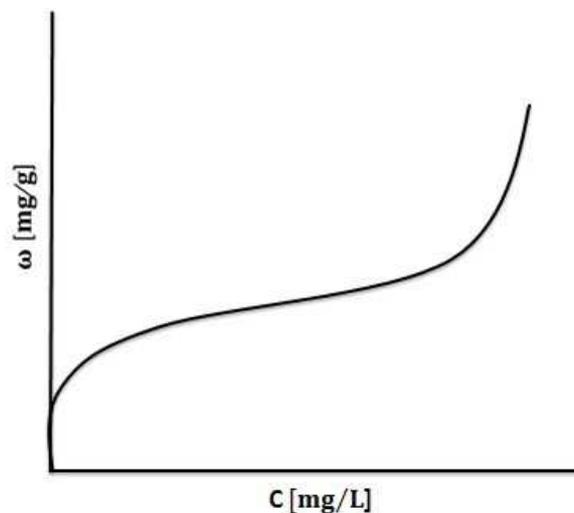
**Figura 6.** Isotherma di Henry

$$\omega = H \cdot C$$

$H$  = costante di Henry =  $\frac{\omega}{C}$

Ipotesi di partenza: Diluizione infinita del soluto adsorbito.

- Modello B.E.T.



**Figura 7.** Isotherma B.E.T.

È interessante osservare che tutti i modelli descritti si riconducono all'isoterma di Henry per valori sufficientemente bassi del range di concentrazione in fase liquida.

Nel caso di adsorbimento da liquidi, è necessario spesso considerare la presenza di più specie chimiche adsorbibili su una stessa superficie, con differenti meccanismi che possono comportare anche una sorta di competizione verso gli stessi siti attivi. I modelli di adsorbimento sopra riportati possono essere applicati anche a fenomeni di adsorbimento multicomponente.

Dal punto di vista cinetico, i processi di adsorbimento sono caratterizzati da cinetiche complesse, che coinvolgono differenti fenomeni elementari, quali:

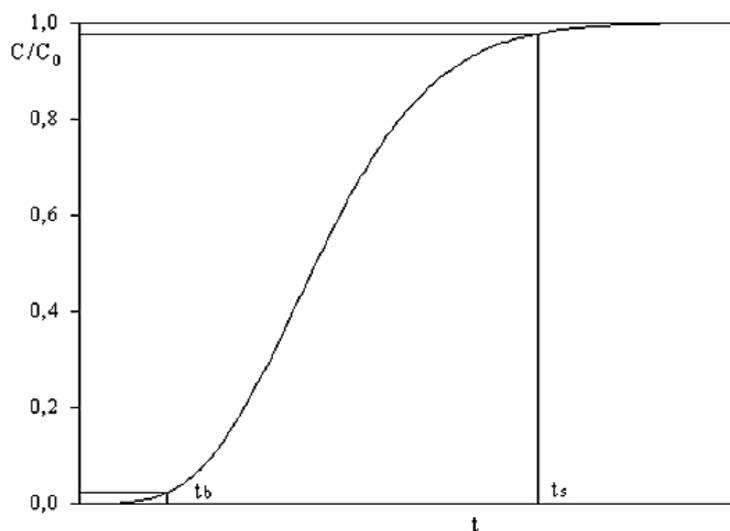
- trasporto di materia esterno, ossia fenomeni convettivi–diffusivi, che determinano il trasferimento di materia dal bulk della fase liquida alla superficie del materiale adsorbente e viceversa;
- diffusione nei pori del solido adsorbente;
- reazione chimica tra soluto e siti attivi.

In altre parole, il trasporto di materia dalla soluzione alla superficie del solido, può essere schematizzato con una serie di step successivi, ad ognuno dei quali è legato un contributo in termini di resistenza. Tali step sono:

- diffusione esterna: trasporto attraverso il film liquido più direttamente a contatto con il materiale solido,
- diffusione interna: trasporto all'interno dei pori, fino al raggiungimento dei siti attivi,
- adsorbimento: formazione del legame tra adsorbente e soluto.

Gli ultimi due meccanismi sono in serie con il primo, ma agiscono in parallelo tra loro. Lo step limitante, che determina la velocità di adsorbimento, è rappresentato dallo stadio più lento e, generalmente, esso è costituito dalla diffusione interna.

La maggior parte dei processi di adsorbimento, in scala industriale, vengono condotti in colonne a letto fisso. Si tratta di reattori tubolari all'interno dei quali si dispone il materiale adsorbente, il quale viene fatto attraversare dalla corrente liquida contenente la sostanza inquinante da rimuovere. Lo studio cinetico dei fenomeni di adsorbimento viene, in genere, effettuato utilizzando *curve di breakthrough* (un esempio è mostrato in **Figura 8**), ossia relazioni sperimentali in cui la concentrazione dell'inquinante nella corrente in uscita dalla colonna viene relazionata al tempo.

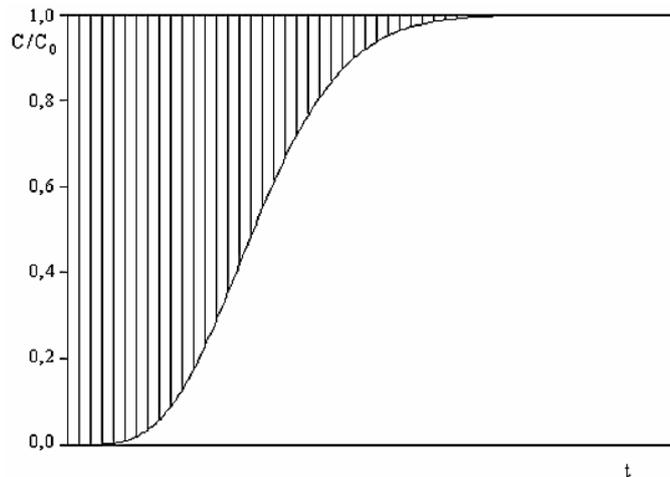


**Figura 8.** Andamento caratteristico della curva di breakthrough

La concentrazione di inquinante all'interno della corrente uscente dal reattore è crescente con andamento sigmoideale. Generalmente, è possibile individuare due tempi caratteristici, corrispondenti a due concentrazioni di riferimento:

- **tempo di breakpoint ( $t_b$ )**, in corrispondenza del quale  $C/C_0 = 0.05$ ;
- **tempo di saturazione ( $t_s$ )**, in corrispondenza del quale  $C/C_0 = 0.95$ .

Inizialmente, la concentrazione in uscita risulta nulla, poiché il solido è in grado di adsorbire completamente la sostanza inquinante; a mano a mano che le zone iniziali del letto, presente nella colonna, si saturano, si osservano concentrazioni in uscita sempre crescenti, fino a quando il letto adsorbente risulta completamente saturato e, quindi, la concentrazione di inquinante nella corrente uscente dalla torre coincide con la concentrazione della soluzione introdotta all'ingresso del reattore tubolare. La quantità di materia adsorbita sul letto completamente saturo è proporzionale all'area compresa tra l'asse delle ordinate e la curva (area tratteggiata nella **Figura 9**).



**Figura 9.** Curva di breakthrough, con evidenziata l'area proporzionale alla massima quantità adsorbibile. Effettuando un bilancio differenziale nel tempo, su tutta la colonna, è possibile scrivere:

$$Q \cdot C_0 \cdot dt - Q \cdot C \cdot dt = m \cdot \omega(t)$$

dove:

$Q$  è la portata volumetrica della corrente liquida introdotta in colonna;  $C$  e  $C_0$  sono rispettivamente le concentrazioni al tempo  $t$  e al tempo iniziale ( $t_0$ ) del componente adsorbito nella corrente in uscita dalla colonna;  $m$  è la massa del materiale adsorbente e  $\omega$  è la concentrazione della specie adsorbita sul solido per unità di massa del solido adsorbente.

Dividendo ciascun termine per  $Q \cdot C_0$  si ottiene la seguente espressione:

$$\left(1 - \frac{C}{C_0}\right) dt = \frac{m \cdot \omega(t)}{Q \cdot C_0}$$

Integrando da zero fino all'istante in cui si raggiunge la completa saturazione del letto, si ottiene la massima capacità di adsorbimento,  $\omega^*$ :

$$\omega^* = \frac{Q C_0 \cdot \int_0^{\infty} \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) dt}{m}$$

Supponendo di interrompere il funzionamento della colonna in corrispondenza di un certo valore del rapporto  $C/C_0$  (al tempo generico  $t'$ ), il letto non risulterà completamente saturo. In questo caso, è possibile valutare la lunghezza del letto inutilizzato, indicata con l'acronimo LUB, dalla seguente espressione, che definisce la % di letto utilizzata:

$$\frac{\omega'}{\omega^*} = \frac{L - LUB}{L} = \left(\frac{1 - LUB}{L}\right)$$

$L$  = lunghezza totale del letto adsorbente.

La lunghezza del letto inutilizzato dipende dalla velocità della corrente fluida introdotta nella torre, dal tipo di adsorbente e di soluto, ma non dalla lunghezza complessiva del letto, da cui risulta indipendente. Infine, il grado di vuoto ( $\mathcal{E}$ ), caratteristico del letto adsorbente, può essere stimato sperimentalmente, introducendo una massa nota di solido all'interno di un contenitore e misurando il volume da esso occupato ( $V$ ). La formula da cui è possibile ricavare  $\mathcal{E}$  è la seguente:

$$V = \frac{\text{massa di fibre}}{\rho_{sol}(1 - \varepsilon)}$$

dove  $\rho_{sol}$  è la densità del solido.

Essendo la torre di adsorbimento una colonna riempita di solido adsorbente è possibile approssimare il volume della torre con il volume occupato dalle fibre polimeriche di s-PS, ottenendo:

$$V_{torre} = \frac{P_{tot}}{\rho_{sol}(1 - \varepsilon)}$$

### 7.2.3. MATERIALI ADSORBENTI

I materiali adsorbenti si distinguono in adsorbenti naturali (quali carbone, argille, minerali argillosi, zeoliti) e adsorbenti sintetici.

Negli ultimi anni, la ricerca di materiali adsorbenti, resistenti ai più comuni inquinanti e aventi un basso costo, è stata notevolmente intensificata ed è stato osservato che anche materiali di scarto, quali rifiuti agricoli e industriali, possono essere utilizzati per la realizzazione di adsorbenti efficaci [Crini, 2005]. Materiali di scarto spesso impiegati includono rifiuti di frutta, gusci di noce di cocco, pneumatici di scarto, segatura, rifiuti di petrolio, rifiuti di fertilizzanti, ceneri volanti, alghe, minerali metalliferi, e così via. I materiali adsorbenti più comunemente impiegati sono il gel di silice, in genere usato per adsorbire molecole d'acqua, i carboni attivi, utilizzati per lo più per l'adsorbimento di solventi, e le zeoliti o argille.

I carboni attivati, sia carboni attivi granulari (GAC) che polveri attivate (PAC), sono comuni adsorbenti utilizzati per la rimozione di impurità presenti in acque reflue domestiche e industriali, grazie alla loro elevata area superficiale, al carattere non polare e alla struttura porosa. Il principale costituente del carbone attivo è il carbonio che ne costituisce fino al 95% in massa. La restante parte è formata da etero-atomi come idrogeno, azoto, zolfo e ossigeno, che possono derivare dalla materia prima e legarsi al carbonio durante l'attivazione o altre procedure di preparazione [Moreno-Castilla, 2004]. Cinque tipi di carbone attivo disponibili in commercio (GAC 1240, GCN 1240, RB 1, pK 1- 3, ROW 0.8 SUPRA) sono stati preparati e utilizzati per rimuovere composti clorurati organici da acque reflue di un impianto chimico. I vari tipi di carbone attivo sono stati testati sulla base di isoterme di adsorbimento di Freundlich per 14 composti clorurati organici puri, tra cui diclorometano, triclorometano, tricloroetilene e tetracloroetilene. Il miglior adsorbente (GAC 1240) è stato selezionato e utilizzato in una colonna fissa da laboratorio per valutare la sua efficienza di rimozione rispetto ai composti clorurati organici testati. Quest'ultima è risultata essere sempre superiore al 90% [Pavonia et al., 2006].

Altri adsorbenti a basso costo sono le argille e i minerali argillosi. I minerali argillosi naturali, grazie alla loro elevata area superficiale e alla struttura particolare del setaccio molecolare, sono adsorbenti molto efficaci per i contaminanti organici di carattere cationico o polare. Minerali e zeoliti argillose, naturali e modificate, sono buoni candidati anche per un miglioramento delle prestazioni dei carboni attivi (AC). Gli adsorbenti preparati da organoclay e carboni attivi, infatti, hanno dimostrato di rimuovere una grande varietà di contaminanti [Beall, 2003; Ake et al., 2003].

Di seguito, sono riportati, più nel dettaglio, diversi esempi presenti in letteratura, di materiali e tecnologie, tradizionali o innovative, pensate per l'adsorbimento di solventi nocivi per l'ambiente e per la salute umana, tra cui vi sono anche solventi clorurati quali tricloroetilene e tetracloroetilene.

Wu et al. (2006) hanno realizzato nanoparticelle bimetalliche di Ni/Fe supportate da acetato di cellulosa (CA) per la rimozione di tricloroetilene da acqua. Sono stati condotti test in batch per valutare la capacità delle membrane polimeriche di acetato di cellulosa caricate con nanoparticelle monometalliche o bimetalliche, nella rimozione di tricloroetilene da acqua. Una serie di flaconcini da 40 mL è stata riempita

con una soluzione acquosa avente una concentrazione iniziale di TCE di 80 mg/L e in essa è stata introdotta una specifica quantità (100 cm<sup>2</sup>) di membrana polimerica, caricata e non. Ciò che è stato osservato in tale studio è che membrane di acetato di cellulosa caricate con nanoparticelle metalliche di ferro e nichel erano in grado di rimuovere il tricloroetilene da soluzioni acquose grazie alla combinazione di due effetti: l'adsorbimento nel supporto polimerico e la riduzione del TCE da parte delle nanoparticelle metalliche. In particolare, l'adsorbimento del TCE da parte del supporto di acetato di cellulosa raggiungeva condizioni di equilibrio in meno di 15 minuti. È stato riscontrato, inoltre, che anche le nanoparticelle monometalliche di solo Ni e Fe supportate, erano in grado di ridurre il quantitativo di TCE in soluzione; utilizzando nanoparticelle bimetalliche di Ni/Fe, tale riduzione risultava favorita.

Salipira et al. (2007) hanno analizzato la possibilità di utilizzare ciclodestrine e nanotubi di carbonio, opportunamente funzionalizzati, per la rimozione di inquinanti organici, come il tricloroetilene, dalle acque. Per la funzionalizzazione, nanotubi di carbonio commerciali, a parete multipla, ottenuti per deposizione chimica da fase vapore di acetilene, sono stati ossidati in una miscela di acido nitrico (10 mL) e acido solforico (30 mL), al fine di introdurre sulla superficie dei nanotubi il gruppo carbossilico (-COOH). Gli autori hanno analizzato la capacità adsorbente del sistema realizzato nei confronti di tricloroetilene presente in una soluzione acquosa, mediante un'analisi di gascromatografia, accoppiata ad una spettrometria di massa (GC-MS). In particolare, un campione di 30 mL di acqua, con una concentrazione iniziale di TCE pari a 10 mg/L, è stato fatto passare attraverso 300 mg di polimero, impaccato all'interno di una piccola colonna (di lunghezza pari a 6 cm e larghezza di 1 cm), con una velocità di flusso di circa 3-5 mL/min. Sebbene i polimeri nativi di sole ciclodestrine già presentassero una buona efficienza di adsorbimento nei confronti dell'inquinante (> 80%), i polimeri incorporati con nanotubi di carbonio hanno fornito risultati ancora migliori. In particolare, polimeri di ciclodestrine caricati con il 5% in peso di nanotubi, presentavano un'efficienza di adsorbimento maggiore del 99% ed, infatti, nel campione analizzato, a seguito dell'attraversamento del polimero, non vi era traccia di TCE rilevabile.

**Erto et al. (2010)** hanno condotto delle analisi sperimentali al fine di valutare l'influenza di alcuni parametri termodinamici (concentrazione, pH, salinità, temperatura e presenza di composti non ionici) sulla capacità di adsorbimento di tricloroetilene da soluzioni acquose con composizione simile a quella delle acque sotterranee, da parte di **carboni attivi granulari** (GAC), di tipo commerciale (Aquacarb207EA). Gli esperimenti, finalizzati alla costruzione delle isoterme di adsorbimento, sono stati realizzati in un forno termostato, utilizzando recipienti di vetro come reattori *batch*. È stato osservato che la capacità di adsorbimento del TCE non dipendeva dalla salinità, indipendentemente dalla natura del sale aggiunto, anche se la sua concentrazione era di ordini di grandezza maggiori di quella del TCE. Dal momento che non sono stati riscontrati effetti legati alla presenza di ioni in soluzione, è stato valutato l'effetto della presenza nella soluzione iniziale di un composto organico non ionico, quale l'acetato di etile ed è risultato che tale presenza aveva un'influenza notevole sulla capacità di adsorbimento. Infatti, la quantità di TCE adsorbita dal carbone granulare attivo, in presenza di acetato di etile, risultava notevolmente ridotta. Infine, la capacità di adsorbimento mostrava un andamento decrescente all'aumentare della temperatura,

in accordo con l'esotermicità dell'adsorbimento.

**Ma et al. (2012)** hanno prodotto **nanofibre di acido poliacrilico (PAA) e alcol polivinilico (PVA), contenenti nanoparticelle bimetalliche di Fe/Pd**. Queste ultime sono molto efficaci per il trattamento di acque inquinate da tricloroetilene; tuttavia, le sole particelle tendono facilmente ad aggregarsi, riducendo così l'efficienza del sistema; per cui, gli autori, hanno pensato di immobilizzare tali particelle all'interno di nanofibre di PAA/PVA. Le nanofibre, al 12% in peso di PAA/PVA, sono state prodotte mediante la tecnica dell'*elettrospinning*. Per valutare la capacità di tale sistema polimerico circa la rimozione del TCE da soluzioni acquose, le nanofibre sono state poste in soluzioni acquose di TCE, aventi differenti concentrazioni iniziali di contaminante (10, 20, 50 e 100 mg/L) e sottoposte ad agitazione. Dopo istanti di tempo fissati, è stata valutata la concentrazione residua di TCE nelle soluzioni mediante l'utilizzo di un gascromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa, ed è stata calcolata un'efficienza percentuale di rimozione. Gli esperimenti hanno rivelato che le nanofibre di PAA/PVA, contenenti nanoparticelle bimetalliche di Fe/Pd, erano molto più efficienti nella rimozione del TCE da soluzioni acquose, soprattutto all'aumentare della concentrazione iniziale di TCE in soluzione, rispetto alle sole nanoparticelle. In particolare, per soluzioni acquose aventi una concentrazione iniziale di TCE pari a 100 mg/L, l'efficienza del sistema nanofibroso risultava superiore al 90%; invece, utilizzando solo nanoparticelle, non si superavano efficienze del 40%.

**Ahmad et al. (2012)** hanno testato la capacità adsorbente di **biochars (BSs) ottenuti via pirolisi da stoppie di soia e gusci di arachidi**, per la rimozione di tricloroetilene da acqua. Attraverso esperimenti *batch*, gli autori hanno osservato una forte dipendenza dell'adsorbimento del TCE dalle proprietà dei *biochars* prodotti. In particolare, la temperatura di pirolisi è risultata essere un fattore di grande influenza per le proprietà di tali materiali carboniosi e, di conseguenza, per le loro capacità di adsorbimento. In tale studio, gli autori hanno evidenziato la dipendenza dell'efficienza di adsorbimento dei *biochars* prodotti da alcune loro proprietà, quali il contenuto di C ed O, i rapporti molari H/C, O/C e (O+N)/C, e l'area superficiale. Naturalmente, la capacità adsorbente aumentava all'aumentare dell'aria superficiale, ma era influenzata positivamente anche dall'incremento del contenuto di C. Al contrario, all'aumentare del contenuto di O, la capacità adsorbente dei *biochars* si riduceva. Inoltre, generalmente, l'adsorbimento di contaminanti organici aumentava con l'aromaticità del materiale, di cui un fattore indicativo era il rapporto molare H/C. Infine, bassi valori dei rapporti molari O/C e (O+N)/C, promuovevano la capacità di adsorbimento dei *biochars*.

**Bortone et al. (2013)** si sono occupati del possibile risanamento di una falda acquifera per mezzo di **pozzi "passivi" profondi, riempiti con carboni attivi granulari**, che fungevano da mezzi adsorbenti. Gli autori hanno studiato la possibilità di realizzare una barriera permeabile adsorbente discontinua (PAB-D), da sfruttare per la decontaminazione di acque sotterranee inquinate. Nel dettaglio, una PAB-D era composta da una o più linee di pozzi, disposti a valle del flusso inquinato, la cui conducibilità idraulica era maggiore di quella del terreno circostante, il che faceva convergere le acque inquinate verso i pozzi riempiti con un mezzo adsorbente in grado di catturare i contaminanti. Come caso di studio, è stato esaminato un acquifero contaminato da tetracloroetilene (PCE), situato vicino Napoli, in una zona in cui erano presenti

diverse scariche di rifiuti solidi pericolosi. La PAB– D è stata progettata utilizzando un codice di calcolo, in cui si è tenuto conto dei singoli fenomeni che si verificavano nelle falde acquifere e nei pozzi: movimentazione delle acque sotterranee, trasporto delle sostanze contaminate, adsorbimento, e così via. È stata calcolata la concentrazione di PCE nell'acqua all'uscita della barriera adsorbente, per un lungo periodo di tempo, al fine di verificare l'efficacia di tale tecnica nel ridurre la concentrazione di inquinante,

almeno a valori inferiori a quelli previsti dalle normative (obiettivo di qualità per le acque sotterranee:  $1.1 \mu\text{g}$

/L). Sono state effettuate diverse simulazioni per identificare le proprietà ottimali del sistema di decontaminazione. L'ottimizzazione della PAB–D consisteva, principalmente, nell'individuare il numero minimo di linee di pozzo, che consentisse un risparmio di materiale adsorbente e, allo stesso tempo, un abbattimento della concentrazione di PCE ai valori desiderati. Il numero minimo è stato individuato mediante un procedimento iterativo, fissando per tutti i pozzi uno stesso diametro, pari a 2 metri. Confrontando i risultati ottenuti dalle simulazioni, con quelli ottenuti immaginando di impiegare, per lo stesso sito, una barriera permeabile adsorbente di tipo continuo (PAB–C), si è visto che, per ottenere lo stesso abbattimento della concentrazione di PCE, era richiesto un quantitativo di materiale adsorbente inferiore. Per cui, il sistema della barriera permeabile adsorbente discontinua è risultato essere un'alternativa allo schema continuo, più frequentemente adottato.

**Hsu et al. (2014)** hanno utilizzato **semi di *Jatropha curcas* (JS) come materia prima per la realizzazione di carboni attivati** da impiegare per l'adsorbimento di composti organici volatili clorurati, quali tetracloruro di carbonio, cloroformio, diclorometano, tetracloroetilene, tricloroetilene e clorobenzene. Gli adsorbimenti dei singoli componenti sono stati valutati mediante il metodo di adsorbimento gravimetrico. I risultati degli esperimenti hanno mostrato che l'adsorbimento aumentava all'aumentare del numero di atomi di cloro e, quindi, con l'aumento del peso molecolare del composto adsorbito. Non vi era, tuttavia, nessuna differenza significativa tra l'adsorbimento di molecole aventi lo stesso numero di atomi di cloro ma diversi ordini di legame. L'influenza del peso molecolare è risultata, quindi, molto più importante dell'esistenza di doppi legami all'interno della molecola adsorbita.

**Gil et al. (2015)** hanno verificato la capacità adsorbente della **stensevite**, un minerale, per la rimozione di tetracloroetilene (PCE) da soluzioni acquose. Prima di essere sottoposto agli esperimenti di adsorbimento, il minerale di partenza è stato pretrattato. Sono state preparate diverse soluzioni con varie concentrazioni iniziali di PCE (da 5 a 70 mg/L) per determinare la capacità di adsorbimento di equilibrio del minerale argilloso. Gli autori di questo studio hanno osservato che la capacità di adsorbimento dell'argilla aumentava al diminuire delle dimensioni delle particelle, perché era disponibile una superficie specifica più ampia, ed aumentava all'aumentare della concentrazione iniziale di PCE in soluzione.

**Almasi et al. (2016)** hanno valutato l'effetto del pH nella rimozione del tetracloroetilene (PCE) da

soluzioni acquose, utilizzando **pomici drogate con rame**. Per indagare l'effetto del pH della soluzione contaminata sul processo di rimozione del PCE, sono state preparate soluzioni acquose di PCE con concentrazioni iniziali di 25, 75 e 125 mg/L, il cui pH è stato modulato, nell'intervallo 3- 11, utilizzando opportune quantità di HCl e NaOH. Sono state testate tre diverse quantità (1, 2, 3 g) di pomice naturale e rivestita con rame, le quali sono state poste in 1000 mL di soluzione e mantenute a contatto con esse per un tempo massimo di 80 minuti. La capacità adsorbente è stata valutata mediante l'utilizzo di un gascromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa. I risultati hanno indicato che l'aumento del pH della soluzione, comportava una diminuzione dell'efficienza di rimozione del PCE della pomice granulata naturale dal 98% al 10.7%; inoltre, riduceva l'efficienza di rimozione del PCE della pomice drogata con rame dal 99.7% al 93.8%. L'influenza più significativa si aveva nel caso della pomice naturale, la cui efficienza di riduzione minima (10.7%) si aveva utilizzandone 1 grammo in una soluzione con concentrazione iniziale di PCE pari a 125 mg/L e pH pari a 11, dopo un tempo di contatto di 20 minuti. In presenza di rame, nelle stesse condizioni, l'efficienza risultava notevolmente maggiore.

**Ersan et al. (2017)** hanno proposto **fogli nanometrici di grafene e di ossido di grafene** come materiali adsorbenti di nuova generazione per il trattamento di acque reflue inquinate da contaminanti organici (OC). Gli autori hanno osservato che le proprietà e le caratteristiche chimico-fisiche degli OC (dimensioni delle molecole, idrofobicità, aromaticità, polarità, ecc.) e le proprietà chimiche del materiale adsorbente e della soluzione da trattare (pH, temperatura) giocavano un ruolo fondamentale nel processo di adsorbimento. È stato rilevato che le forze predominanti che spingevano le molecole di contaminanti organici verso la superficie dei fogli di grafene, erano forze idrofobiche. In particolare, si instaurava una forte interazione attrattiva del tipo  $\pi$ - $\pi$  tra le molecole di OC e la superficie grafitica, ricca di elettroni.

### **7.2.3.1. LIMITI DEI MATERIALI ADSORBENTI TRADIZIONALI E PROPOSTI IN LETTERATURA**

Alla luce delle caratteristiche precedentemente descritte dei principali materiali adsorbenti tradizionali e di quelli innovativi proposti in letteratura, possono essere evidenziati i seguenti limiti di operatività:

- limitata selettività verso gli agenti inquinanti da eliminare,
- cinetica di adsorbimento molto lenta,
- complessità di preparazione dei materiali,
- costi medio-alti,
- problemi di rigenerazione del sistema adsorbente,
- incapacità di adsorbire e/o ridurre concentrazioni di inquinante ai valori specificati dalla legge.

In particolare, se da un lato, i materiali adsorbenti tradizionali (ad es., carboni attivi e argille) sono ben consolidati nell'utilizzo e hanno un costo relativamente basso, dall'altro possono non essere selettivi rispetto al composto da separare, saturandosi in precedenza a causa dell'adsorbimento anche di altre specie simili; inoltre, non sono in grado di adsorbire quantità di adsorbato particolarmente piccole (ad es.,

dell'ordine dei ppb). I materiali adsorbenti innovativi (ad es., nanoparticelle bimetalliche, composti del grafene) sono interessanti per l'efficienza adsorbente e per la selettività, ma richiedono lunghi e complessi processi di preparazione con relativi costi alti.

Anche i processi di rigenerazione di questi materiali adsorbenti (ad es., quando il meccanismo di adsorbimento è di tipo chimico), non sono sempre attuabili e per sistemi complessi sono richieste procedure lunghe con l'utilizzo di solventi pericolosi per l'ambiente.

### 7.3.PROPOSTA PROGETTUALE

*In questa sezione, sarà descritta la proposta progettuale redatta dal Gruppo di Fluidi Supercritici, guidato dal Prof. Ernesto Reverchon, del Dipartimento di Ingegneria Industriale dell'Università degli Studi di Salerno, per la decontaminazione di acque inquinate da solventi organici clorurati.*

#### 7.3.1. BACKGROUND

Le fibre di polistirene sindiotattico (s-PS) sono già largamente prodotte su scala industriale a basso costo; studi recenti hanno dimostrato la possibilità di attivare nella forma nanoporosa cristallina  $\delta$  tali microfibre [Daniel et al., 2016; Patent WO2005012402A1]. È stato dimostrato in laboratorio che tali fibre microporose possono dare un elevato e veloce adsorbimento - se comparato con quello caratteristico dei materiali adsorbenti in commercio - di composti organici volatili presenti in aria o in acqua, come ad esempio: cloroformio, dicloroetano, benzene, toluene, cicloesano. In particolare, i composti organici volatili (VOC) sono preferenzialmente adsorbiti nella forma nanoporosa cristallina  $\delta$ ; in tal modo, si ha la formazione della struttura cristallina clatrata, in cui i VOC si comportano da molecole ospiti [Daniel et al., 2016]. **Grazie a questo meccanismo di adsorbimento, è possibile avere una elevata selettività del processo e capacità di captare anche tracce (dell'ordine dei ppb) degli inquinanti presenti in aria o in acqua** [Patent WO2005012402A1].

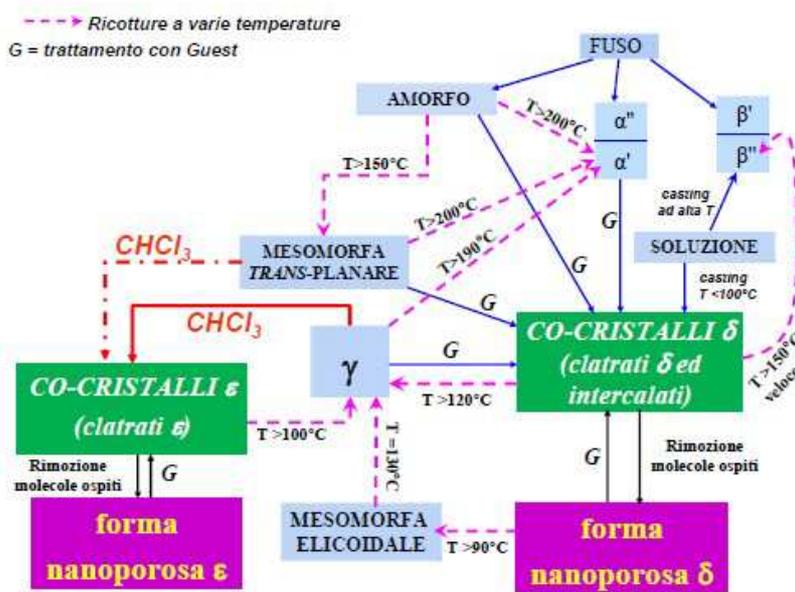
Per quanto riguarda il processo di estrazione assistito da SC-CO<sub>2</sub>, è stato dimostrato che è molto più efficace dei processi tradizionali per la rimozione dei solventi organici impiegati durante la fase di attivazione delle fibre di s-PS e per la rigenerazione delle fibre di s-PS stesse, a valle del loro utilizzo come materiale adsorbente. **Nella fattispecie, la SC-CO<sub>2</sub> allontana in modo puntuale le molecole di solvente organico (in fase di attivazione delle fibre di s-PS) o di adsorbato (quando le fibre di s-PS sono sature) rendendo le nanocavità delle fibre di s-PS pronte per alloggiare nuove molecole ospiti** [Reverchon et al., 1999].

#### 7.3.2. POLISTIRENE SINDIOTATTICO (s-PS)

Il polistirene è un polimero termoplastico di ampia diffusione e utilizzo, che può cristallizzare in diverse forme polimorfiche, caratterizzate cioè da una diversa disposizione degli atomi all'interno del reticolo cristallino. Dei tre isomeri conformazionali del polistirene, solo l'isotattico e il sindiotattico, aventi un'unità

monomerica intrinsecamente ordinata, hanno la capacità di cristallizzare.

Il polistirene sindiotattico presenta buone proprietà meccaniche ed ottiche, associate ad un'elevata temperatura di fusione (circa 270 °C) e ad un'elevata temperatura di transizione vetrosa (intorno ai 100 °C). Esso presenta, inoltre, una buona resistenza termica e a molti solventi ed è in grado di cristallizzare dal fuso molto più rapidamente della forma isotattica. Infine, data la sua natura termoplastica, è **facilmente processabile e riciclabile**. Si sottolinea che già viene prodotto in fibre su scala



**Figura 10.** Rappresentazione schematica delle condizioni di ottenimento e interconversione delle varie forme polimorfiche del s-PS

Le forme polimorfiche  $\epsilon$  e  $\delta$  si ottengono entrambe per cristallizzazione dal fuso, adottando diverse condizioni. Il risultato della cristallizzazione dipende, infatti, da numerosi fattori, come la forma cristallina di partenza da cui si ottiene il fuso, la massima temperatura a cui si porta il fuso, il tempo di permanenza a tale temperatura e la velocità di raffreddamento. La forma  $\epsilon$  può essere ottenuta per rapido raffreddamento dal fuso a temperature superiori ai 170 °C, oppure riscaldando le altre forme del s-PS (forme nanoporose, co-cristalline o altre), ad eccezione della forma  $\delta$ . Quest'ultima, invece, si ottiene generalmente attraverso un lento raffreddamento a temperature superiori a 230 °C, oppure con procedure di casting da soluzioni in diclorobenzene ad alte temperature [De Rosa et al., 2003]. La forma  $\epsilon$  è caratterizzata da una cella elementare esagonale, con catene in conformazione trans-planare; la forma  $\delta$ , invece, presenta una cella ortorombica, con catene, anch'esse, in conformazione trans-planare.

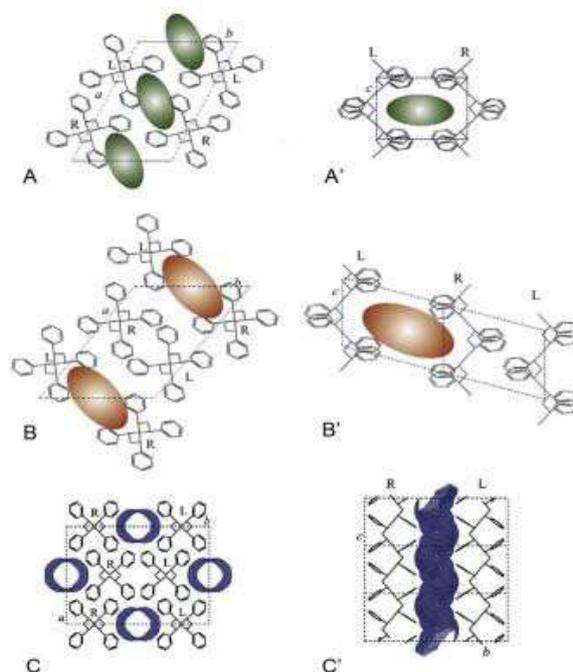
La forma  $\delta$  può essere ottenuta sottoponendo, sia le forme co-cristalline, sia la forma  $\epsilon$ , a ricottura a temperature superiori a 120/130 °C, oppure per immersione di campioni amorfi in opportuni solventi, quali cicloesano, acetone o CO<sub>2</sub> supercritica [De Candia et al., 1993; Ma et al., 2004]. La struttura cristallina della forma  $\delta$  non è ancora ben nota.

**Le forme cristalline nanoporose, ossia la forma  $\epsilon$  e la forma  $\delta$ , possono considerarsi "frameworks"**

**polimerici caratterizzati dalla presenza di nanopori**, “cavità molecolari” dell’ordine dei nanometri, con forme e dimensioni regolari. In particolare, i nanopori (clatrati) delle due forme cristalline sono originati dall’allontanamento di un solvente, indicato come “*guest*”, dai siti presenti nelle forme clatrate, ossia quelle forme di partenza che ospitano le molecole di solvente [Daniel et al., 2007]. Soffermandoci sulla forma  $\beta$ , data la sua struttura cristallina nanoporosa, essa presenta una densità ( $0.98 \text{ g/cm}^3$ ) più bassa di quella della forma amorfa ( $1.05 \text{ g/cm}^3$ ) ed è metastabile: per riscaldamento al di sopra della temperatura di transizione vetrosa si trasforma, infatti, nella forma  $\alpha$ .

Esistono due possibili modificazioni: la forma  $\beta$  può presentare una cella unitaria monoclinica, caratterizzata dalla presenza di due cavità per cella [Wei et al., 2013], oppure una cella triclina, la quale presenta un’unica grande cavità [Acocella et al., 2015]; in entrambi i casi, in tali celle sono impacchettate catene elicoidali. La forma  $\alpha$  può essere ottenuta a partire dalle fibre già prodotte su scala industriale. La forma  $\alpha$  presenta, invece, una cella elementare ortorombica dove lo spazio vuoto è costituito da canali, piuttosto che da cavità isolate.

Le diverse forme cristalline del s-PS sono rappresentate in **Figura 11**.



**Figura 11.** Viste dall’alto (A, B, C) e laterali (A', B', C') delle strutture delle diverse forme cristalline del s-PS: monoclinica (A, A'), triclina (B, B') e ortorombica (C, C') [Daniel et al., 2016]

### 7.3.3. ANIDRIDE CARBONICA SUPERCRITICA (SC-CO<sub>2</sub>)

Si definisce fluido supercritico una sostanza a temperatura e pressione maggiori della sua temperatura e pressione critica [Brunner et al., 2010]. I fluidi supercritici presentano proprietà intermedie tra quelle di un liquido ed un gas, che possono essere controllate modulando pressione e temperatura [Brunner et al., 2010], e si presentano come ottimi solventi per diverse applicazioni.

Le proprietà più interessanti sono:

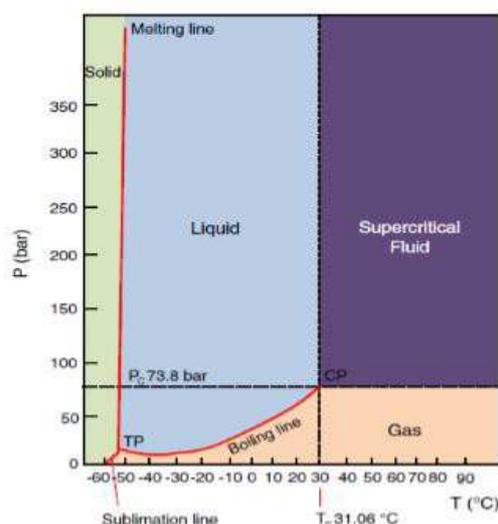
- densità tipica dei liquidi;
- elevato coefficiente di diffusività tipico di un gas;
- basso coefficiente di viscosità tipico di un gas;
- tensione superficiale trascurabile, che facilita la diffusione nei mezzi porosi.

Deve avere, inoltre, condizioni critiche compatibili con la stabilità degli altri composti nel processo, non onerose dal punto di vista economico, non esplosivo e non infiammabile.

L'anidride carbonica, nelle applicazioni industriali, è il solvente maggiormente impiegato, grazie alle sue buone proprietà e alla facilità con cui si possono raggiungere le condizioni supercritiche.

Essa presenta, infatti:

- parametri di pressione critica e temperatura critica (**Figura 12**) prossime a quelle ambientali (71 bar, 31 °C);
- non infiammabilità;
- atossicità;
- basso costo (meno di 1 euro/kg);
- non esplosività;
- mancanza di rischi connessi all'impiego di solventi organici.



**Figura 12.** Diagramma di stato della CO<sub>2</sub>

### 7.3.4. PROGETTO DI RICERCA

Come descritto nella Sezione 1, nella Regione Campania sono stati rilevati diversi pozzi contaminati da TCE e PCE, altamente pericolosi per l'uomo e per l'ambiente (composti cancerogeni). Pertanto, l'individuazione di una tecnica efficiente e a costi sostenibili di depurazione delle acque risulta indispensabile al fine di garantire l'obiettivo di qualità secondo i limiti riportati nel D. Lgs. 152/2006.

In questo progetto di ricerca, **si propone di utilizzare le fibre di s-PS attivate nella forma nanoporosa cristallina  $\delta$  come materiale adsorbente principalmente di tricloroetilene (TCE) e tetracloroetilene (PCE) presenti in acqua.** Mediante questa tecnica, è possibile eliminare anche altri composti alifatici alogenati eventualmente presenti. Viene proposto, inoltre, **un sistema di rigenerazione di tali fibre, che prevede l'impiego di anidride carbonica in condizioni supercritiche, semplice, veloce e facilmente scalabile a livello industriale.** Le prove di eliminazione di inquinanti clorurati, quali principalmente TCE e PCE, verranno condotte su scala laboratorio prima, su una torre di adsorbimento poi, ed, infine, su una torre pilota in continuo, utilizzando acque di falda inquinate provenienti da selezionati siti campani.

Le fasi della ricerca vengono descritte nel seguito:

- **ATTIVAZIONE s-PS.**

L's-PS in fibre viene dapprima **trasformato in forma cristallina  $\delta$** , trattandolo con vapori di un solvente organico, come ad esempio il cloroformio, che modifica la struttura cristallina del polimero e si comporta da molecola ospite della forma clatrata delle fibre. Successivamente, l's-PS viene sottoposto a un processo assistito da SC-CO<sub>2</sub> che rimuove le molecole ospiti senza produrre ulteriore inquinamento perché queste vengono interamente recuperate a fine processo e possono essere riutilizzate per la fase di attivazione. Dunque, le nanocavità delle fibre vengono così liberate per renderle utilizzabili in fase di adsorbimento. Impiegando le fibre di s-PS attivate nella forma nanoporosa cristallina  $\delta$  come materiale adsorbente, è possibile bloccare l'adsorbato proprio in quelle nanocavità e permettere un **meccanismo di adsorbimento selettivo e molto spinto.**

- **PROVE DI ADSORBIMENTO.**

Saranno condotte in prima istanza prove di adsorbimento in discontinuo, ponendo un quantitativo noto di fibre di s-PS attivate nella forma nanoporosa cristallina  $\delta$  all'interno di un volume fissato di soluzioni acquose contaminate, per valutare la capacità di adsorbimento delle fibre dopo tempi prefissati. In tal modo, sarà possibile determinare le cinetiche di adsorbimento delle fibre polimeriche. Le prove si articoleranno in:

- serie di prove TCE;
- serie di prove PCE;
- serie di prove miste TCE e PCE (presenza contemporanea dei due inquinanti);
- serie di prove in presenza di altri inquinanti.

A valle di ogni sperimentazione, saranno effettuate le opportune caratterizzazioni (ad es., GC-MS, spettrofotometria UV/Vis, spettroscopia IR, etc.).

- **RIGENERAZIONE DELLE FIBRE DI s-PS: PROGETTAZIONE, COSTRUZIONE ED ESERCIZIO DI UN PROCESSO ASSISTITO DA SC-CO<sub>2</sub>.**

Il processo di estrazione assistito da SC-CO<sub>2</sub> è un processo alternativo a quelli tradizionali per l'ottenimento di strutture solide perfettamente esenti da residui di solventi organici, preservando, allo stesso tempo, la morfologia dei campioni a livello micro- e nanometrico grazie alle peculiarità dell'anidride carbonica in condizioni supercritiche quali, in particolare, elevato coefficiente di diffusività tipico di un gas e tensione superficiale trascurabile, che ne facilita la diffusione nei mezzi porosi [Reverchon et al., 2008; Baldino et al., 2016]. Questi vantaggi sono difficilmente ottenibili con i processi tradizionali perché sono caratterizzati da tempi più lunghi di trattamento, vi è una scarsa possibilità di controllare le variabili del processo e si ottengono strutture con morfologia irregolare e/o con porosità ridotta a causa dell'effetto della tensione superficiale durante la fase di allontanamento del solvente, che ne determina il collasso. Nel caso dei processi supercritici, invece, selezionando opportunamente i parametri operativi, è possibile modulare, tramite la densità, il potere solvente della SC-CO<sub>2</sub>, agendo sulla termodinamica e sulla cinetica del processo. Pertanto, la SC-CO<sub>2</sub>, penetrando fino al livello nanometrico di un solido poroso, è in grado di estrarre tutto il solvente organico presente per affinità chimica, essiccando e purificando il materiale di partenza.

In questo progetto, il processo ha un duplice obiettivo: **(a) allontanare dalle fibre di s-PS nella forma nanoporosa cristallina  $\delta$  le molecole ospiti di solvente organico utilizzato in fase di attivazione;** **(b) rigenerare le fibre di s-PS rimuovendo dalle nanocavità l'adsorbato.** Utilizzando un impianto scala laboratorio, saranno trattate le fibre di s-PS per individuare le migliori condizioni di processo che garantiscono una rimozione completa e nel minor tempo possibile dalle fibre polimeriche dei solventi organici, evitando il collasso della morfologia nano strutturata delle stesse.

In questa fase, saranno analizzati parametri quali:

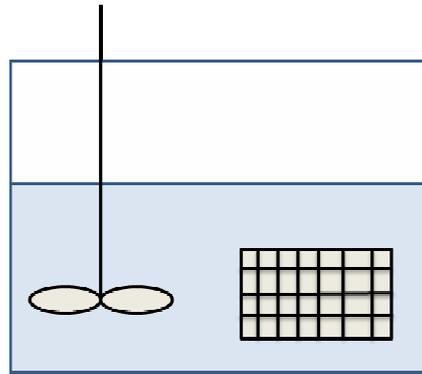
- pressione;
- temperatura;
- tempi di contatto;
- portata SC-CO<sub>2</sub>;
- durata processo.

A valle di ogni sperimentazione, saranno effettuate le opportune caratterizzazioni (ad es., SEM, analisi di residuo solvente, spettroscopia IR, etc.).

**Una volta ottimizzato il processo, si procederà allo scale up dello stesso.**

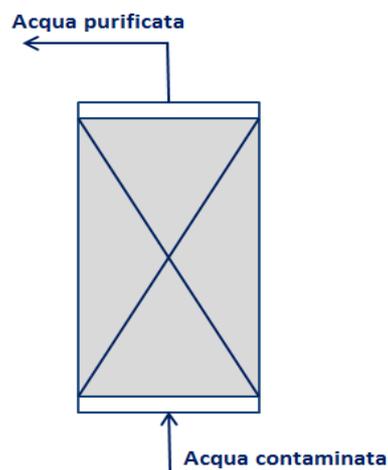
- **PROGETTAZIONE, COSTRUZIONE ED ESERCIZIO DI UNA TORRE DI ADSORBIMENTO IN SCALA LABORATORIO.**

La progettazione di una torre di adsorbimento per la decontaminazione di acque inquinate da solventi clorurati, sarà effettuata a valle della campagna sperimentale in laboratorio. In **Figura 13**, è riportata una rappresentazione schematica di un serbatoio d'acqua in cui viene introdotto un filtro di s-PS per la purificazione dai solventi clorurati.



**Figura 13.** Serbatoio di acqua contaminata contenente un filtro di s-PS per la depurazione dell'acqua

Una volta determinati i parametri del processo, al fine di trattare volumi di acqua maggiori, sarà progettata e realizzata una torre di adsorbimento a letto fisso in scala laboratorio, come schematizzato in **Figura 14**. I principi alla base del processo di adsorbimento e i meccanismi fisico-chimici in gioco sono stati esposti nel Paragrafo 2.1.



**Figura 14.** Schema torre di adsorbimento a letto fisso

Introducendo all'interno della torre una quantità di fibre di s-PS opportunamente scelta ( $\rho$ ) e garantendo un

opportuno tempo di contatto ( $\tau$ ) tra la corrente di acqua da purificare e il solido adsorbente, ci aspettiamo

di ottenere la riduzione della concentrazione dei contaminanti clorurati presenti nell'acqua al di sotto dei limiti di legge.

Dunque, le fibre di s-PS attivate nella forma nanoporosa cristallina  $\delta$  saranno utilizzate come materiale adsorbente in una torre di adsorbimento progettata *ad hoc* per questa applicazione. In questa fase verranno anche sviluppate le procedure di prova per ottenere un processo continuo; i parametri che saranno principalmente analizzati sono:

- portata di acqua;
- tempi di permanenza;
- punto di breakthrough;
- tempo di breakthrough. Le

prove saranno effettuate su:

- serie di prove TCE;
- serie di prove PCE;
- serie di prove miste TCE e PCE;
- serie di prove in presenza di altri contaminanti.

A valle di ogni sperimentazione, saranno effettuate le opportune caratterizzazioni (ad es., GC-MS, spettrofotometria UV/Vis, spettroscopia IR, etc.).

**Inoltre, in questa fase, saranno prelevati campioni di acqua contaminata, in collaborazione con l'IZSM, in siti selezionati della Regione Campania** e sottoposti a depurazione mediante la torre di adsorbimento costruita in questa fase.

Poiché verranno trattate acque di diversa provenienza, potrà essere necessario adattare il processo alla presenza di altri composti: sali, altri inquinanti, etc., mettendo eventualmente a punto delle strategie di trattamento "personalizzate" per lo specifico sito. Allo stesso tempo, queste esperienze potranno essere utili per sviluppare formulazioni di trattamento generalizzate da utilizzare in automatico, quando si volesse provvedere a trattamenti di disinquinamento su larga scala.

- **PROGETTAZIONE, COSTRUZIONE ED ESERCIZIO DI UN SISTEMA DI FILTRI A BASE DI s-PS.**

Ulteriore obiettivo del progetto di ricerca è la progettazione, costruzione ed esercizio di **filtri a base di s-PS da immergere direttamente nei pozzi**, valutando la quantità di fibre da utilizzare e i tempi di saturazione, a valle delle analisi fatte sulle acque del pozzo da trattare, al fine di determinare anche

i **tempi di sostituzione**/rigenerazione dei filtri in sicurezza.

A valle di ogni sperimentazione, condotta secondo le procedure messe a punto nella serie di prove precedenti, saranno ripetute le opportune caratterizzazioni (ad es., GC-MS, spettrofotometria UV/Vis, spettroscopia IR, etc.) per verificare il successo della bonifica.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Acocella M. R., Rizzo P., Daniel C., Tarallo O., Guerra G., Nanoporous triclinic modification of syndiotactic polystyrene, *Polymer*, 2015.
- Ahmad M., Lee S. S., Dou X. , Mohan D., Sung J. – K., Yang J. E., Ok Y. S., Effects of pyrolysis temperature on soybean stover- and peanut shell-derived biochar properties and TCE adsorption in water, *Bioresource Technology*, 2012.
- Ake C. L., Wiles M. C., Huebner H. J., McDonald T. J., Cosgriff D., Richardson M. B., Donnelly K. C., Phillips T. D, Porous organoclay composite for the sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons and pentachlorophenol from groundwater, *Chemosphere*, 2003.
- Almasi A., Godini K., Soltanian M., Asadi F., Nokhasi P., Mohammadi M., Azarian G., Mohammadi A., Tetrachloroethylene Removal Rate from Aqueous Solutions by Pumice, *Avicenna Journal of Environmental Health Engineering*, 2016.
- Baldino L., Concilio S., Cardea S., Reverchon E., Interpenetration of Natural Polymer Aerogels by Supercritical Drying, *Polymers*, 2016.
- Beall G. W., The use of organo-clays in water treatment, *Applied Clay Science*, 2003.
- Bembnowska A., Pelech R., Milchert E., Adsorption from aqueous solutions of chlorinated organic compounds onto activated carbon, *Journal of Colloid and Interface science*, 2003.
- Berbenni P., Cavallaro A. ,Mori B., The groundwater pollution in Lombardy (north Italy) caused by organo-halogenated compounds, *Annali dell’Istituto Superiore di Sanità*, 1993.
- Bortone I., Di Nardo A., Di Natale M., Erto A., Musmarra D., Santonastaso G. F., Remediation of an aquifer polluted with dissolved tetrachloroethylene by an array of wells filled with activated carbon, *Journal of Hazardous Materials*, 2013.
- Brunner, G., Applications of supercritical fluids. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 2010 (1), 321-342.
- Couffin N., Cabassud C., Lahoussine-Turcaud V., A new process to remove halogenated VOCs for drinking water production: vacuum membrane distillation, *Desalination*, 1998.

- Crini G., Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment, *Progress in Polymer Science*, 2005.
- Daniel C., Galdi N., Montefusco T., Guerra G., Syndiotactic Polystyrene Clathrates with Polar Guest Molecules, *Chemistry of Materials*, 2007.
- Daniel C., Antico P., Yamaguchi H., Kogure M., Guerra G., Microporous-crystalline microfibers by eco-friendly guests: An efficient tool for sorption of volatile organic pollutants, *Microporous and Mesoporous Materials*, 2016.
- De Candia F., Romano G., Russo R., Vittoria V., Solvent crystallized syndiotactic polystyrene. Thermal and dynamic-mechanical behavior, *Colloid & Polymer Science*, 1993.
- De Rosa C., Ruiz de Ballesteros O., Di Gennaro M., Auriemma F., Crystallization from the melt of and forms of syndiotactic polystyrene, *Polymer*, 2003.
- Ersan G., Apul O. G., Perreault F., Karanfil T., Adsorption of organic contaminants by graphene nanosheets: A review, *Water Research*, 2017.
- Erto A., Andreozzi R., Di Natale F., Lancia A., Musmarra D., Experimental and statistical analysis of trichloroethylene adsorption onto activated carbon, *Chemical Engineering Journal*, 2010.
- Field J.A. & Sierra-Alvarez R., Biodegradability of chlorinated solvents and related chlorinated aliphatic compounds, *Environmental Science & Bio/Technology*, 2004.
- Gil A., Elmchaouri A., Mouzdahir Y. E., Korili S. A., Removal of Tetrachloroethylene from Aqueous Solutions by Adsorption on Clay Minerals, *Adsorption Science & Technology*, 2015.
- Hashimoto. I., Iwasaki K., Nakasugi N., Yagi O., Degradation of trichloroethylene and related compounds by *Mycobacterium* spp. Isolated from soil, *Clean products and process (Volume 2)*, 2000.
- Hsu S-H., Huang C-S., Chung T-W., Gao S., Adsorption of chlorinated volatile organic compounds using activated carbon made from *Jatropha curcas* seeds, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2014.
- Kilduff J. E., Karanfil T., Weber W. J., Competitive Effects of Nondisplaceable Organic Compounds on Trichloroethylene Uptake by Activated Carbon. Thermodynamic Predictions and Model Sensitivity Analyses, *Journal of colloid and interface science*, 1998.
- Li L., Quinlivan P., Knappe D. R., Predicting Adsorption Isotherms for Aqueous Organic Micropollutants from Activated Carbon and Pollutant Properties, *Environmental Science & Technology*, 2005.
- Ma H., Huang Y., Shen M., Guo R., Cao X., Shi X., Enhanced dechlorination of trichloroethylene using electrospun polymer nanofibrous mats immobilized with iron/palladium bimetallic nanoparticles, *Journal of Hazardous Materials*, 2012.
- Ma W., Yu J., He J., Direct Formation of Form Crystal of Syndiotactic Polystyrene from Amorphous State in Supercritical CO<sub>2</sub>, *Macromolecules*, 2004.

- Moreno–Castilla, Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials, *Carbon*, 2004.
- PATENT WO2005012402A1. Gaetano Guerra, Giuseppe Mensitieri, Vincenzo Venditto, Ernesto Reverchon, Christophe Daniel, Nanoporous and microporous manufactures based on syndiotactic polystyrene and processes for their preparation.
- Pavonia B., Drusiana D., Giacomettia A., Zanette M., Assessment of organic chlorinated compound removal from aqueous matrices by adsorption on activated carbon, *Water Research*, 2006.
- Petraccone V., Ruiz de Ballesteros O., Tarallo O., Rizzo P., Guerra G., Nanoporous Polymer Crystals with Cavities and Channels, *Chemistry of Materials*, 2008.
  - Reverchon E., Guerra G., Venditto V., Regeneration of nanoporous crystalline syndiotactic polystyrene by supercritical CO<sub>2</sub>, *Journal of Applied Polymer Science*, 1999.
  - Reverchon, E., Cardea, S. and Rapuano, C., A new supercritical fluid-based process to produce scaffolds for tissue replacement, *The Journal of Supercritical Fluids*, 2008.
  - Rizzo P., Daniel C., De Girolamo Del Mauro A., Guerra G., New Host Polymeric Framework and Related Polar Guest Cocrystals, *Chemistry of Materials*, 2007.
  - Ruthven M. D., *Principles of adsorption and adsorption process*, 1984.
  - Salipira K. L., Mamba B. B, Krause R. W., Malefetse T. J., Durbach S. H., Carbon nanotubes and cyclodextrin polymers for removing organic pollutants from water, *Environmental Chemistry Letters*, 2007.
  - Wei Y., Ke Y., Cao X., Ma Y., Wang F., Effect of benzylation on crystallinity and phase transition behavior of nanoporous crystalline form of syndiotactic polystyrene, *Polymer*, 2013.
  - Wu L., M.C. Ritchie S., Removal of trichloroethylene from water by cellulose acetate supported bimetallic Ni/Fe nanoparticles, *Chemosphere*, 2006.
  - Yamazaki S., Matsunaga S., Hori K., Photocatalytic degradation of trichloroethylene in water using TiO<sub>2</sub> pellets, *Water Research*, 2001.
  - L. Fazzo, F. Minichilli, R. Pirastu, M. Bellino, F. Falleni, P. Comba, and F. Bianchi, “A meta-analysis of mortality data in Italian contaminated sites with industrial waste landfills or illegal dumps,” *Ann. Ist. Super. Sanita*, 2014.
  - M. Martuzzi, F. Mitis, F. Bianchi, F. Minichilli, P. Comba, and L. Fazzo, “Cancer mortality and congenital anomalies in a region of Italy with intense environmental pressure due to waste,” *Occup. Environ. Med.*, 2009.
  - L. Fazzo, S. Belli, F. Minichilli, F. Mitis, M. Santoro, L. Martina, R. Pizzuti, P. Comba, M. Martuzzi, and F. Bianchi, “Cluster analysis of mortality and malformations in the Provinces of Naples and Caserta (Campania Region),” *Ann. Ist. Super. Sanita*, 2008. P. Comba, F. Bianchi, L. Fazzo, L. Martina, M. Menegozzo, F. Minichilli, F. Mitis, L. Musmeci, R. Pizzuti, M. Santoro, S. Trinca,

- M. Martuzzi, R. Bertollini, C. Carboni, L. Cossa, P. De Nardo, N. Linzalone, A. Pierini, E. Lorenzo, E. Lionetti, M. Fusco, G. Scarano, S. Menegozzo, G. Doddi, M. Leonardi, L. Madeo, G. Martini, N. Mazzei, R. Pizzi, A. Savarese, C. Bove, A. D'Argenzio, A. Simonetti, A. Parlato, F. Peluso, R. Palombino, and F. Giugliano, "Cancer mortality in an area of Campania (Italy) characterized by multiple toxic dumping sites," in *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2006.
- ] Y. Song, E. L. Chou, A. Baecker, N.-C. Y. You, Y. Song, Q. Sun, and S. Liu, "Endocrine-disrupting chemicals, risk of type 2 diabetes, and diabetes-related metabolic traits: A systematic review and meta-analysis," *J. Diabetes*, 2016.
  - M. Vafeiadi, T. Roumeliotaki, G. Chalkiadaki, P. Rantakokko, H. Kiviranta, E. Fthenou, S. A. Kyrtopoulos, M. Kogevinas, and L. Chatzi, "Persistent organic pollutants in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus," *Environ. Int.*, 2017.
  - [7] E. Roh, S. H. Kwak, H. S. Jung, Y. M. Cho, Y. K. Pak, K. S. Park, S. Y. Kim, and H. K. Lee, "Serum aryl hydrocarbon receptor ligand activity is associated with insulin resistance and resulting type 2 diabetes," *Acta Diabetol.*, 2015.
  - [8] W. H. Park, D. W. Jun, J. T. Kim, J. H. Jeong, H. Park, Y. S. Chang, K. S. Park, H. K. Lee, and Y. K. Pak, "Novel cell-based assay reveals associations of circulating serum AhR-ligands with metabolic syndrome and mitochondrial dysfunction," *BioFactors*, 2013.
  - [9] J. W. Chang, H. L. Chen, H. J. Su, P. C. Liao, H. R. Guo, and C. C. Lee, "Dioxin exposure and insulin resistance in Taiwanese living near a highly contaminated area," *Epidemiology*, 2010.
  - [10] J. W. Chang, H. L. Chen, H. J. Su, P. C. Liao, H. R. Guo, and C. C. Lee, "Simultaneous exposure of non-diabetics to high levels of dioxins and mercury increases their risk of insulin resistance," *J. Hazard. Mater.*, 2011.
  - [11] H. Hu, H. Kan, G. D. Kearney, and X. Xu, "Associations between exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and glucose homeostasis as well as metabolic syndrome in nondiabetic adults," *Sci. Total Environ.*, 2015.
  - [12] P. Comba, L. Fazzo, M. Fusco, M. Benedetti, R. Pirastu, and P. Ricci, "[The contribution of cancer registries in environmental health studies]. | Il contributo dei Registri tumori negli studi su ambiente e salute.," *Epidemiol. Prev.*, 2011.
  - D. Baris, R. Waddell, L. E. Beane Freeman, M. Schwenn, J. S. Colt, J. D. Ayotte, M. H. Ward, J. Nuckols, A. Schned, B. Jackson, C. Clerkin, N. Rothman, L. E. Moore, A. Taylor, G. Robinson, G. M. Hosain, K. R. Armenti, R. McCoy, C. Samanic, R. N. Hoover, J. F. Fraumeni, A. Johnson, M. R. Karagas, and D. T. Silverman, "Elevated Bladder Cancer in Northern New England: The Role of Drinking Water and Arsenic," *J. Natl. Cancer Inst.*, 2016.
  - E. De Felip, F. Bianchi, C. Bove, L. Cori, A. D'Argenzio, G. D'Orsi, M. Fusco, R.

- Miniero, R. Ortolani, R. Palombino, A. Parlato, M. G. Pelliccia, F. Peluso, G. Piscopo, R. Pizzuti, M. G. Porpora, D. Protano, O. Senofonte, S. R. Spena, A. Simonetti, and A. di Domenico, "Priority persistent contaminants in people dwelling in critical areas of Campania Region, Italy (SEBIOREC biomonitoring study)," *Sci. Total Environ.*, 2014.
- L. D. Boada, L. A. Henríquez-Hernández, P. Navarro, M. Zumbado, M. Almeida- González, M. Camacho, E. E. Álvarez-León, J. A. Valencia-Santana, and O. P. Luzardo, "Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and bladder cancer: Evaluation from a gene-environment perspective in a hospital-based case-control study in the Canary Islands (Spain)," *Int. J. Occup. Environ. Health*, 2015.
  - S. Wach, K. Weigelt, B. Michalke, V. Lieb, R. Stoehr, B. Keck, A. Hartmann, B. Wullich, H. Taubert, and A. Chaudhri, "Diagnostic potential of major and trace elements in the serum of bladder cancer patients," *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2018.
  - K. Z. Guyton, K. A. Hogan, C. S. Scott, G. S. Cooper, A. S. Bale, L. Kopylev, S. Barone, S. L. Makris, B. Glenn, R. P. Subramaniam, M. R. Gwinn, R. C. Dzubow, and W. A. Chiu, "Human health effects of tetrachloroethylene: Key findings and scientific issues," *Environmental Health Perspectives*. 2014.
  - W. A. Chiu, J. Jinot, C. S. Scott, S. L. Makris, G. S. Cooper, R. C. Dzubow, A. S. Bale, M. V. Evans, K. Z. Guyton, N. Keshava, J. C. Lipscomb, S. Barone, J. F. Fox, M. R. Gwinn, J. Schaum, and J. C. Caldwell, "Human health effects of trichloroethylene: Key findings and scientific issues," *Environmental Health Perspectives*. 2013.
  - J. Vlaanderen, K. Straif, A. Ruder, A. Blair, J. Hansen, E. Lynge, B. Charbotel, D. Loomis, T. Kauppinen, P. Kyyronen, E. Pukkala, E. Weiderpass, and N. Guha, "Tetrachloroethylene exposure and bladder cancer risk: A meta- analysis of dry-cleaning- worker studies," *Environmental Health Perspectives*. 2014.
  - A. Aschengrau, D. Ozonoff, C. Paulu, P. Coogan, R. Vezina, T. Heeren, and Y. Zhang, "Cancer Risk and Tetrachloroethylene-contaminated Drinking Water in Massachusetts," *Arch. Environ. Heal. An Int. J.*, 1993.
  - X. Xu, H. Hu, G. D. Kearney, H. Kan, and D. S. Sheps, "Studying the effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on peripheral arterial disease in the United States," *Sci. Total Environ.*, 2013.
  - D. M. J. Curfs, "Polycyclic aromatic hydrocarbons induce an inflammatory atherosclerotic plaque phenotype irrespective of their DNA binding properties," *FASEB J.*, 2005.
  - H. A. Jeng, C. H. Pan, N. Diawara, G. P. Chang-Chien, W. Y. Lin, C. T. Huang, C. K. Ho, and M. T. Wu, "Polycyclic aromatic hydrocarbon-induced oxidative stress and lipid peroxidation in relation to immunological alteration," *Occup. Environ. Med.*, 2011.
  - R. Beelen, O. Raaschou-Nielsen, M. Stafoggia, Z. J. Andersen, G. Weinmayr, B. Hoffmann, K.

Wolf, E. Samoli, P. Fischer, M. Nieuwenhuijsen, P. Vineis, W. W. Xun, K. Katsouyanni, K. Dimakopoulou, A. Oudin, B. Forsberg, L. Modig, A. S. Havulinna, T. Lanki, A. Turunen, B. Oftedal, W. Nystad, P. Nafstad, U. De Faire, N. L. Pedersen, C. G. Östenson, L. Fratiglioni, J. Penell, M. Korek, G. Pershagen, K. T. Eriksen, K. Overvad, T. Ellermann, M. Eeftens, P. H. Peeters, K. Meliefste, M. Wang, B. Bueno-De-Mesquita, D. Sugiri, U. Krämer, J. Heinrich, K. De Hoogh, T. Key, A. Peters, R. Hampel, H. Concin, G. Nagel, A. Ineichen, E. Schaffner, N. Probst-Hensch, N. Künzli, C. Schindler, T. Schikowski, M. Adam, H. Phuleria, A. Vilier, F. Clavel-Chapelon, C. Declercq, S. Gironi, V. Krogh, M. Y. Tsai, F. Ricceri, C. Sacerdote, C. Galassi, E. Migliore, A. Ranzi, G. Cesaroni, C. Badaloni, F. Forastiere, I. Tamayo, P. Amiano, M. Dorronsoro, M. Katsoulis,

A. Trichopoulou, B. Brunekreef, and G. Hoek, “Effects of long-term exposure to air pollution on natural-cause mortality: An analysis of 22 European cohorts within the multicentre ESCAPE project,” *Lancet*, 2014.

- C. A. Alves, A. M. Vicente, D. Custódio, M. Cerqueira, T. Nunes, C. Pio, F. Lucarelli, G. Calzolari, S. Nava, E. Diapouli, K. Eleftheriadis, X. Querol, and B. A. Musa Bandowe, “Polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives (nitro-PAHs, oxygenated PAHs, and azaarenes) in PM<sub>2.5</sub> from Southern European cities,” *Sci. Total Environ.*, 2017.
- M. Wang, Y. Xu, S. Pan, J. Zhang, A. Zhong, H. Song, and W. Ling, “Long-term heavy metal pollution and mortality in a Chinese population: An ecologic study,” *Biol. Trace Elem. Res.*, 2011.
- P. Zambon, P. Ricci, E. Bovo, A. Casula, M. Gattolin, A. R. Fiore, F. Chiosi, and S. Guzzinati, “Sarcoma risk and dioxin emissions from incinerators and industrial plants: A population-based case-control study (Italy),” *Environ. Heal. A Glob. Access Sci. Source*, 2007.
- J. T. Tuomisto, J. Pekkanen, H. Kiviranta, E. Tukiainen, T. Vartiainen, and J. Tuomisto, “Soft-tissue sarcoma and dioxin: A case-control study,” *Int. J. Cancer*, 2004.
- Committee on Contaminated Drinking Water at Camp Lejeune, *Contaminated Water Supplies at Camp Lejeune*. 2009.
- K. Steenland, P. Bertazzi, A. Baccarelli, and M. Kogevinas, “Dioxin revisited: Developments since the 1997 IARC classification of dioxin as a human carcinogen,” *Environ. Health Perspect.*, 2004.
- J. S. Gray, “Biomagnification in marine systems: The perspective of an ecologist,” in *Marine Pollution Bulletin*, 2002.
- A. Mazza, P. Piscitelli, C. Neglia, G. Della Rosa, and L. Iannuzzi, “Illegal dumping of toxic waste and its effect on human health in Campania, Italy,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2015.
- S. S. White and L. S. Birnbaum, “An overview of the effects of dioxins and dioxin-like compounds on vertebrates, as documented in human and ecological epidemiology,” *Journal of*

*Environmental Science and Health - Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*. 2009.

- P. G. Kopf and M. K. Walker, “Overview of developmental heart defects by dioxins, PCBs, and pesticides,” *Journal of Environmental Science and Health - Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*. 2009.
- L. S. Birnbaum, “The mechanism of dioxin toxicity: Relationship to risk assessment,” in *Environmental Health Perspectives*, 1994.
- E. C. Bonefeld-Jørgensen and M. Long, “Dioxin-like activity in the blood of Greenlandic Inuit and Danish women: a pilot study,” *Int. J. Circumpolar Health*, 2010.
- A. Zaccaroni, A. Corteggio, G. Altamura, M. Silvi, R. Di Vaia, C. Formigaro, and G. Borzacchiello, “Elements levels in dogs from ‘triangle of death’ and different areas of Campania region (Italy),” *Chemosphere*, 2014.

## 9. APPROFONDIMENTI

### PREMESSA

Nelle ultime decadi, vaste aree della Regione Campania, comprese soprattutto nelle province di Napoli e Caserta, sono state oggetto di sversamenti incontrollati di rifiuti di tipo industriale (cascami dell’industria tessile, solventi, liquami di lavanderie industriali, scarti derivanti dalla lavorazione delle vernici, scarti dell’industria siderurgica, ecc.), spesso interrati o dati alle fiamme per cancellarne le tracce, nell’ambito di una attività sistematica di smaltimento illecito condotta dalla criminalità organizzata a scopo di lucro. Il ritrovamento di rifiuti interrati, i roghi diffusi sul territorio, il progredire delle indagini condotte dalla magistratura hanno generato negli scorsi anni un allarme sociale notevole per gli effetti sulla salubrità dell’ambiente e sulla bontà dei prodotti della filiera agroalimentare, con il timore di gravi ricadute sulla salute umana, in particolare per quanto riguarda l’insorgenza di tumori maligni. Il fenomeno della combustione incontrollata dei rifiuti ha dato origine all’espressione “Terra dei Fuochi”, ripresa dagli organi di stampa come pure richiamata nell’ambito di interventi legislativi ad hoc, come nella legge 6/2014. Numerose evidenze scientifiche sostengono l’esistenza di un nesso di causalità tra esposizione della popolazione residente ad inquinanti derivanti da sorgenti puntiformi (es. discariche, roghi) o diffuse (es. traffico veicolare) ed aumentata incidenza di patologie tumorali, endocrine, cardiovascolari, polmonari (REF). Sebbene l’aumento del rischio di malattia dovuto all’inquinamento ambientale sia scientificamente supportato da evidenze solide, la sua quantificazione è tanto ardua quanto importante, essendo essa da una parte particolarmente variabile a seconda del contesto ambientale e dall’altra estremamente rilevante ai fini della pianificazione di opportuni interventi di igiene pubblica e medicina preventiva. Ciò è dovuto sia a causa della compresenza di vari e importanti fattori di confondimento (socioeconomici, sanitari, fumo, dieta, ecc.) che alla complessità dell’ambiente e all’indeterminatezza dei modi e tempi dell’esposizione ambientale,

ben diversa dall'esposizione lavorativa. L'analisi dei trend temporali delle malattie, come nel caso dei tumori, è di fondamentale importanza non solo per la descrizione in generale dello stato di salute della popolazione, ma ancor più per evidenziare le possibili correlazioni con criticità ambientali che negli anni sono aumentate. I dati non evidenziano, al momento, una emergenza oncologica regionale legata al dato ambientale (REF); la complessità della patologia oncologica, la sua multifattorialità, l'andamento dei trend temporali rimandano a valutazioni più complesse ed articolate, rifuggendo dalle facili semplificazioni, come ribadito più volte nell'ambito delle attività del Registro Tumori Asl Napoli 3 (REF). I trend temporali di mortalità oncologica, in Campania nel periodo 1988 / 2010 sono "decrementi", non solo a livello regionale ma anche nelle province di Napoli e Caserta (REF); l'analisi dei fattori determinanti l'eccesso di mortalità chiama in causa molti altri elementi, tra cui, determinante, l'organizzazione e la governance del Sistema Sanitario Regionale. Tale situazione ha indotto le Istituzioni ad adottare misure specifiche operative di contrasto al fenomeno, nonché di igiene e sanità pubblica, attraverso il rafforzamento dei programmi screening e la definizione dei percorsi diagnostico terapeutici per le principali patologie oncologiche al fine di far accedere la popolazione agli screening che rappresentano il principale strumento per la diagnosi precoce dei tumori. D'altronde, l'evidenza di un nesso di causa tra esposizione della popolazione residente ad inquinanti, ed i possibili effetti sulla salute, sebbene spesso dichiarata o paventata, è tuttavia ad oggi solo circostanziale, ma non provata. Ciò a causa della compresenza di vari e importanti fattori di confondimento (socioeconomici, sanitari, fumo, dieta ecc.), dell'indeterminatezza delle conoscenze sulle effettive vie e modalità di esposizione umana e dei tempi lunghi di sviluppo di malattie croniche, in particolare oncologiche. Per capire le nuove vulnerabilità ambientali ed alimentari non ci si può dunque affidare solo agli strumenti classici utilizzati sinora (analisi epidemiologica di eventi patologici maggiori quali cancro e malformazioni congenite, i cui tempi non sono compatibili con un'urgente necessità di prevenzione), ma piuttosto ricorrere ai nuovi strumenti analitici che identifichino e misurino in primis biomarcatori di esposizione ed end-point iniziali e intermedi di malattia nei tessuti/fluidi biologici, al fine di identificare segni precoci di modificazione funzionale o strutturale prima che si manifesti il danno clinico, e valutare la suscettibilità individuale (polimorfismi genetici funzionali). Il contesto socioeconomico-sanitario è inoltre caratterizzato da un bisogno di salute della popolazione non completamente soddisfatto, sia per la diffusa adozione di stili di vita scorretti e la scarsa aderenza alle comuni raccomandazione dietetiche e al modello rappresentato dalla dieta mediterranea, che per la non adeguata copertura degli screening inclusi nei livelli essenziali di assistenza, che per servizi sanitari non sempre percepiti come del tutto sufficienti nell'intero territorio. Adottando questa chiave di lettura e avvalendosi di ricercatori afferenti alle discipline scientifiche più varie (medici veterinari, medici, ingegneri ambientali, agronomi, biologi molecolari), in collaborazione con numerose Istituzioni pubbliche sia italiane che estere, ha concentrato i suoi sforzi per analizzare le complesse interazioni che si realizzano tra ambiente, cibo e salute umana



secondo un approccio scientifico rigoroso, e perseguendo l'obiettivo di configurarsi nel settore della prevenzione primaria come punto di connessione tra le varie Istituzioni e tra queste e la cittadinanza. In risposta alle esigenze di un territorio, in cui non è tuttora noto il contributo eziologico ambientale nel processo patogenetico dei tumori e delle malattie cronico-degenerative, il GdL ha sviluppato negli ultimi anni un expertise di settore sulla tematica ambiente-salute, apportando un contributo nella gestione dell'emergenza inquinamento attraverso il gruppo di lavoro interministeriale Task Force "Terra dei Fuochi".

## BACKGROUND

L'approccio olistico adottato nel 2015 dalla Regione Campania allo scopo di approfondire con rigore scientifico le complesse interazioni tra ambiente, cibo e salute si è sviluppato in un contesto assai complesso, caratterizzato da una contaminazione ambientale oggettiva con effetti sanitari sulla popolazione generale difficilmente quantizzabili ed effetti economici di grande portata a causa di una intensa azione di *demarketing* che ha marchiato con l'etichetta "Terra dei Fuochi" l'intera filiera agro-alimentare campana colpendo in particolare le aziende del settore di Napoli e Caserta. Gli studi condotti si sono focalizzati sulla complessa e delicata relazione tra la salubrità dell'ambiente in senso lato, la qualità del cibo e la salute umana, mediante l'identificazione del rischio associato all'esposizione, la valutazione comparata delle sorgenti di potenziale contaminazione, le vie di migrazione degli inquinanti e l'effetto sugli organismi bersaglio. La complessità del fenomeno ha permesso di strutturare le valutazioni e le indagini sperimentali in differenti campi di applicazione, dalla salubrità degli alimenti (QRCode Campania), al monitoraggio ambientale e al biomonitoraggio (Campania Trasparente – CT), allo studio di esposizione nella popolazione suscettibile (SPES).

Il progetto QRCode Campania ([www.qrcodecampania.it](http://www.qrcodecampania.it)) è un sistema di certificazione della salubrità della filiera agroalimentare, nato per supportare le aziende agroalimentari, valorizzando le produzioni campane, e tutelare i consumatori garantendo la salubrità dei prodotti attraverso una lettura semplice e trasparente di dati scientifici derivanti dalle analisi effettuate. Questo progetto promosso dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno per prodotti del territorio, di produzione primaria o di trasformazione, ha consentito, mediante valutazione analitica per la presenza di contaminanti biologici e chimici, di individuare classi di molecole di interesse (e.g. fitofarmaci, pesticidi organo-clorurati, antibiotici), la cui introduzione attraverso la dieta (se presenti e persistenti nelle parti edibili dei prodotti ortofrutticoli per ciò che riguarda i fitofarmaci e i pesticidi, nelle carni da allevamento per ciò che concerne gli antibiotici) potesse rappresentare un rischio di tossicità per i consumatori, anche per effetti a lungo termine associati ad esposizioni croniche. Inoltre, l'attenzione rivolta agli avanzamenti tecnologici ha permesso di rendere disponibile un applicativo per smartphone attraverso il quale il consumatore finale può impiegare il QRCode Campania stampato in etichetta per avere disponibili sul proprio smartphone le analisi effettuate sull'alimento che sta consumando.

Il piano di monitoraggio ambientale Campania Trasparente ([www.campaniatrasparente.it](http://www.campaniatrasparente.it)), è un rigoroso processo di analisi ambientali che ha assunto un ruolo strategico al fine di ottenere una precisa rappresentazione del territorio, delle produzioni campane e dell'esposizione dell'uomo a potenziali fonti inquinanti. Il progetto. Condotta nell'intero territorio regionale, ha rappresentato il punto di partenza per l'acquisizione di dati scientifici circa l'esposizione di organismi viventi a potenziali fonti di inquinamento integrabili con i risultati analitici derivanti dal biomonitoraggio umano: le indagini sulle matrici ambientali, suolo, aria, acqua, organismi bioindicatori (vegetali ed animali), hanno conferito una

referenza spaziale alla supposta presenza e diffusione di inquinanti organici e inorganici, correlabile con i dati raccolti sulla popolazione residente nelle aree indagate, e con i dati di incidenza e mortalità per patologie oncologiche e cronico- degenerative campane. Il monitoraggio ambientale si è mostrato propedeutico all'identificazione delle prevalenti associazioni di causa matrice - composto inquinante - patologia: e.g. composti organo-clorurati in matrice acqua e patologie dell'apparato escretore; prodotti di combustione nella matrice aria e patologie dell'apparato respiratorio.

Lo Studio di Esposizione nella Popolazione Suscettibile – SPES ([www.spes.campaniatrasparente.it](http://www.spes.campaniatrasparente.it)), condotto in collaborazione con l'IRCCS INT “G. Pascale” negli stessi territori del piano di monitoraggio Campania Trasparente, ha reclutato un campione di 4200 soggetti sani di età compresa tra i 20 e i 50 anni, sottoposti a prelievo di sangue, feci e urine per la valutazione di marcatori di esposizione e di effetto biologico precoce, correlabili con l'insorgenza di patologie ad eziologia ambientale. La popolazione è stata stratificata per sesso, età e pressione ambientale dell'area di residenza. La pressione ambientale globale è stata stimata suddividendo il territorio in venti clusters attraverso un modello elaborato sulla scorta di numerose variabili di rilievo, che hanno incluso le risultanze delle analisi dei corpi idrici e del suolo, nonché l'uso del territorio a fini residenziali, la presenza di discariche, siti contaminati, impianti di gestione rifiuti o di particelle del cosiddetto “decreto Terra dei Fuochi”. I venti clusters individuati sono stati a loro volta assegnati a tre aree: ad alto, medio e basso impatto, individuate nel rispetto del principio di continuità spaziale e sulla base dei flussi di migrazione degli inquinanti è stata identificata, per ogni livello, un'area di intervento. L'area ad alto impatto comprende una parte consistente di territorio delle province di Napoli e Caserta, estendendosi sulla piana del Volturno-Regi Lagni, la piana ad oriente di Napoli, Campi Flegrei, Somma Vesuvio e parte della piana del Sarno. Tale area è caratterizzata da zone fortemente antropizzate, uno scarso stato dei corpi idrici sotterranei e numerosi superamenti delle CSC dei campioni di suolo analizzati. Inoltre, in riferimento a quest'area, si evince la presenza di numerosi siti potenzialmente contaminati o contaminati ai sensi del D. Lgs. 152/2006 che denota un elevato indice di pressione ambientale. L'area a medio impatto, si estende sulle province di Napoli, Salerno ed Avellino, tra la piana del Sarno e la piana Solofra-Cavaioia, caratterizzate da uno scarso stato dei corpi idrici sotterranei e dal superamento di diverse CSC dei campioni di suolo analizzati. Inoltre, nei comuni avellinesi di Montoro e Solofra è stata riscontrata anche la presenza di composti alogenuri organici in falda, con concentrazioni molto elevate, superiori alle CSC. L'area a basso impatto, ricadente prevalentemente nella provincia di Salerno, tra la zona costiera dell'Alento e l'area interna dell'alto Sele-Tanagro, è caratterizzata da un buono stato dei corpi idrici sotterranei, una bassa presenza di superamenti delle CSC nei suoli analizzati ed un basso tasso di antropizzazione. I dati analitici raccolti (stima nei fluidi biologici di contaminanti organici ed inorganici, ricerca di marcatori genetico-molecolari di effetto e di interesse predittivo per lo sviluppo di patologia) sono stati corredati dall'acquisizione di dettagliate informazioni anamnestiche sui soggetti riguardo lo stile di vita e le abitudini alimentari (questionari EPIC) (REF), la storia professionale, familiare e clinico-patologica. L'expertise maturato nel corso di questi studi umani, unitamente alla grande rete di professionalità e istituzioni tessuta in questo ambito,

rappresentano il presupposto fondamentale per continuare gli studi di biomonitoraggio includendo popolazioni selezionate adoperando criteri maggiori differenti, quale l'esposizione professionale nota, o l'esistenza di una patologia (possibilità di chiarire il contributo specifico della contaminazione al rischio di sviluppare la patologia medesima), come avverrà per gli studi proposti nel seguente elaborato.

Altra attività di rilevante importanza è stata assicurata dall'applicazione del *Programma regionale per l'attuazione delle misure sanitarie disposte dalla legge n.6 del 6 febbraio 2014 il cui obiettivo è offrire appropriati, tempestivi e specializzati percorsi assistenziali di natura preventiva, diagnostica e terapeutica alla popolazione interessata, per il monitoraggio ed il controllo dello stato di salute, attraverso l'attuazione di specifici programmi, basati su azioni di medicina di iniziativa e presa in carico complessiva delle problematiche emergenti, correlate alle peculiari condizioni socio-ambientali dei territori interessati dalle azioni previste dalla legge 6/2014.*

#### INTRODUZIONE AGLI STUDI

È noto che la capacità di un contaminante ambientale di produrre effetti sulla salute dell'uomo è collegata, oltre che alla sua tossicità intrinseca, alla sua persistenza e diffusibilità nell'ambiente, nonché alla sua tendenza ad accumularsi progressivamente nei vari organismi che fanno parte della catena alimentare. A tal proposito, basti pensare alla pericolosità biologica delle diossine e dei composti diossino-simili, che permangono per anni nell'ambiente e nel grasso degli organismi viventi. Per questa ragione, negli studi di biomonitoraggio occorre studiare accuratamente il dato anamnestico riguardante la dieta, in quanto l'alimentazione è sicuramente una modalità di esposizione per l'uomo ai tossici ambientali molto importante, e in modo particolare nel caso dell'assunzione di prodotti di origine animale, in virtù del bioaccumulo dei contaminanti attraverso la catena alimentare. Nella maggior parte del territorio della regione Campania, è stata eseguita un'analisi delle variabili misurate per la ricerca di eventuali *pattern* spaziali riconducibili a particolari sorgenti di contaminazione (modelli geostatistici), tenendo conto dell'uso del suolo, dei flussi di traffico stradale, della presenza di attività industriali, della distribuzione dei siti di combustione illegale di rifiuti ed altre informazioni, al fine di identificare eventuali variabili esplicative ("predittori") dei livelli di inquinamento ambientale. È verosimile che la popolazione residente nei comuni di tale area sia stata sottoposta, nel corso degli anni, ad un effetto combinato di diversi fattori di rischio: stile di vita (fumo, alimentazione squilibrata, ecc.), attività professionale e inquinamento delle diverse matrici ambientali. In tale popolazione, l'effetto combinato di tali fattori provoca un aumento della suscettibilità alle patologie cronico-degenerative. È riconosciuto, inoltre, come tale effetto combinato non abbia le stesse conseguenze sulle persone, anche se appartenenti al medesimo gruppo familiare, in quanto esiste una specifica risposta individuale (genetica) al danno. Alcuni individui, infatti, possiedono capacità di resistere ai danni subiti (come aberrazioni cromosomiche, mutazione geniche) più sviluppate rispetto ad altri, ovvero maggiori capacità di riparare i danni mediante riparazione del DNA, attività immunologica, etc.

(J Toxicol Environ Health B Crit “The influence of genetic polymorphisms on population variability in six xenobiotic-metabolizing enzymes.” Ginsberg G1, Smolenski S, Neafsey P, Hattis D, Walker K, Guyton KZ, Johns DO, Sonawane B.) sostengono l’esistenza di un nesso di causalità tra esposizione della popolazione residente ad inquinanti derivanti da sorgenti puntiformi (es. discariche) o diffuse (es. traffico veicolare) ed aumentata incidenza di patologie tumorali, endocrine, cardiovascolari, polmonari. Sebbene l’aumento del rischio di malattia dovuto all’inquinamento ambientale sia scientificamente supportato da evidenze solide, la sua quantificazione è tanto ardua quanto importante, essendo essa da una parte particolarmente variabile a seconda del contesto ambientale e dall’altra estremamente rilevante ai fini della pianificazione di opportuni interventi di igiene pubblica e medicina preventiva. Ciò è dovuto sia a causa della compresenza di vari e importanti fattori di confondimento (socioeconomici, sanitari, fumo, dieta, ecc.) che alla complessità dell’ambiente e all’indeterminatezza dei modi e tempi dell’esposizione ambientale, ben diversa dall’esposizione lavorativa. Al fine di ottenere evidenze complementari rispetto a quelle fornite dalle numerose indagini epidemiologiche condotte nel territorio della Terra dei Fuochi[1][2][3][4], lo studio SPES, condotto sulla popolazione non affetta, ha consentito di studiare direttamente in un ampio campione di popolazione l’effetto dell’esposizione ambientale tramite l’impiego di biomarcatori di esposizione, biomarcatori di effetto, e biomarcatori genetici di suscettibilità individuale, con il fine di valutare rispettivamente l’esposizione a tossici ambientali, l’eventuale effetto biologico che questa ha determinato e la presenza di polimorfismi genetici coinvolti nel metabolismo di contaminanti ambientali. Il follow-up, quale studio di coorte prospettico, nel corso delle decadi a venire, sarà indispensabile per valutare il rischio aggiuntivo di malattia e di morte causa specifica associato alla contaminazione misurata al momento dell’inizio dell’osservazione. Da un punto di vista metodologico, tale approfondimento può essere compiuto sia attraverso studi di coorte prospettici che stimino i livelli di esposizione ai contaminanti ambientali e li correlino all’incidenza registrata nel tempo delle patologie di interesse, che attraverso l’esecuzione di studi caso-controllo, che permettono di paragonare i livelli di contaminazione biologica degli individui affetti da una determinata patologia (“casi”), rispetto a quelli riscontrati in “controlli” costituiti da individui sani dello stesso sesso, domicilio ed età anagrafica, accoppiati per eventuali altri fattori di rischio di rilievo per la specifica patologia. La valutazione del nesso eziologico tra insorgenza di malattia e contaminazione biologica non può che comprendere quindi l’esecuzione di studi caso-controllo, resi fattivamente realizzabili grazie al complesso di relazioni istituzionali, professionali, expertise, oltre che alla disponibilità di dati e campioni biologici, maturati nel corso degli ultimi anni e con gli studi clinici già menzionati.

Premessa fondamentale per comprendere i limiti di tutti gli studi, che si propongono di esplorare in chiave olistica il rapporto ambiente/salute, è che molte delle malattie a maggior impatto socio-sanitario (diabete, malattie cardiovascolari, cancro) riconoscono una “genesi multifattoriale”, che comprende cause di origine sia ambientale (contaminazione da parte di inquinanti), che genetica e dietetico-comportamentale, concorrenti a determinare l’insorgenza del processo morboso in misura estremamente

variabile da individuo a individuo. La seguente proposta parte dalla consapevolezza che la complessa ricerca nel peculiare contesto della “Terra dei Fuochi” circa gli effetti sulla salute umana causati dall’esposizione a contaminanti ambientali non può prescindere dalla valutazione di marcatori di esposizione in popolazioni selezionate di pazienti affetti da specifiche patologie, riconosciute quali patologie caratterizzate da un nesso eziologico ambientale rispetto alla letteratura esistente. Gli studi sono stati disegnati allo scopo di stimare il rischio relativo di essere affetti da una delle patologie esaminate in relazione al livello di esposizione a contaminanti ambientali misurato nei fluidi biologici (sangue e urine). Gli inquinanti di interesse sono selezionati in base alla loro importanza eziopatogenetica per le malattie in questione sulla scorta dei dati presenti in letteratura, come discusso ampiamente di seguito rispetto alla specifica patologia.

Il percorso virtuoso intrapreso dalla Regione Campania, attraverso la conoscenza dello stato qualitativo delle risorse ambientali e lo studio di biomonitoraggio SPES costituiscono una solida base di partenza di valutazioni prospettiche che daranno i suoi effetti nel tempo attraverso l’osservazione e il monitoraggio sia dello stato qualitativo ambientale sia della coorte di arruolati con un costante follow up. Tale azione sicuramente meritoria richiede un approfondimento al fine di valutare evidenze di associazioni con specifiche esposizioni ambientali. La situazione ambientale campana si presenta con molteplici ed eterogenee sorgenti emissive e risulta difficile poter utilizzare strumenti epidemiologici come lo studio Sentieri dell’ISS.

Analizzando i dati di incidenza di diverse patologie dei SIR (EX SIN) non si è in presenza di risultati relativi a singole patologie con agente eziologico unico ( Es. Asbesto vs Mesotelioma ), si è deciso pertanto alla luce delle evidenze scientifiche di approfondire determinate patologie descritte negli studi SPEM e Malcom. Per quanto possa risultare complesso indagare il rapporto xenobiotici/patologie con eziologia multifattoriale, sono stati intraprese delle azioni tali da limitare i bias rappresentati dallo stile di vita e abitudini alimentari con l’utilizzo del questionario Epic. Per alcune categorie di lavoratori particolarmente esposti è nata l’esigenza di effettuare un biomonitoraggio per verificare il potenziale trasferimento e la relativa cinetica del contaminante, che sarà affrontato nello studio SPEL.

Su ogni singola azione e sub-azione verrà indicato un responsabile (principal investigator - PI) per la stesura del protocollo definitivo e la conseguente approvazione scientifica ed etica.

L’omogeneità epidemiologica, verrà assicurata da un Epidemiologo e lo statistico, unici per tutte le azioni.

I contributi di seguito riportati sono elaborati tecnici, che necessitano dell’approvazione del Comitato Etico della struttura in cui il PI è afferente.

- SPEL: Studio di popolazione relativo all’esposizione lavorativa

#### PREMESSA

La notevole variabilità delle lavorazioni industriali svolte nel settore, infatti, associata all’innomerevole quantità di sostanze/miscele e prodotti chimici utilizzati nei vari procedimenti lavorativi, espone i lavoratori

a molti fattori di rischio occupazionali che si possono tradurre in malattie professionali o più genericamente “correlate al lavoro”.

Il tema della sicurezza e della salute sui luoghi di lavoro viene affrontato in diversi dispositivi normativi, all’interno dei quali vengono definiti i fattori di rischio a cui sono potenzialmente esposti i lavoratori.

Nella fattispecie, i principali riferimenti per la sorveglianza dei rischi e della salute occupazionale sono costituiti dai documenti di valutazione dei rischi e dai registri di esposizione a sostanze cancerogene (D. Lgs 626/94) nonché dai dati aggregati di rischio dei lavoratori sottoposti a sorveglianza sanitaria (D. Lgs 81/2008).

Da un’attenta analisi di tali dispositivi emergono una serie di criticità che ne limitano pesantemente l’uso per scopi di sorveglianza:

- incompletezza quali -e quantitativa delle fonti, in quanto raramente contengono dati di esposizione accurati a fattori psicosociali ed ergonomici e soprattutto risulta del tutto insufficiente ed incompleta la caratterizzazione dell’esposizione (i livelli sono spesso quelli rilevati in condizioni ottimali, che non tengono conto della variabilità dell’esposizione e dei picchi relativi ad attività meno routinarie).
- eterogeneità dei metodi utilizzati per la valutazione di rischi (anche se c’è una discreta standardizzazione dei metodi per la misurazione di agenti chimici e fisici).

In tale ottica, risulta di fondamentale importanza realizzare specifiche indagini sanitarie-occupazionali, volte a valutare ed approfondire le conoscenze sui rischi derivanti dall’esposizione alle sostanze che vengono utilizzate nel ciclo produttivo in modo tale da prevenire le malattie causate dall’esposizione professionale. Un modello di valutazione e caratterizzazione del rischio occupazionale che può colmare le carenze e le lacune dei dispositivi normativi in materia di tutela della salute dei lavoratori, fornendo al contempo strumenti idonei a supporto degli organi deputati al controllo. La numerosità delle noxae patogene ed il sovrapporsi delle stesse nelle diverse condizioni di lavoro possono determinare situazioni di notevole complessità, che, per essere efficacemente affrontate, necessitano del contributo delle conoscenze epidemiologiche, tossicologiche ed igienistico-industriali.

L’epidemiologia, quindi, può contribuire in concreto a rinnovare ed aggiornare l’attività di medicina del lavoro e a fondare quest’ultima su evidenze e prove di efficacia attraverso metodologie capaci di garantire la validità dell’osservazione di relazioni tra esposizioni ed effetti, combinare osservazioni e studi indipendenti su associazioni esposizione-rischi e condurre una valutazione quantitativa, nonché impostare studi ad hoc di valutazione di efficacia di misure di sorveglianza, monitoraggio e prevenzione.

La sorveglianza sanitaria rappresenta un terreno particolarmente fertile per valutazioni di efficacia e per l’acquisizione di dati di evidenza, ma ancora poco sfruttato. Una collaborazione tra diversi centri e strutture dedicati alla medicina e igiene del lavoro è indispensabile per riuscire a sfruttare questa opportunità.

## OBIETTIVI

Lo studio intende valutare l'esposizione del lavoratore attraverso l'analisi di biomarcatori di esposizione e di effetto, integrando l'attività di monitoraggio e controllo a cui sono preposti gli organi di competenza, in modo da consentire un'adeguata e più approfondita conoscenza dei rischi a cui sono potenzialmente soggetti i lavoratori esposti. Il disegno dello studio prevede il monitoraggio di una coorte selezionata di lavoratori esposti a eventuali agenti chimici, operanti nell'industria conciaria e nelle lavanderie industriali. L'esposizione sarà valutata attraverso lo sviluppo di un apposito modello di valutazione del rischio chimico.

L'obiettivo è quello di individuare la correlazione tra esposizione a sostanze, considerate nocive e/o cancerogene dalla normativa, e salute dei lavoratori, in modo da applicare le opportune azioni di prevenzione a tutela della salute degli addetti. Attraverso lo sviluppo di sinergie positive tra diversi operatori della prevenzione ambientale e sanitaria, in un quadro istituzionale certo e definito, (ITN Pascale, Dipartimento di Sanità Pubblica UNINA), il progetto propone uno sperimentale e innovativo modello teorico. Il focus è quello di implementare un'operazione di controllo del territorio volto a garantire la più assoluta trasparenza e valenza scientifica, delineando un percorso che affronti in maniera sistematica gli impatti ambientali, socioeconomici, sanitari e fornisca gli indirizzi per uno sviluppo del territorio condiviso dalla comunità e dalla realtà imprenditoriale.

Gli obiettivi specifici prefissati nel progetto sono:

- Integrare il modello di valutazione del rischio chimico a cui sono esposti i lavoratori
- Valutare una ipotetica correlazione tra esposizione occupazionale e salute dei lavoratori attraverso specifiche attività di monitoraggio e ricerca.
- Collaborare alla realizzazione di un modello per la prevenzione primaria e secondaria di malattie lavoro-correlate.
- Fornire strumenti scientifici e soluzioni procedurali di supporto ai vari organi di controllo, in modo da attuare le misure previste dalla normativa in termini di prevenzione e sicurezza dei lavoratori.

## MODELLO DELLO STUDIO

Il processo di valutazione del Rischio da esposizione ad agenti chimici si articola, su tre fasi fondamentali:

- Valutazione del pericolo. Alla base vi è un'attenta e scrupolosa analisi della Scheda di Sicurezza del prodotto, in cui sono elencate e descritte tutte le proprietà intrinseche di pericolo della sostanza oggetto della valutazione.
- Valutazione dell'esposizione. Bisogna tener conto delle modalità attraverso la quale i

lavoratori esposti possono entrare in contatto con la sostanza, della frequenza di utilizzo, della quantità massima e di valutazioni ambientali e rilevazioni biologiche volte a caratterizzare la presenza della sostanza nell'ambiente di lavoro e/o l'assorbimento nell'organismo.

- Caratterizzazione del rischio. Sulla base dei risultati emersi dalle due fasi precedenti elaborando una serie di misure preventive, protettive e di sorveglianza sanitaria, rivolte a eliminare o ridurre, la possibilità di esposizione alla sostanza nell'ambito dello scenario lavorativo analizzato, e in parallelo a monitorarne la presenza e la diffusione.

Lo studio prevede tre piani di azione:

#### 4) Valutazione Preliminare

Compilazione di un questionario preliminare da sottoporre a ciascun operatore, da parte di un medico autorizzato, che raccolga le seguenti informazioni:

- Tipologia di attività aziendale
- Mansione svolta
- Orario e carico di lavoro
- Eventuale esposizione a sostanze chimiche
- Formazione del personale sul rischio chimico
- Comportamento del lavoratore sul luogo di lavoro.
- Anamnesi patologica riguardo i sintomi ipoteticamente correlati all'esposizione a sostanze chimiche (problemi respiratori, epatici, neurologici, ecc.).

#### 5) Parte Ambientale

Valutazione dei livelli di esposizione alle sostanze chimiche/miscele utilizzate durante i processi lavorativi. Attraverso l'utilizzo di campionatori attivi e passivi si procederà a determinare le relative concentrazioni negli ambienti di lavoro e l'esposizione dei singoli addetti.

#### 6) Parte Analitica

Raccolta e analisi dei campioni biologici secondo il protocollo delle Studio riportati nell'apposita sezione

.

- SPEM: Studio di Esposizione in Popolazione affetta da Malattia

## DISEGNO DELLO STUDIO

Lo studio SPEM coinvolge 800 pazienti affetti da 4 patologie selezionate sulla base della matrice eziopatogenetica ambientale accoppiati per sesso, età con 800 controlli sani. Nel disegno dello studio SPEM, notevoli sforzi sono stati compiuti perché superasse i limiti degli studi epidemiologici (come lo studio SENTIERI[1]) e di biomonitoraggio (quale lo studio SEBIOREC[2]) che hanno interessato il territorio della Regione Campania, limiti che includono l'assenza di dati individuali di biomonitoraggio e di un approccio olistico imperniato sulla possibilità di incrociare questi dati con le informazioni cliniche attinenti lo stato di salute del singolo individuo e le risultanze delle attività di monitoraggio ambientale. Nello studio SPEM, biomarcatori di esposizione sono infatti misurati su base individuale e collegati alle informazioni circa lo stato di salute dell'individuo; questi dati sono rapportati tenendo conto del domicilio e della sede lavorativa del cittadino a quelli ottenuti negli studi di monitoraggio ambientale disponibili nell'ambito del progetto citato sopra "Campania Trasparente" e nell'ambito delle attività ordinarie degli Enti pubblici preposti (es. ARPAC). Il disegno dello studio, con un *set* integrato di valutazioni su soggetti controlli e residenti in aree (*cluster*) a diverso indice di pressione ambientale, già usato per lo studio SPES, rappresenta un innovativo metodo di individuazione di rischio biologico nell'ottica sia dell'approfondimento delle dinamiche eziopatogenetiche che dell'avvio di misure di prevenzione e cura, che tengano conto del contributo ambientale nell'insorgenza delle patologie selezionate. oggetto di studio verranno richieste in maniera approfondita informazioni circa l'anamnesi familiare, personale, patologica, lavorativa, e sui luoghi di residenza/lavoro abituali. Dettagliate informazioni circa le abitudini alimentari verranno esplorate in dettaglio usando il questionario impiegato per lo studio EPIC (REF).

Le quattro affezioni morbose considerate nello studio SPEM sono quelle ampiamente illustrate nel razionale, quali:

- (1) diabete mellito di tipo 2;
- (2) tumore della vescica;
- (3) Infarto del miocardio;
- (4) sarcomi dei tessuti molli

### **Diabete mellito di tipo 2**

Secondo dati ISTAT, nel 2011 sono state quasi 3 milioni le persone che hanno dichiarato di essere diabetiche, corrispondenti a circa il 4,9% della popolazione italiana. Una prevalenza superiore alla media nazionale si riscontra al Sud, ove risiedono circa 900 mila diabetici, contro i 650 mila risidenti nelle regioni del Nordovest, i 600 mila delle regioni del Centro Italia, i 450 mila delle regioni del

Nord-est e i 350 mila delle isole (REF). Il diabete è associato a complicanze frequenti e invalidanti, che coinvolgono l'apparato cardiovascolare (infarto del miocardio, ictus, aterosclerosi, ecc.), i reni (nefropatia diabetica), gli occhi (glaucoma, retinopatie, ecc.). A causa del suo andamento cronico e delle molteplici complicanze ad esso associate, il diabete è gravato da costi economici e sociali assai elevati. In Regione Campania, la mortalità nei maschi per diabete è di 50,4 persone per 100 mila abitanti, seconda in Italia solo a quella della Sicilia, mentre per le donne è di 51,2 per 100 mila abitanti, la più alta in Italia. La familiarità, l'obesità e la sedentarietà rappresentano i principali fattori di rischio per l'insorgenza del diabete mellito di tipo 2, mentre una dieta salutare, un peso normale, un'attività fisica moderata e continua nel tempo sono fattori protettivi, essendo in grado di ridurre i lipidi nel sangue, la pressione arteriosa, nonché l'insulino-resistenza periferica.

Le concentrazioni sieriche di inquinanti ambientali sono state positivamente correlate con il diabete e la sindrome metabolica in studi epidemiologici. Una meta-analisi recentemente pubblicata da Song ed altri [5] ha analizzato il rapporto tra i livelli nei fluidi biologici di diossine, policlorobifenili [PCB], pesticidi clorurati, bisfenolo A [BPA], e ftalati e l'insorgenza di diabete mellito di tipo 2 in 41 studi trasversali e 8 studi prospettici. Le concentrazioni sieriche di diossine, PCB e pesticidi clorurati sono risultate essere significativamente associate al rischio diabete mellito di tipo 2; infatti, confrontando i soggetti inclusi con concentrazioni più alte vs. quelli con concentrazioni più basse, i rischi relativi per la condizione di essere affetti da diabete (RR) erano di 1.91 (95% intervallo di confidenza [CI] 1,44-2,54) per le diossine, 2,39 (95% CI 1,86-3,08) per i PCB totali e 2.30 (95% CI 1,81-2,93) per i pesticidi clorurati. Inoltre, le concentrazioni urinarie di BPA e ftalati sono stati anch'esse associate al rischio di diabete mellito di tipo 2, con rischi relativi di 1,45 (95% CI 1,13-1,87) per il BPA e 1.48 (95% CI 0,98-2,25) per i ftalati. Infine, concentrazioni più elevate di interferenti endocrini sono state associate ad indicatori di alterata glicemia a digiuno e insulino-resistenza. Va sottolineato come i contaminanti organici persistenti in grado di agire quali interferenti endocrini siano stati altresì associati all'insorgenza di diabete gestazionale [6]. Inoltre, i risultati della rigorosa analisi sistematica della letteratura di Song sono corroborati da una solida plausibilità biologica derivante dalla capacità da parte dei contaminanti menzionati di attivare il recettore arilico (AhR), causando insulino resistenza. In uno studio caso- controllo [7] che ha coinvolto 83 soggetti con diabete di tipo 2, accoppiati per età, sesso e indice di massa corporea (BMI) soggetti con individui con alterata tolleranza al glucosio (IGT, n = 130) e tolleranza al glucosio normale (NGT, n = 83), l'attività sierica del recettore AhR è stata misurata impiegando un test simile al CALUX impiegato nello studio SPES in termini di equivalenti 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina (TCDD<sub>eq</sub>, pmol / l). In questo studio, il gruppo di pazienti affetti da diabete di tipo 2 ha avuto il più alto grado di attività AhR rispetto agli altri due gruppi IGT e NGT gruppi [mediana (range interquartile), 68,1 (53.1, 81.5), 60.2 (45.8, 75.1) e 53.3 (46.1, 63.7) pmol / l, rispettivamente; P = 0.003]. Nell'analisi multivariata, i livelli TCDD<sub>eq</sub> log2-trasformato erano significativamente associati con il rischio di diabete di tipo 2 dopo correzione per età, sesso, indice di massa corporea e (odds ratio 2.26, 95% intervallo di confidenza 1,34- 3,82; P =

0,002). Un dato di grande interesse è che nei soggetti non diabetici, l'attività agonista verso AhR ha mostrato una correlazione positiva con glicemia a digiuno e le concentrazioni di insulina e il grado di resistenza all'insulina, inducendo a supporre che la valutazione dell'attività agonista del siero verso il recettore AhR sia in grado di predire lo sviluppo di diabete mellito.

Altre evidenze di letteratura appaiono fornire evidenze coerenti. Uno studio[8] condotto in un campione di 97 partecipanti coreani (47 con intolleranza al glucosio e 50 controlli abbinati, età media di  $46,6 \pm 9,9$  anni, 53 maschi e 45 femmine), ha misurato l'attività del recettore AhR come equivalenti sierici 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina (sTCDDeq) in pM utilizzando 10  $\mu$ L di siero umano e ha mostrato che sTCDDeq era più alto nei partecipanti con intolleranza al glucosio rispetto ai controlli normali ed era associato positivamente ( $P < 0,01$ ) con obesità, pressione arteriosa, trigliceride sierico e glucosio a digiuno, ma non con colesterolo HDL. L'indice di massa corporea era in una relazione lineare positiva con i ligandi di siero AhR in soggetti sani. Inoltre, gli autori di questo studio hanno anche dimostrato che quando le cellule di mioblasto sono state incubate con sieri umani, la capacità di generare ATP è stata inibita in maniera strettamente dipendente dalla concentrazione di ligando di AhR. In un altro studio [9], sono state valutate 1234 persone non diabetiche residenti nei pressi di una fabbrica di pentaclorofenolo deserta per livelli di diossine sieriche, glucosio a digiuno e insulina usando gascromatografia ad alta risoluzione / spettrometria di massa ad alta risoluzione ed eseguendo test di biochimica del sangue. Lo scopo dello studio era quello di esaminare le associazioni tra i livelli di diossina nel siero e la resistenza all'insulina congiuntamente alla funzione delle cellule beta pancreatiche. I partecipanti con resistenza all'insulina (indice pari o superiore al 75 ° percentile) presentavano livelli più alti di diossina (24,3 vs 19,8 pg WHO (98) -TEQ (DF) / g lipidico) rispetto a quelli senza insulino-resistenza. Sia considerando i dati grezzi che quelli corretti, l'insulino-resistenza è aumentata con i livelli sierici di dibenzo-p-diossine e dibenzofurano (PCDD / F). Gruppi con livelli sierici di diossina superiori a 20,5 pg WHO (98) -TEQ (DF) / g lipidi avevano una maggiore resistenza all'insulina (rapporti di probabilità aggiustati di 2,7, 3,5 e 5,0 per il 50 ° a <75 °, 75 ° a <90 ° e  $\geq 90$  ° percentile, rispettivamente) rispetto al gruppo di riferimento (<9,6 pg WHO (98) -TEQ (DF) / g lipide [<10 ° percentile]).

Inoltre, anche il mercurio e gli idrocarburi policiclici aromatici, che sono oggetto di indagine nell'ambito dello studio SPEM, potrebbero avere un ruolo nella patogenesi dell'insulinoresistenza e quindi del diabete. Uno studio trasversale[10] ha esaminato 1449 individui non diabetici residenti nei pressi di una fabbrica dismessa di pentaclorofenolo e cloroalcali. I fattori correlati alla sindrome metabolica sono stati misurati per esaminare le associazioni con la diossina sierica e il mercurio nel sangue, assieme alla resistenza all'insulina ( $HOMA-IR > 75$  ° percentile), alla funzione delle cellule beta del pancreas difettoso (cellula  $\beta$   $HOMA > 75$  ° percentile), alle diossine sieriche e al mercurio del sangue. Dopo aggiustamento per fattori di confondimento, è stato scoperto che la resistenza all'insulina aumentava con le diossine sieriche ( $b = 0,13$ ,  $P < 0,001$ ) e il mercurio nel sangue ( $b = 0,01$ ,  $P < 0,001$ ). Inoltre, i partecipanti con diossine sieriche più elevate o mercurio del sangue erano ad un rischio

significativamente crescente di insulino-resistenza ( $P$  (trend)  $<0,001$ ). Il più alto terzile delle diossine sieriche e del mercurio nel sangue era associato a un elevato HOMA-IR, con una probabilità 11 volte superiore rispetto al terzile più basso (OR 11,00, IC 95%: 4,87, 26,63).

In uno studio che ha utilizzato il National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2008 per studiare le associazioni tra otto metaboliti monoidrossi urinari di quattro IPA e l'omeostasi del glucosio e la sindrome metabolica in 1.878 partecipanti non diabetici di età pari o superiore a 18 anni, nei modelli di regressione lineare, un aumento del livello di 2-PHEN era significativamente associato ad un aumento della resistenza all'insulina (coefficiente  $\beta$   $0,05 \pm 0,02$ ) e l'aumento delle concentrazioni di 3-FLUO (coefficiente  $\beta$   $-0,02 \pm 0,01$ ) era significativamente associato alla diminuzione della funzione delle cellule beta (tutti  $p < 0,05$ ) dopo aver controllato le covariate selezionate. Inoltre, aumento delle concentrazioni di 2-FLUO (OR = 1,25, IC 95%: 1,04-1,51), 1-PHEN (OR = 1,36, IC 95%: 1,09-1,70) e 2-PHEN (O: 1,49, 95 % CI:

1,22-1,83) erano significativamente associati con una maggiore prevalenza della sindrome metabolica dopo aggiustamento per le covariate. Risultati consistenti sono stati osservati nell'analisi dei sottogruppi tra i non fumatori.[11]

In sintesi, numerosi studi mostrano che l'insulino-resistenza e il diabete sono strettamente collegati all'esposizione agli inquinanti ambientali, in modo particolare con le diossine, i metalli pesanti e gli idrocarburi policiclici aromatici.

### **Tumore della vescica**

Il tumore alla vescica è la quinta neoplasia più frequentemente diagnosticata negli italiani di sesso maschile, essendo responsabile del 7% delle nuove forme di tumore nell'uomo e del 2% delle nuove forme di tumore nella donna. L'incidenza di cancro alla vescica appare elevata soprattutto in provincia di Napoli, con 75,3 e il 11,1 per casi per 100.000 abitanti nei maschi e femmine, rispettivamente (tasso standardizzato per età, AIRTUM 2005-2009). Comparativamente, il tasso standardizzato per età è stato di 45,3 e di 9 casi per 100 mila abitanti nei maschi e nelle femmine, rispettivamente, nell'ambito del territorio italiano servito dai Registri Tumori. Secondo lo studio SENTIERI, la vasta area delle province di Napoli e Caserta comprendente il Litorale Domizio Flegreo e Agro Aversano, con 77 comuni e circa 1400.000 abitanti presenta un tasso relativo standardizzato di mortalità e di incidenza per cancro alla vescica corretto per l'indice di deprivazione significativamente più elevato del previsto negli uomini, essendo rispettivamente 112% (IC 90%: 105-120) e il 110% (IC 90%: 103-117 ) [12]. Diversi contaminanti ambientali, sia di origine naturale che antropica, sono noti per aumentare il rischio di carcinoma vescicale. Un aumento del rischio di mortalità per tumore vescicale di circa il 7% è stato riscontrato adottando un approccio meta-analitico nei residenti nelle vicinanze di siti con contaminazione ambientale accertata [1]. L'arsenico è un fattore di rischio [13], anche a basse esposizioni, come quella derivante dal consumo prolungato di acqua contaminata; lo studio SEBIOREC ha evidenziato livelli di arsenico nel siero delle persone arruolate superiori rispetto a quelli attesi in alcune cittadine della provincia di Napoli [14]. Anche gli idrocarburi policiclici

aromatici rappresentano contaminanti ambientali in grado di influire in maniera significativa sul rischio di carcinoma vescicale [15]. Uno studio caso-controllo ha evidenziato come il calcio, il nickel, il litio e lo stronzio siano presenti a concentrazioni maggiori nel siero dei pazienti affetti da carcinoma vescicale vs. i controlli sani.[16]. Sia il tetracloroetilene che il tricloroetilene rappresentano carcinogeni noti per gli esseri umani [17][18]. L'esposizione professionale al tetracloroetilene è nota essere associata ad un aumentato rischio di carcinoma vescicale in maniera dose-dipendente, con un aumento del rischio relativo di essere affetti del 50% negli impiegati nelle lavanderie industriali[19], mentre il rischio meta-relativo (mRR) tra i tutti lavoratori esposti al tetracloroetilene è risultata esse di 1,08 (IC 95%: 0,82, 1,42, tre studi, 463 casi esposti). Per i lavoratori delle lavanderie industriali, invece, il mRR complessivo era 1,47 (IC 95%: 1,16, 1,85, sette studi, 139 casi esposti), mentre per gli studi corretti per l'abitudine tabagica, l'mRR era 1,50 (IC 95%: 0,80, 2,84; studi caso-controllo).

Secondo lo studio caso-controllo di Aschengrau [20]e altri, i soggetti appartenenti al decile di esposizione più elevata a tetracloroetilene presentavano un rischio di carcinoma vescicale quattro volte superiore rispetto al rimanente novanta per cento (odds ratio corretto = 4,03, I. C: 95% = 0,65-25,10).

### **Infarto miocardico**

Studi preclinici e studi clinici sull'esposizione professionale hanno messo in luce una significativa correlazione tra gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e lo stress ossidativo, l'infiammazione e l'aterosclerosi[21][22][23]. Uno studio condotto su circa 10 mila individui, ha mostrato come vi sia una stretta associazione tra otto metaboliti urinari di IPA e la presenza di vasculopatia periferica, che è a sua volta strettamente associata al rischio di infarto miocardico. In un modello di regressione logistica, soggetti appartenenti a terzile medio e alto della curva di distribuzione dei metaboliti fluorene, 2-hydroxyfluorene (2-FLUO) e 3-hydroxyfluorene (3- FLUO), e fenantrene metaboliti, 1-hydroxyphenanthrene (1-PHEN) e 2- hydroxyphenanthrene (2- PHEN), avevano una prevalenza significativamente più alta di PAD rispetto ai soggetti appartenenti al terzile più basso dopo correzione per il fumo di sigaretta, diabete mellito e altre covariate (per 2-FLUO, il 3 ° terzile: OR = 2.22, 95% CI = 1,13-4,37, p per trend = 0,02; For 3- FLUO, 3 ° terzile: OR = 2.36, 95% CI: 1,16-4,77, p per trend = 0,02; per 1-PHEN, 3 ° terzile: OR = 1.84, 95% CI: 1,01-3,37, p per trend = 0.04; per 2-PHEN, 3 ° terzile: OR = 1,76, 95% CI: 1,07-

2,88, p per trend = 0.03). Evidenze indirette circa il ruolo eziologico degli idrocarburi policiclici aromatici nell'ambito delle malattie cardiovascolari in generale e dell'infarto miocardico acuto in particolare potrebbero essere ricercate nei meccanismi patogenetici alla base del ben documentato incremento di mortalità (Progetto ESCAPE[24]) associato all'esposizione a particolato atmosferico (PM10 – PM 2.5), costituito, tra gli altri inquinanti, da idrocarburi policiclici aromatici [25]. Anche l'esposizione a metalli pesanti è risultata essere associata ad un aumento del rischio cardiovascolare. In un ampio studio di popolazione [26], le concentrazioni di metalli pesanti sono state misurate nel sangue

intero di 1.152 residenti locali mediante spettrometria di massa. Considerando i tassi grezzi e i tassi di mortalità standardizzati per età, sesso e causa specifica, i modelli di regressione sono stati quindi utilizzati per valutare le associazioni tra l'esposizione a metalli pesanti e la mortalità causa-specifica nella popolazione studiata. Questo studio ha trovato che aumenti significativi delle concentrazioni medie di cadmio, piombo e zinco nei campioni di sangue sono risultati associati a un tasso di mortalità maggiore per tutte le cause in entrambi i sessi, ivi inclusa la malattia cardiovascolare (CVD).

## CRITERI DI INCLUSIONE/ESCLUSIONE

### Criteria di inclusione

#### 1) Diabete mellito di tipo 2

- Casi

Diagnosi di diabete mellito di tipo 2 insulino dipendente e insulino indipendente, diagnosticati da meno di 1 anno

- Controlli

Assenza di diabete mellito di tipo 2 o di alterata tolleranza glucidica (verifica attraverso misurazione di glicemia a digiuno ed emoglobina glicata)

#### 2) Tumore della vescica

- Casi

Diagnosi istologica di tumore della vescica di nuova insorgenza o recidivato da meno di 30 giorni, indipendentemente dallo stadio di malattia.

I pazienti arruolabili devono eseguire il prelievo dopo la diagnosi istologica ottenuta mediante biopsia (TURB) o cistectomia, ma prima dell'eventuale inizio di chemioterapia sistemica o terapia endovesicale

- Controlli

Assenza di tumore maligno all'anamnesi

Ulteriori fattori per i controlli oltre sesso, età e residenza

Abitudine tabagica

#### 3) Infarto miocardico

- Casi

Diagnosi di infarto miocardico acuto < 15 giorni

- Controlli

Assenza di infarto miocardico pregresso

Ulteriori fattori per i controlli oltre sesso, età e residenza

Stessa classe di rischio cardiovascolare rispetto al rischio del caso corrispondente preinfarto (Rif. ISS)

### Criteria di esclusione

(Non specifici per popolazione - validi per tutti i pazienti / cittadini arruolati)

- Controindicazioni assolute al prelievo ematico richiesto
- Positività per HBV, HCV, HIV
- Non essere residente nella stessa municipalità da almeno 5 anni
- Assenza di consenso informato
- Esposizione professionale nota

#### PROCEDURE E DURATA DELLO STUDIO

Tutti gli individui arruolati (casi e controlli) saranno sottoposti a prelievo di sangue venoso per la valutazione degli esami ematochimici / emocromo e dei test di biomonitoraggio ematico e urinario che comprendono la valutazione diretta o indiretta di diossine e composti diossino-simili, idrocarburi policiclici aromatici, metalli pesanti, tetracloroetilene/tricloroetilene, pesticidi. Gli intervistati completeranno il questionario sulle abitudini di vita e sulle abitudini alimentari impiegato per lo studio EPIC. Tutti i soggetti arruolati saranno seguiti come da pratica clinica e tutte le informazioni cliniche, con particolare attenzione a quelle rilevanti per la specifica patologia nei pazienti che costituiscono i casi, normalmente raccolte saranno registrate nell'ambito dello studio SPEM.

L'arruolamento avrà durata di 6 mesi

#### METODI ANALITICI

In coerenza con gli obiettivi del progetto si valuteranno:

1. Biomarcatori di Esposizione

Concentrazione di uno xenobiotico, di un suo metabolita o del loro prodotto di interazione con un componente endogeno.

2. Biomarcatori di Effetto Biologico e di Suscettibilità Genetica

Alterazioni biochimico-molecolari rilevabili nell'organismo umano in risposta del soggetto al danno subito. Suscettibilità intesa come indice di predisposizione (ereditaria od acquisita) di un individuo nella risposta ad uno xenobiotico.

#### BIOMARCATORI DI ESPOSIZIONE

##### Diossine e composti diossino-simili

Il termine diossina è comunemente usato per riferirsi ad una famiglia di sostanze chimiche

tossiche strutturalmente correlate (congeneri), con un comune meccanismo tossicocinetico. Le diossine sono contaminanti ambientali che si formano come prodotti secondari nel processo di incenerimento dei rifiuti o in alcuni processi industriali. I composti della famiglia delle diossine sono oggetto frequente degli studi di monitoraggio ambientale e biologico collegato all'inquinamento per attività antropiche per tre motivazioni:

- si formano durante la fase iniziale della combustione dei rifiuti;
- sono carcinogeni riconosciuti;
- sono in grado di persistere nell'ambiente e negli organismi viventi per lunghissimo tempo [27].

Fra tutti i composti diossino-simili, la sostanza maggiormente nota per la sua cancerogenicità conclamata (IARC monographs) è la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina nota più semplicemente come diossina o TCDD. L'uso indiscriminato di PCB (policlorobifenili), di PCB contaminati da diossine e la immissione incontrollata nell'ambiente di diossine hanno portato alla dispersione di queste sostanze in tutti i comparti ambientali. La presenza di diossine, PCB diossina-simili e non diossina simili (PCB "indicatori") negli alimenti è dovuta principalmente al bioaccumulo attraverso la catena alimentare. La principale fonte di esposizione per l'uomo a queste sostanze è rappresentata infatti dall'assunzione di prodotti alimentari di origine animale (EFSA, 2005, 2010) provenienti da produzioni zootecniche esposte ad emissioni di diossine e PCB che, principalmente per ricaduta dall'atmosfera, si depositano sulla superficie di suoli, foraggi, pascoli e acqua. Questo fenomeno determina nell'uomo l'esposizione continua a basse dosi che a lungo andare causa il bioaccumulo nei tessuti, provocando una serie di effetti avversi sulla salute che coinvolgono principalmente il sistema immunitario, lo sviluppo dell'organismo e la riproduzione, oltre alla cancerogenicità conclamata. È accertato infatti che l'esposizione alle diossine predispone fortemente le cellule alla trasformazione neoplastica. Inoltre, un significativo incremento nell'incidenza di diabete è stato dimostrato in esseri umani con livelli di accumulo di diossina in un intervallo da 99 a 140 ng/kg p.v., attraverso un monitoraggio durato oltre 20 anni su veterani della guerra del Vietnam (USAF, 1996). Quale principale effetto a lungo termine di esposizione a basse dosi, invece, questi contaminanti hanno la capacità di interferire con il sistema endocrino, agendo come distruttori endocrini chimici [28]. A questo proposito, la persistenza delle diossine e dei PCB è documentata anche nei tessuti umani, oltre che nelle matrici ambientali, con il conseguente rilascio graduale e l'esposizione cronica a basse dosi degli organi target. L'emivita della TCDD infatti, di circa 2-4 settimane in roditori, è stata stimata a 7- 11 anni negli esseri umani, anche se con notevoli variazioni individuali [27]. Anche nel caso di una combustione regolata nell'ambito di impianti di incenerimento, l'impatto ambientale in termini di contaminazione da parte di diossine e i composti diossino-simili è rilevante[29]. Nel caso peculiare della Terra dei Fuochi, la pratica diffusa di incenerimento incontrollato dei rifiuti rende i suoi abitanti a rischio di contaminazione da diossine e composti diossino-simili. Va notato che gli studi di monitoraggio ambientale e biologico condotti fino

ad ora nella Terra dei Fuochi hanno mostrato alte concentrazioni di diossine ( $\geq 5.0$  pg TEQ / g grasso) in campioni di latte provenienti da pecore, mucche, e bufali di fiume notevole contaminazione da diossina e PCB nei campioni di latte umano da coloro che vivono nelle zone di Napoli e Caserta (PCDD + PCDF e diossina-simili-PCB (dl-PCB) valutato a 16,6 pg TEQ / g di grasso; range: 7.5 - 43 pg / g di grasso) [30]. Non sono ancora ben noti i livelli di diossine nel sangue della popolazione campana, pertanto la stima dell'esposizione alle diossine non può prescindere dal biomonitoraggio, cioè dalla determinazione del carico corporeo individuale, attraverso la determinazione dei livelli di inquinanti nel siero del sangue, attualmente riconosciuto come il più potente strumento per determinare l'esposizione umana alle sostanze inquinanti persistenti, come le diossine e PCB. Verrà valutata la possibilità di eseguire per la determinazione degli organici la tecnica dei saggi biologici. L'oggetto della misurazione consiste nell'attività biologica diossino-simile nel sangue dei soggetti arruolati. Una volta estratto il plasma umano con esano/ etere etilico come solvente di estrazione e successivamente purificato (clean-up) su una colonna di silice, gli estratti puliti sono sciolti in DMSO. Il saggio biologico DR CALUX viene eseguito utilizzando una linea di cellule di ratto epatoma H4IIE stabilmente transfettate con un costrutto luciferasi gene reporter Ahr. Le cellule sono coltivate in terreno di coltura  $\alpha$ -MEM supplementato FCS. Le cellule sono quindi incubate esposte in triplice con gli estratti per 24 ore in piastre 96 pozzetti. Dopo l'incubazione, le cellule vengono lisate. Si aggiunge una soluzione contenente luciferina e l'attività della luciferasi è misurata con un luminometro. Ogni piastra contiene una serie di calibrazione 2,3,7,8- TCDD x DR Calux (mentre per i rimanenti tests vedi schede specifiche). Il Totale DR CALUX® TEQ nei campioni analizzati è determinato per interpolazione dalla curva di calibrazione 2,3,7,8- TCDD. I metodi impiegati sono quelli validati da ampia letteratura[36]

#### **Specifiche per il prelievo/ manipolazione/conservazione del campione**

A seguito di raccolta di 4 ml di sangue intero, i campioni di sangue vanno conservati subito a 4°C e quindi, entro 4 ore, conservati a -20°C prima di essere inviati al laboratorio incaricato della misurazione.

#### **Metalli pesanti**

La contaminazione da elementi tossici è una criticità ambientale e di sicurezza alimentare globale. I metalli per i quali sono stati stabiliti dei limiti negli alimenti (piombo, cadmio e mercurio) appartengono al gruppo degli elementi non essenziali e tossici, per i quali non sono conosciute funzioni nei processi biologici. In questo gruppo, il mercurio è considerato l'elemento più pericoloso per l'ambiente e la salute umana, in particolare per quanto riguarda la sua capacità di biomagnificazione [31] Tra i metalli tossici con alcune funzioni biologiche, l'arsenico è molto diffuso nelle due forme diverse, organico e inorganico, e proprio in quest'ultima forma l'arsenico è stato classificato nel Gruppo A dei cancerogeni per l'uomo (US EPA, 1999). Per quanto riguarda il cromo, analogamente all'arsenico la tossicità per l'uomo è conclamata, in particolare del cromo VI che è stato incluso nel gruppo A dei cancerogeni per inalazione (US EPA 1998).

Numerose evidenze presenti in letteratura scientifica hanno dimostrato che nell'ambito della Terra dei Fuochi è presente una biocontaminazione dovuta a metalli pesanti [32, 33, 34]. Per esempio, lo studio SEBIOREC[2] ha riscontrato un eccesso di livelli di arsenico nel siero dei residenti in alcune aree della provincia di Napoli (Brusciano, Caivano, Qualiano, Villaricca), mentre a Giugliano è stato riscontrato un eccesso di mercurio.

La contaminazione da elementi tossici è una criticità ambientale e di sicurezza alimentare globale. I metalli per i quali sono stati stabiliti dei limiti negli alimenti (piombo, cadmio e mercurio) appartengono al gruppo degli elementi non essenziali e tossici, per i quali non sono conosciute funzioni nei processi biologici. In questo gruppo, il mercurio è considerato l'elemento più pericoloso per l'ambiente e la salute umana, in particolare per quanto riguarda la sua capacità di biomagnificazione. Tra i metalli tossici con alcune funzioni biologiche, l'arsenico è molto diffuso nelle due forme diverse, organico e inorganico, e proprio in quest'ultima forma l'arsenico è stato classificato nel Gruppo A dei cancerogeni per l'uomo (US EPA, 1999). Per quanto riguarda il cromo, analogamente all'arsenico la tossicità per l'uomo è conclamata, in particolare del cromo VI che è stato incluso nel gruppo A dei cancerogeni per inalazione (US EPA 1998).

Numerose evidenze presenti in letteratura scientifica hanno dimostrato che nell'ambito della Terra dei Fuochi è presente una biocontaminazione dovuta a metalli pesanti[37] Per esempio, lo studio SEBIOREC[14] ha riscontrato un eccesso di livelli di arsenico nel siero dei residenti in alcune aree della provincia di Napoli (Brusciano, Caivano, Qualiano, Villaricca), mentre a Giugliano è stato riscontrato un eccesso di mercurio. Questi dati, unitamente alla pericolosità dei metalli pesanti analizzati richiamata sopra, sono sufficienti perché questi siano inclusi tra le analisi di biomonitoraggio previste da SPEM. Alla base del presente capitolo dello Studio di Esposizione vi è la determinazione nel siero ematico di 19 tra elementi e metalli pesanti di rilevanza tossicologica, ambientale ed alimentare individuati sulla base della corrispondenza con gli elementi ricercati nell'ambito del Piano di Monitoraggio Regionale Terra dei Fuochi (azione B19), al fine di consentire la correlazione dei dati del biomonitoraggio con i dati di contaminazione ambientale ed alimentare. Le sostanze sono di seguito elencate:

Antimonio; Arsenico; Berillio; Cadmio; Cobalto; Cromo; Manganese; Mercurio; Molibdeno; Nichel; Piombo; Rame; Selenio; Stagno; Stronzio; Tallio; Uranio; Vanadio; Zinco.

### **Metodi**

I campioni di siero (4 mL) sono mineralizzati per via umida in vessels di polipropilene da 100 mL con l'ausilio di un sistema a microonde (Milestone) in presenza di acido nitrico al 65 % (4 mL) e acqua ossigenata al 30 % (2 mL). Successivamente il tubo viene sottoposto ad una programmata termica: 50 °C, 50-90 °C a 3°C/min, 90°C per 30 minuti, 90-110 °C e 110°C per 120 minuti. Dopo raffreddamento del tubo alla temperatura ambiente (20–23 °C), la soluzione ottenuta è diluita 1:5 in un matraccio da 50 mL con una soluzione di acido nitrico all'1 %. L'analisi strumentale è effettuata mediante ICP MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer con cella di

reazione dinamica, Nexion, Perkin Elmer). Tutte le concentrazioni dei metalli sono espresse in mg/L di siero.

### **Pesticidi organofosfati e organoclorurati**

I pesticidi rappresentano un gruppo di molecole sviluppate per combattere microrganismi nocivi in agricoltura, e spesso sono tossici anche per altri organismi, incluso l'uomo.

I pesticidi organoclorurati sono attualmente banditi dall'uso comune, ma continuano ad essere importanti nell'ambito degli studi di biomonitoraggio, in quanto sottoprodotti di alcuni processi industriali e soprattutto per il loro carattere persistente nell'ambiente. I pesticidi organoclorurati comprendono l'esaclorobenzene, associato a tossicità cutanea e possibile carcinogeno), il diclorodifeniltricloroetano e diclorodifenildicloroetilene, associati a disendocrinopatie, danni al sistema nervoso, del fegato, della riproduzione, dello sviluppo fetale e del sistema immunitario, il Beta-HCH, associato a fenomeni di bioaccumulo e biomagnificazione nella catena alimentare e in grado di causare neurotossicità. I pesticidi organofosfati vengono utilizzati nell'agricoltura commerciale per controllare i parassiti delle colture ortofrutticole. Sono anche usati nei giardini di casa, per il controllo delle pulci sugli animali domestici e in alcune strisce non nocive. In passato, gli organofosfati erano ampiamente usati nelle case per controllare altri parassiti come termiti e formiche, ma questi usi sono stati interrotti.

Il dosaggio dei pesticidi organoclorurati e organofosfati è effettuato su un estratto derivato da un'aliquota di 2 mL di plasma concentrato con una miscela di solfato di ammonio / etanolo / esano (1: 1: 3) e l'estratto è stato quindi concentrato e ripulito su colonne di Florisil. Le analisi quantitative sono eseguite con gascromatografia (GC) accoppiato con uno spettrometro di massa (MS).

### **Specifiche per il prelievo/ manipolazione/conservazione del campione**

A seguito di raccolta di 4 ml di sangue intero e di 50 ml di urine, i campioni biologici vanno conservati subito a 4 °C e quindi, entro 4 ore, conservati a -20°C prima di essere inviati al laboratorio incaricato della misurazione.

### **Tetracloroetilene e tricloroetilene**

Nel sangue, il tetracloroetilene e il tricloroetilene sono analizzati mediante gascromatografia e spettrometria di massa ad alta risoluzione, con un limite di rilevazione di circa 0,02 parti per miliardo (ppb). I campioni di urina sono trattati con tampone fosfato 0,5 M pH 8,5 per idrolizzare TCA in cloroformio, e la gascromatografia viene usata per misurare il cloroformio. Il limite di rilevazione per il TCA nell'analisi delle urine era 0,05 mg / L.

### **Specifiche per il prelievo/ manipolazione/conservazione del campione**

A seguito di raccolta di 4 ml di sangue intero e di 50 ml di urine, i campioni biologici vanno conservati subito a 4 °C e quindi, entro 4 ore, conservati a -20°C prima di essere inviati al laboratorio incaricato della misurazione.



## BIOMARCATORI DI EFFETTO E DI SUSCETTIBILITÀ GENETICA

### Epigenetica: Metilazione del DNA e miRNA

L' epigenetica è lo studio dei meccanismi della regolazione dell'espressione genica che si verificano senza cambiamenti nella sequenza di DNA, meccanismi che includono la metilazione del DNA, la modificazione degli istoni e l'espressione di miRNA. Insieme, essi forniscono una base molecolare per determinare come l'ambiente influisca sul genoma in modo tale da modificare la suscettibilità alla malattia [35]. In quest'ottica, lo studio SPEM si propone di effettuare una approfondita analisi epigenetica, attraverso la valutazione della metilazione del DNA e del contenuto dei microRNA nei leucociti del sangue periferico negli individui arruolati nell'ambito dello studio. Il più noto meccanismo epigenetico è la metilazione del DNA, specifici *pattern* di metilazione del DNA che influenzano l'espressione genica, pur non alterano la sequenza nucleotidica in sé. La metilazione avviene fisiologicamente a livello delle citosine delle sequenze CpG (coppie di di-nucleotidi citosina-guanina), che si trovano sparse nel genoma, con particolare alta densità a livello delle cosiddette *CpG islands*, *CpG shore*, *CpG shelves*, a distanza nota da promotori di geni. In generale, l'aumento della metilazione è inversamente associato all' espressione genica. In situazioni patologiche si osservano una progressiva ipo-metilazione globale del genoma e una concomitante iper-metilazione a livello dei promotori di geni specifici; allo stesso tempo una de-metilazione delle CpG presenti nel corpo di un gene “gene-body” sono associate con stati di alterazione patologica per l'innescamento di inizi spurii di trascrizione [36]. Una diminuzione del livello globale di metilazione del DNA può contribuire alla mobilitazione di elementi trasponibili (ALU e LINE, ad esempio) che possono causare instabilità cromosomica, mentre l'ipermetilazione delle isole CpG dei promotori è coinvolta nel silenziamento di geni che svolgono spesso un ruolo nella regolazione della crescita cellulare, nel differenziamento, nella trasduzione del segnale e nella riparazione del DNA, o che sono implicati nelle metastasi e nell'angiogenesi tumorale. Gli stessi contaminanti tossici (siali natura organica che inorganica), sono in grado di modificare la metilazione del DNA [37]. I metalli, per esempio, sono noti per la loro capacità di incrementare i livelli di stress ossidativo a livello cellulare. Il danno causato al DNA da tale aumento nei livelli di radicali liberi dell'ossigeno inficia severamente l'attività della metiltrasferasi (enzima deputato alla metilazione del DNA, mediante trasferimento del gruppo metile  $-CH_3$  a carico del carbonio 5 della citosina di di-nucleotidi CpG), risultando quindi in cambiamenti nei livelli generali di metilazione del DNA. Tale meccanismo è stato osservato in seguito ad esposizione a cadmio [38, 39] e si è osservata anche una capacità inibitoria della metilazione nei protooncogeni da parte del cadmio, provocando una incontrollata proliferazione cellulare. Anche l'arsenico gioca un ruolo fondamentale nella carcinogenesi, agendo sulla metilazione del DNA (come

dimostrato in uno studio di popolazione in India: i soggetti esposti ad arsenico mostravano ipermetilazione dei geni P53 e P16, rispetto ai soggetti non esposti [40]). Recentemente gli effetti tossici dell'arsenico sono stati associati anche a cambiamenti nell'espressione dei microRNA: i miRNA alterati sono coinvolti nel metabolismo del carbonio [41]. Vi sono poi vari studi che dimostrano come il Nichel sia coinvolto nella tumorigenesi e nelle patologie cardiovascolari agendo non solo sulla metilazione del DNA [42] ma anche a livello istonico (le modificazioni istoniche sono uno dei meccanismi epigenetici che concorrono, con la metilazione del DNA, a definire i pattern di espressione genica) [43]. È stato osservato un ruolo preponderante del Cromo nell'insorgenza del tumore al polmone, anche se i meccanismi epigenetici coinvolti sono ancora poco conosciuti. In un lavoro di Kondo et al. è stato dimostrato un ruolo del Cromo nell'ipermetilazione del gene P16, misurata in tessuti tumorali polmonari e comparata con tessuti sani [44]. Per quanto riguarda gli inquinanti dell'aria, il particolato atmosferico gioca un ruolo di rilievo: è stato infatti associato a patologie cardiorespiratorie e ad un aumento del rischio di sviluppare un tumore polmonare [45-49]. Un'esposizione a lungo termine al PM10 (PM composto da particelle di diametro inferiore ai 10  $\mu\text{m}$ ) è associata a una diminuzione nei livelli della metilazione globale (stimata attraverso gli elementi ripetuti altamente conservati Alu e LINE) [50]. L'esposizione al benzene è stata associata ad un aumentato rischio di sviluppare la leucemia mieloide acuta, come emerso da uno studio condotto su lavoratori esposti a benzene (benzinai e vigili urbani) [36]: in questo lavoro si osserva una riduzione significativa nei livelli di metilazione globale in seguito ad esposizione al benzene. Il secondo meccanismo di controllo post-trascrizionale che verrà analizzato nell'ambito dello studio SPEM è rappresentato dall'espressione dei microRNA (miRNA). I miRNA sono piccole molecole di RNA (circa 22 nt) altamente conservate, non codificanti, che regolano l'espressione genica a livello post-trascrizionale. I miRNA sopprimono la sintesi proteica inibendo la traduzione di proteine o promuovendo la degradazione del mRNA, in entrambi i casi silenziando l'espressione genica. Una volta che i miRNA sono espressi, la loro maturazione è mediata dalle due endonucleasi Dicer e Drosha. Il miRNA maturo viene incorporato nel RNA-induced silencing complex (RISC), che dirige il miRNA a livello del mRNA target per la repressione traduzionale o la degradazione [51]. Anche i miRNA possono alterare l'espressione di geni in risposta ad esposizioni ambientali, quali ad esempio i metalli, e rappresentare un meccanismo patogenetico che lega l'esposizione alla insorgenza della patologia [52]. Il fumo di sigaretta, come osservato in diversi studi [53-56], è ad oggi il fattore principale in grado di modificare l'espressione dei miRNA nell'uomo. Anche il particolato atmosferico gioca un ruolo chiave, come evidenziato nello studio di Bollati et al. (2010) in cui si osservano variazioni nell'espressione di tre diversi miRNA analizzati in una popolazione di lavoratori di un'acciaieria [57]; in particolare uno di questi tre miRNA risulta maggiormente espresso in seguito ad un aumento dei livelli di esposizione e di conseguenza anche di stress ossidativo.

In particolare, verrà valutata la modulazione di microRNA di trasformazione neoplastica mediante biopsia liquida e analisi di miRNAs circolanti tramite tecnologia *microarray*. Tale metodica, minimamente

invasiva, consentirà di ottenere un profilo epigenetico completo di soggetti esposti e non esposti a inquinanti ambientali in modo da individuare specifici miRNAs de-regolati nei soggetti esposti e associati a geni notoriamente coinvolti nel cancro e nelle patologie selezionate per coorte di popolazione. Dopo aver individuato i miRNAs maggiormente *up*-regolati o *down*-regolati in conseguenza all'esposizione ad inquinanti ambientali verrà effettuato uno studio computazionale dei target genici di detti miRNAs.

Nella fase finale verranno valutati i livelli di espressione dei geni direttamente regolati dai miRNAs individuati mediante la tecnologia ad alta sensibilità della digital droplet PCR.

### Trascrittomica

L'analisi della risposta cellulare agli insulti tossici dovuti all'esposizione a differenti contaminanti ambientali prevede innanzitutto la valutazione delle variazioni trascrittomiche rispetto ad una popolazione di soggetti non esposti. La capacità di modulazione dell'espressione genica da parte dei contaminanti ambientali può essere registrata precocemente rispetto all'insorgenza di una determinata patologia, ma l'identificazione precoce di queste alterazioni richiede l'utilizzo di tecnologie di nuova generazione, capaci di analizzare simultaneamente ed in profondità, le variazioni dei livelli di RNA messaggero in un cospicuo numero di geni. La necessità di avere un ampio "*reference range*" (numero di geni analizzati simultaneamente) deriva dalla necessità di comprendere il ciclo di comunicazioni esistenti all'interno delle vie di trasduzione del segnale cellulare, attivate da un insulto esterno (in questo caso il contaminante o la miscela di contaminanti) che regolano i principali processi di crescita, proliferazione e morte cellulare. Le principali vie di trasduzione del segnale che soprassedono a tali processi, e consentono di valutare anche precocemente se l'organismo si stia preparando ad una risposta adattativa, includono le vie delle MAP chinasi, di STAT, di TGF- $\beta$ , le vie di controllo del ciclo cellulare, l'apoptosi, la via di Hedgehog e di Wnt, i meccanismi di controllo del riparo al DNA e i processi di modificazione della cromatina e del controllo trascrizionale.

N – Counter Sprint – Nanostring rappresenta la tecnologia selezionata per indagare simultaneamente tutti i geni coinvolti nelle vie di trasduzione del segnale appena discusse, utilizzando l'RNA estratto dai linfociti isolati da prelievi di sangue dei soggetti SPEM. Questa azione rappresenta un elemento estremamente avanzato nello scenario dello studio SPEM, volto alla definizione dell'impatto che i contaminanti possono avere sulle principali vie di regolazione del segnale cellulare, consentendo di definire la presenza di alterazioni precoci nell'espressione dei geni che regolano o partecipano a tali vie. I dati ottenuti da questo approccio sperimentale potranno consentire di modulare, in base alle evidenze sperimentali, il disegno di futuri studi di biopsia liquida e analisi di miRNAs circolanti tramite tecnologia *microarray*. Tale metodica, minimamente invasiva, consentirà di ottenere un profilo epigenetico completo di soggetti esposti e non esposti a inquinanti ambientali in modo da individuare specifici miRNAs de-regolati nei soggetti esposti e associati a geni notoriamente coinvolti nel cancro e nelle patologie selezionate per coorte di popolazione. Dopo aver individuato i miRNAs maggiormente

*up*-regolati o *down*- regolati in conseguenza all'esposizione ad inquinanti ambientali verrà effettuato uno studio computazionale dei target genici di detti miRNAs.

Nella fase finale verranno valutati i livelli di espressione dei geni direttamente regolati dai miRNAs individuati mediante la tecnologia ad alta sensibilità della digital droplet PCR.

#### Stato immunitario e analisi metabolomica

Un gran numero di studi ha collegato l'esposizione a inquinanti ambientali con alterazioni del livello di citochine nel siero, conseguente alle interferenze degli xenobiotici con il sistema immunitario e all'effetto pro-infiammatorio di questi ultimi. Un gran numero di studi ha collegato l'esposizione a inquinanti ambientali con alterazioni del livello di citochine nel siero, conseguente alle interferenze degli xenobiotici con il sistema immunitario e all'effetto pro-infiammatorio di questi ultimi. Dati *in vitro* mostrano come inquinanti ambientali siano dotati della capacità biologica di inquinanti di alterare la secrezione di citochine in linea cellulari [58]. Questi dati sono coerenti con le esperienze nell'uomo. Per esempio, analizzando i livelli di linfociti T produttori IL-4 e IFN-gamma nei neonati, Lehmann e altri hanno mostrato che questi erano rispettivamente aumentati e diminuiti dall'esposizione delle madri a fonti di naftalene e di tricloroetilene, rispettivamente [59]. Una correlazione tra esposizione ad inquinanti tossici e livelli di citochine è stata trovata analizzando i livelli di queste ultime nelle lacrime di soggetti esposti [60]. Assieme ai marcatori di stato immunitario, sarà anche effettuata una analisi innovativa delle alterazioni metabolomiche riscontrate negli individui valutati, sulla scorta dei dati raccolti circa i livelli sierici di metaboliti in soggetti esposti a TCDD in confronto a soggetti non esposti. Uno studio ha dimostrato una variazione nei lavoratori esposti dei livelli di metaboliti implicati nei *pathways* relativi all'accumulo lipidico, beta-ossidazione degli acidi grassi ed al metabolismo degli amminoacidi [61].

#### Polimorfismi Genetici

È ben noto che esiste una grande variabilità nella risposta individuale all'esposizione ai cancerogeni e ciò potrebbe avere un impatto sul rischio di sviluppare patologie collegate all'inquinamento ambientale. Alla base di tale suscettibilità individuale vi è la presenza di polimorfismi genetici in geni chiave coinvolti nei meccanismi di riparo del danno al DNA e nel metabolismo degli xenobiotici [62].

La costituzione genetica di un individuo può influenzare in modo rilevante il suo corredo enzimatico e, di conseguenza, la sua capacità metabolica e di riparazione del danno al DNA. Le diverse capacità metaboliche connesse alla presenza di comuni polimorfismi genetici rappresentano le basi per differenze interindividuali nel rischio di sviluppare eventi clinici associati a fattori di esposizione ambientale.

Pertanto, i biomarcatori molecolari di suscettibilità, polimorfismi genetici, misurano la variabilità individuale all'esposizione e possono migliorare la precisione e la forza delle presunte associazioni

esposizione-malattia.

In particolare, i polimorfismi di geni codificanti per gli enzimi CYP1A1, CYP2E1, GSTM1 e GSTT1 sono stati associati a una maggiore suscettibilità individuale alle esposizioni ad idrocarburi policiclici aromatici e metalli pesanti [63]. Sulla base di tali presupposti, gli individui arruolati nello studio SPEM saranno sottoposti ad approfondimento con valutazione dei polimorfismi suddetti, e la loro correlazione con i livelli di contaminanti ambientali identificati.

## ASPETTI ETICI

### PROTEZIONE DEI PARTECIPANTI E RISERVATEZZA DEI DATI PERSONALI

Gli studi sono di tipo interventistico non farmacologico. Il protocollo è stato redatto in conformità alle Norme di Buona Pratica Clinica dell'Unione Europea in materia di studi interventistici e alla revisione corrente della Dichiarazione di Helsinki.

Il protocollo e i suoi allegati sono soggetti a revisione e approvazione del Comitato Etico.

Lo studio sarà notificato al Comitato Etico di ciascun centro partecipante in accordo con la normativa italiana vigente e sarà avviato solo in seguito al ricevimento di autorizzazione da parte dell'ospedale (dove prevista).

Tutti i record che identificano il soggetto resteranno confidenziali e, con i limiti permessi dalle leggi vigenti, non saranno resi disponibili al pubblico. Un numero identificato sequenziale sarà attribuito in maniera automatica dal software ad ogni soggetto inserito nello studio. Questo numero identificherà il soggetto e dovrà essere incluso in tutte le schede di raccolta dati. Lo sperimentatore manterrà presso il centro un log book dove - per evitare errori di identificazione - verranno riportate accanto ad un codice progressivo riconducibile all'identificativo soggetto registrato nel database, anche le iniziali e la data di nascita del soggetto.

Ogni e tutte le informazioni del soggetto o la documentazione riguardante lo studio clinico, sono soggette ai provvedimenti delle leggi di protezione dei dati personali e dei provvedimenti del Garante della Privacy. Esse saranno identificabili soltanto dagli sperimentatori autorizzati presso ciascun centro.

Non sono identificabili rischi fisici, psichici e/o sociali direttamente derivati dalle procedure che saranno seguite per l'arruolamento degli individui arruolati nello studio e la raccolta dei relativi dati.

### TUTELA DELLA PRIVACY

Tutte le procedure saranno svolte rispettando il Codice in materia di protezione dei dati e in particolare il Decreto legislativo n. 196/2003, Decreto legislativo n.101/2018 e del Reg UE 679/2016.

Il Modulo per il trattamento dei dati è infatti redatto e compilato da ciascun soggetto reclutato a discrezione dall'Istituto Nazionale Tumori- IRCCS Fondazione G. Pascale e/o Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno con modalità cartacee ed informatizzate per le finalità di ricerca

medico/scientifica.

Il Consenso Informato con il trattamento dei dati personali, sensibili, genetici e dei campioni biologici, è effettuato con un livello di sicurezza assai elevato.

I dati genetici e i campioni biologici, conformemente alle disposizioni di legge, sono trattati con tecniche di cifratura e/o codici identificativi che permetteranno di identificare i soggetti solo in caso di necessità e sono trattati esclusivamente all'interno di locali protetti e selezionati a favore dei soli soggetti specificamente autorizzati.

Tali dati non saranno diffusi e non saranno oggetto di comunicazione, salvo che la comunicazione non sia indispensabile per il perseguimento delle finalità scientifiche e di ricerca.

Nel caso in cui il risultato delle analisi effettuate possa essere pubblicato o presentato a congressi scientifici, ciò avverrà garantendo l'assoluto anonimato.

In qualunque momento il soggetto selezionato ha potuto, ai sensi dell'art. 7 del D.lgs. 196/2003, esercitare i diritti riconosciuti all'interessato e, in qualsiasi momento, revocare i consensi prestati, senza che ciò comporti alcuno svantaggio o pregiudizio.

Il soggetto ha facoltà di interrompere in ogni momento e senza fornire alcuna giustificazione la Sua partecipazione allo studio: in tal caso, i campioni biologici correlati sono destinati a distruzione e non si prevede la raccolta di ulteriori dati che lo riguardano, fermo restando l'utilizzazione di quelli eventualmente già raccolti per determinare, senza alterarli, i risultati della ricerca.

Il sistema informatico utilizzato, inoltre, è deputato all'archiviazione e alla gestione di dati sensibili, finalizzati alla sola ricerca scientifica, motivo per cui è stato sviluppato applicando strumenti di crittografia e policy di restrizione degli accessi alle informazioni. Tutte le interazioni con il sistema sono avvenute mediante canali sicuri utilizzando protocolli di sicurezza riconosciuti internazionalmente (es. https).

I Server su cui è stato installato il sistema sono stati configurati per limitare l'accesso ai servizi disponibili e al filesystem da parte di malintenzionati. Altre livelli di sicurezza sono stati forniti mediante l'utilizzo di firewall di rete. Per quanto concerne i requisiti funzionali, relativamente alla sicurezza e al trattamento dei dati sensibili, è stato di fondamentale importanza assicurarsi che venissero rispettate le normative che disciplinano la tutela della privacy. Il software rende infatti disponibili tutti i dati memorizzati per soli fini di ricerca, assicurando la protezione e la riservatezza delle informazioni secondo la vigente normativa.

## GESTIONE DEL CONSENSO INFORMATO

Tutti i soggetti saranno informati degli scopi dello studio, della sua natura dello studio e dell'assenza di procedure diagnostiche e terapeutiche diverse dalla pratica clinica corrente, della volontarietà alla partecipazione e della possibilità di rifiutare l'ulteriore partecipazione allo studio in ogni momento senza che questo pregiudichi le cure successive. L'osservazione verrà pertanto sospesa in caso di ritiro del consenso da parte del soggetto.

Tutti i soggetti saranno informati della confidenzialità dei dati personali, e del fatto che questi dati potranno essere sottoposti a revisione, per motivi legati allo studio, da parte di individui autorizzati diversi dal medico. Il soggetto prenderà visione del foglio informativo descrittivo delle caratteristiche dello studio, della nota informativa sulla protezione dei dati personali e potrà esprimere la volontà di aderire allo studio firmando il modulo di consenso al trattamento.

Il modulo di consenso informato scritto sarà firmato e datato personalmente dal soggetto. Verrà ottenuto il consenso informato al trattamento dei dati personali per tutti i soggetti prima della loro registrazione nel database dello studio, in conformità con le normative nazionali e locali.

#### PIATTAFORMA O SOFTWARE PER RECLUTAMENTO

Gli studi scientifici necessitano di supporti informatici capaci di gestire e archiviare la grande quantità di dati raccolti; tutte le informazioni recuperate nelle diverse fasi operative all'interno del progetto SPES, dall'arruolamento fino all'archiviazione ultima dei risultati di analisi, dovranno essere gestite tramite l'utilizzo di un software web-based di cui si illustrano i requisiti fondamentali. Gli utenti di tale sistema sono operatori selezionati che attivano la creazione di un campione di popolazione per lo studio, ne registrano l'adesione e caricano i relativi documenti quali Consenso Informato, Questionari, Valutazione Clinica. Infine, i risultati dei campioni analizzati devono essere inseriti nel sistema. Risulta pertanto necessario strutturare un sistema che garantisca la semplicità e l'intuitività dell'interfaccia utente. Le informazioni devono essere organizzate e strutturate in maniera da garantire la massima fruibilità. Per rispettare ciò, deve essere realizzata un'interfaccia graficamente accattivante, che sia tuttavia essenziale ed intuitiva, in modo da rendere l'informazione ben organizzata e per permettere agli utenti di raggiungere i loro obiettivi in modo semplice, veloce e non ambiguo. Requisito che necessariamente deve essere rispettato è la navigabilità: la direttiva essenziale da seguire è quella di rendere ridondante l'accesso alle informazioni, ossia il prevedere strade diverse per accedere allo stesso contenuto. Deve essere possibile accedere, attraverso filtri preimpostati, a tutte le informazioni contenute nel sistema in maniera completa e veloce. Per quanto riguarda l'interfaccia hardware gli operatori degli enti coinvolti devono essere muniti di un PC. L'intero sistema sarà caricato su un server web e quindi accessibile tramite Internet. Riguardo invece l'interfaccia software il sistema deve essere sviluppato per funzionare in ambiente LAPP per garantire la massima interoperabilità e scalabilità. Il linguaggio di programmazione da adoperare è PHP interfacciato con server Apache. La gestione e la memorizzazione permanente dei dati dovrà essere effettuata utilizzando POSTGRESql munito di estensione PostGis al fine di garantire la massima interoperabilità con sistemi GIS. L'interfaccia grafica dovrà basarsi sul framework Twitter Bootstrap, al fine di ottimizzare la piattaforma web per la visualizzazione su dispositivi di diversa risoluzione. È necessario che tutti gli utenti possano accedere al sistema utilizzando un browser web, quindi, utilizzando una rete TCP/IP e comunicando mediante il protocollo HTTP per inviare dati ed effettuare le richieste al server web Apache, senza installare ulteriore software. Gli utenti destinati all'uso del sistema dovranno avere una

minima conoscenza di: navigazione di pagine web e un browser installato sul proprio dispositivo. Si consideri inoltre il vincolo sulla sicurezza degli accessi: il sistema deve consentire l'accesso ad utenti diversi grazie ad operazioni di login che permettono di individuare l'operatore che si connette al sistema e di mettere a sua disposizione le operazioni a cui è abilitato. Scendendo nel dettaglio e nella specifica dei requisiti, gli operatori potranno effettuare le seguenti operazioni:

- Autenticazione con username e password forniti dall'ente;
- Scelta della composizione dei cluster di comuni (aziende) e definizione del campione associato ad esso;
- La definizione del campione di aziende da sottoporre ad indagine;
- La selezione del campione di popolazione da sottoporre ad indagine (lavoratori selezionati a seconda della mansione svolta)
- Gestione dei contatti, o tentativi, avvenuti tra operatori e possibili arruolati
- Inserimento dei documenti relativi alla persona arruolata;
- Compilazione dei questionari e della valutazione clinica;
- Gestione del campione prelevato;
- Inserimento dei risultati di laboratorio sui campioni analizzati.
- Le interazioni tra utenti e sistema specificatamente dovranno prevedere:
- Autenticazione: L'operatore accede all'area riservata ed inserisce le sue credenziali d'accesso. Se l'utente è presente nel sistema e le credenziali sono corrette, ottiene l'accesso al pannello riservato agli operatori. Altrimenti viene visualizzato un messaggio di errore di "Accesso non consentito";
- Definizione cluster: l'operatore inserisce un cluster definendo i comuni di cui è composto e la cardinalità e le caratteristiche del campione da selezionare; il sistema deve prevedere la possibile sostituzione di uno o più persone nel caso di mancata adesione al progetto; Il sistema deve consentire la gestione dei documenti relativi alle persone arruolate quali: Consenso Informato, Documento d'Identità, Questionari scansionati e Valutazione Clinica;
- Compilazione dei questionari: L'operatore compilerà i questionari in formato digitale
- Compilazione della valutazione clinica: L'operatore compilerà la valutazione clinica in formato digitale;
- Gestione del campione prelevato: L'operatore inserirà nel sistema il campione prelevato assegnandolo alla persona arruolata tramite un IDENTIFICATIVO ANONIMO al fine di garantire il disaccoppiamento delle informazioni;
- Inserimento dei risultati di laboratorio: I risultati di laboratorio saranno inseriti utilizzando l'IDENTIFICATIVO ANONIMO al fine di garantire l'anonimato dell'arruolato.

Il sistema sarà deputato all'archiviazione e alla gestione di dati sensibili, finalizzati alla sola ricerca scientifica, motivo per cui il software dovrà essere sviluppato applicando strumenti di crittografia e policy di restrizione degli accessi alle informazioni. Tutte le interazioni con il sistema dovranno avvenire mediante canali sicuri utilizzando protocolli di sicurezza riconosciuti internazionalmente (es. https). I Server su cui sarà installato il sistema dovranno essere configurati per limitare l'accesso ai servizi disponibili e al filesystem da parte di malintenzionati. Altre livelli di sicurezza dovranno essere forniti mediante l'utilizzo di firewall di rete. Per quanto concerne i requisiti funzionali, relativamente alla sicurezza e al trattamento dei dati sensibili, sarà di fondamentale importanza assicurarsi che siano rispettate le normative che disciplinano la tutela della privacy. Il software dovrà rendere disponibili tutti i dati memorizzati per soli fini di ricerca, assicurando la protezione e la riservatezza delle informazioni secondo la vigente normativa. Gli operatori raccoglieranno tutti i dati e le informazioni osservando la normativa vigente in materia di protezione dei dati personali.

#### ANAGRAFICA

Nella fase di reclutamento dovranno essere delineate tutte le procedure utili a selezionare, contattare e reclutare i soggetti per le fasi successive dello studio. La selezione del campione dovrà essere effettuata prevedendo l'adozione di rigorosi criteri di inclusione ed esclusione, variabili a seconda della tipologia di azienda (conceria e/o lavanderia), dal tipo di produzione svolta, dal tipo di mansione che il lavoratore svolge nell'azienda presa in esame e dall'utilizzo di solventi, gas, composti chimici ed altre sostanze considerate nocive dalla normativa. Criteri volti, da un lato, a verificare la presenza/assenza di eventuali fattori confondenti in grado di inficiare l'analisi o l'interpretazione dei dati, dall'altro, ad includere nello studio la specifica fascia di popolazione oggetto di indagine.

Una volta individuate le aziende potenziali e relativi addetti, bisogna procedere con i sopralluoghi e selezionare il personale da analizzare secondo i requisiti di inclusione/esclusione che sono:

- ï Soggetti di entrambi i sessi;
- ï Anamnesi negativa HBV, HCV and HIV;
- ï Mansione svolta;
- ï Tipo di esposizione

I lavoratori selezionati dovranno compilare e sottoscrivere il modello di trattamento dei dati personali. Il tutto sarà svolto rispettando il Codice in materia di protezione dei dati e in particolare il Decreto legislativo 30 giugno 2003, n. 196; conseguenzialmente il suddetto documento conterrà tutte le disposizioni in materia di trattamento dei dati e in particolare dovrà illustrare in modo esaustivo i seguenti punti:

1. Il trattamento dei dati sarà a discrezione dello sperimentatore con modalità cartacee ed informatizzate per le finalità di ricerca medico/scientifica.

2. Il trattamento dei dati personali, sensibili, genetici e dei campioni biologici, sarà effettuato con un livello di sicurezza assai elevato.

3. I dati genetici e i campioni biologici, conformemente alle disposizioni di legge, verranno trattati con tecniche di cifratura e/o codici identificativi che permetteranno di identificare i soggetti solo in caso di necessità e verranno trattati esclusivamente all'interno di locali protetti e selezionati a favore dei soli soggetti specificamente autorizzati.

4. Tali dati non saranno diffusi e non saranno oggetto di comunicazione, salvo che la comunicazione non sia indispensabile per il perseguimento delle finalità sopra indicate.

5. Nel caso in cui il risultato delle analisi effettuate possa essere pubblicato o presentato a congressi scientifici, ciò avverrà garantendo il suo assoluto anonimato.

6. In qualunque momento il soggetto selezionato potrà, ai sensi dell'art. 7 del D.lgs. 196/2003, esercitare i diritti riconosciuti all'interessato e potrà in qualsiasi momento revocare i consensi prestati, senza che ciò comporti alcuno svantaggio o pregiudizio.

7. Il soggetto potrà interrompere in ogni momento e senza fornire alcuna giustificazione la Sua partecipazione allo studio: in tal caso, i campioni biologici correlati verranno distrutti e non saranno raccolti ulteriori dati che lo riguardano, fermo restando l'utilizzazione di quelli eventualmente già raccolti per determinare, senza alterarli, i risultati della ricerca.

Ultimo passo della seconda fase di reclutamento, riguarderà l'inserimento dei dati e del manifesto d'interesse all'interno del software. Precisamente, una volta concluso l'incontro con il soggetto selezionato, l'operatore dovrà tempestivamente provvedere all'inserimento dei dati nel software e procedere alla scansione del manifesto d'interesse firmato e di un documento d'identità valido.

## ATTIVITÀ

### CONSENSO INFORMATO

Il consenso informato è un documento essenziale per lo svolgimento delle azioni successive e dovrà pertanto contenere tutte le informazioni necessarie. Il documento dovrà essere diviso in due sezioni.

La prima dovrà trattare i seguenti punti:

1. Scopo dello studio: in questa sezione viene descritta la mission dello studio; l'informazione sarà diretta e discorsiva, in modo tale da garantire una facile comprensione per i soggetti da reclutare.

2. Le procedure dello studio: descrizione delle fasi di selezione dei soggetti, l'incontro con un medico per la scheda di anamnesi, la compilazione di alcuni test/questionari per la valutazione delle abitudini di vita e le abitudini alimentari.

3. Prelievo: descrizione delle modalità di prelievo ematico, raccolta feci ed urine, e del tipo di analisi effettuate sui campioni, volte alla determinazione dei marcatori di esposizione, di suscettibilità genetica e di effetto biologico precoce.

4. Rischi: dovrà essere spiegato ai soggetti che i rischi e i disturbi conseguenti al prelievo di sangue

sono quelli tipici di un semplice prelievo di sangue da vena e che nel caso in cui dovesse presentarsi un qualsiasi disagio o effetto collaterale, il soggetto reclutato sarà assistito nel modo più adeguato.

5. Benefici: descritti benefici per la comunità, in quanto i risultati saranno in futuro utili per la valutazione della stima del rischio ambientale in una popolazione di esposti a diversi fattori ambientali.

Nella seconda sezione invece il soggetto reclutato dovrà dichiarare di aver ricevuto tutte le informazioni necessarie sul progetto, di aver avuto tutto il tempo necessario per decidere se partecipare o meno allo studio e di acconsentire pertanto al trattamento dei dati personali per gli scopi della ricerca nei limiti e con le modalità indicate nel consenso informato e che i dati possono essere consultati da persone autorizzate e rappresentanti delle autorità sanitarie e regolatorie.

I soggetti reclutati, che hanno firmato la manifestazione di interesse preliminare per partecipare allo studio, verranno contattati per essere informati sugli incontri che dovranno tenersi nelle varie aziende. Dopo una breve introduzione sul progetto, in cui dovrà essere illustrato il disegno generale dello studio e lo scopo che si prepone, i medici competenti, dovranno sottoporre il consenso informato ai soggetti, affinché sottoscrivano la propria adesione nella piena consapevolezza dei dettagli del lavoro di ricerca a cui prendono parte. Sarà inoltre compito del medico sottoporre al paziente un questionario alimentare (EPIC) e uno sullo stile di vita. Nel primo si farà riferimento alle abitudini alimentari, ad esempio definendo con quale periodicità il soggetto si nutre di alimenti di origine animale (carne, affettati, pesce) o di derivazione (formaggi, uova, latte), vegetale (verdure crude o cotte, frutta), il tipo di condimento utilizzato e le modalità di cottura del cibo. Nel questionario sullo stile di vita sarà richiesto ad esempio la tipologia e la frequenza con cui viene praticata l'attività sportiva, le abitudini relative al fumo o al consumo di alcool, nonché un'anamnesi che tenga in conto malattie contratte durante la propria vita, aborti spontanei o volontari, oltre che informazioni sul periodo mestruale per le donne. In una fase immediatamente successiva agli incontri informativi per la firma del consenso informato e la sottomissione dei questionari sulle abitudini alimentari e lo stile di vita, si dovrà procedere con la pianificazione e l'organizzazione del calendario di appuntamenti per effettuare i prelievi. La comunicazione delle date potrà avvenire:

- durante gli incontri preliminari, rilasciando volantini o fogli promemoria;
- mediante comunicazione telefonica da parte del call center dedicato;
- mediante sms o e-mail promemoria.

Definito il calendario di appuntamenti, si dovranno ribadire le regole da seguire al fine di garantire la corretta e valida esecuzione del prelievo stesso e della successiva analisi (e.g. digiuno; norme igieniche per raccolta urine), oltre che la necessità di presentarsi agli incontri opportunamente muniti di documento identificativo e tessera sanitaria. Nella comunicazione, si dovrà ribadire inoltre che il soggetto sarà sottoposto, oltre che al prelievo, anche ad una visita medica generale e alla raccolta di informazioni relative alla propria cartella clinica, con compilazione da parte del medico o

del personale sanitario competente di una scheda di anamnesi. La scheda di anamnesi dovrà contenere domande specifiche da somministrare ai lavoratori relativamente a:

- Tipologia di attività aziendale
- Mansione svolta
- Orario e carico di lavoro
- Eventuale esposizione a sostanze chimiche
- Formazione del personale sul rischio chimico
- Comportamento del lavoratore sul luogo di lavoro.

## PRELIEVO

Il prelievo dovrà essere effettuato direttamente in azienda o in una delle ASL di competenza. I punti di prelievo dovranno necessariamente essere provvisti di:

1. un'area di accettazione;
2. un'area destinata all'effettuazione del prelievo in modo tale da salvaguardare la sicurezza degli individui arruolati e del personale e da prevenire errori nelle procedure di raccolta;
3. uno spazio per lo stoccaggio del materiale e dei dispositivi da impiegare;
4. uno spazio per il deposito temporaneo sicuro dei residui, dei materiali e dispositivi utilizzati, nonché del sangue e degli emocomponenti a qualunque titolo scartati;
5. adeguata illuminazione, ventilazione e climatizzazione;
6. adeguata alimentazione elettrica;
7. un lavabo per il lavaggio delle mani;
8. un computer collegato in rete per l'accesso alla piattaforma on line;
9. apparecchiature destinate alla conservazione del sangue e degli emocomponenti dotate di un sistema di controllo e di registrazione della temperatura, nonché di allarme acustico e visivo in caso di escursioni anomale rispetto alle temperature di esercizio definite;
10. occorrente per praticare il prelievo:
  - a) siringa vacuette (per il sistema vacutainer) corredata di ago a doppia punta; b) siringhe sterili (in alternativa) di dimensioni adeguate alla quantità di sangue che deve prelevare; c) aghi sterili (21G per gli adulti) con raccordo adattatore; d) contenitore con batuffoli di cotone; e) soluzione disinfettante; f) laccio emostatico; g) guanti in lattice; h) provette sottovuoto per il sistema Vacutainer di diverso tipo specifiche per i campioni di sangue da prelevare, dotate di codice unico identificativo ; i) portaprovette; j) contenitore per aghi usati (o oggetti taglienti); k) cestino per rifiuti biologici; l)

cerotto; m) cuscinetto; n) dispositivo per la misurazione della pressione arteriosa.

Per ciascuna seduta di prelievo sono previste le seguenti figure:

- 1 o 2 unità addette all'esecuzione del prelievo costituite da infermieri professionali o, alternativamente, biologi dotati di adeguata esperienza e abilitati all'esecuzione del prelievo;
- 1 unità rappresentata dal Coordinatore dei Campioni Biologici che supervisiona il processo di identificazione / assegnazione del codice etichetta – codice individuo, consegna dei campioni biologici;
- 1 unità rappresentata da un medico reperibile;
- 1 unità rappresentata da autista in possesso dei requisiti ai sensi della normativa vigente in materia;
- 1 unità rappresentata dal Coordinatore del Gruppo, che sovrintende alla convocazione degli individui ed è responsabile della logistica.

È importante che il prelievo venga fatto a digiuno, da almeno 8 ore, cosa che deve essere rammentata al lavoratore arruolato dal coordinatore. Nello specifico, il coordinatore dovrà:

- 1) Contattare telefonicamente l'individuo e ottenere la conferma orale.
- 2) Dare 1 giorno per una conferma scritta (via sms o via e-mail).
- 3) Ricontattare l'individuo nel caso in cui la conferma attraverso un mezzo tracciabile non sia avvenuta.
- 4) Al momento del prelievo, l'individuo arruolato fornirà al Coordinatore del Gruppo e al Coordinatore dei campioni biologici il codice identificativo unico che gli/le sarà stato preventivamente fornito durante il primo incontro. In caso in cui il lavoratore non posseda il codice identificativo unico (che peraltro gli sarà stato anche inviato tramite e-mail /sms), allora questo può essere recuperato sulla base della carta di identità.

### **Prelievo e visita medica**

Il Coordinatore dei campioni biologici dovrà accogliere il lavoratore e selezionare un KIT da associare. Dopo che il coordinatore dei campioni biologici avrà accoppiato sulla piattaforma online il codice del lavoratore al codice del KIT, consegna il KIT al prelevatore. Prima di eseguire il prelievo, il prelevatore deve sempre accertarsi che siano rispettate le indicazioni sul digiuno da 8 ore. Per il prelievo, il prelevatore dovrà utilizzare il gel disinfettante e usare i guanti. Solo nel caso sia difficoltoso il reperimento di un accesso venoso accettabile, si possono togliere temporaneamente i guanti per aumentare la sensibilità della palpazione. Il prelevatore dovrà riempire tutte le provette di cui è composto il kit. La visita medica generale verrà effettuata in un ambiente idoneo in presenza di almeno due operatori sanitari, dotato di scrivania, lettino, bilancia, pulsossimetro, computer con accesso ad internet per la trascrizione seduta stante dei dati raccolti. Il coordinatore del gruppo dovrà accertarsi il realizzarsi di queste condizioni.

## Referti

La ricezione dei risultati analitici passerà in alcuni casi attraverso la comunicazione diretta tra i sistemi informatici dei laboratori deputati alle analisi con la piattaforma [openspes.campaniatrasparente.it](http://openspes.campaniatrasparente.it), o in altri casi mediante invio di un report di esiti in formato .csv ad indirizzo di posta elettronica certificata ed autorizzata dal Principal Investigator. Il caricamento degli esiti analitici sulla piattaforma di gestione dati permetterà la generazione di un rapporto di prova per ciascun individuo per le indagini biochimico-cliniche e virologiche. Il referto così generato sarà inviato tramite posta ordinaria a ciascun soggetto arruolato nello studio sottoposto a prelievo. Gli operatori dedicati contatteranno telefonicamente, tutti i lavoratori reclutati, col fine di avere la certezza che le missive arrivino a destinazione, dando priorità ai soggetti il cui referto era stato rispedito al mittente.

Nel caso in cui si riscontreranno situazioni di particolare alert ed urgenza nell'esecuzione della sezione di biochimica-clinica (e.g. valori di emoglobina troppo bassi; valori elevati di globuli bianchi), si provvederà con un trasferimento di informazioni celere e diretto, da parte dei Responsabili del Laboratorio esecutore, all'attenzione del Principal Investigator dello studio, il quale provvederà a comunicare la nota al soggetto interessato. Differente la procedura per i soggetti che risulteranno positivi alla sezione del virologico o ad altri parametri biochimico-clinici che non richiedono intervento imminente: saranno convocati presso la sede dell' INT IRCCS Fondazione "G.Pascale", alla presenza del Principal Investigator. Alla Convocazione verrà eseguita la consegna del referto analitico in cui si evince lo stato di rischio per esito di positività alle indagini virologiche o non conformità biochimica-clinica. Al Principal Investigator il compito di illustrare i significati del risultato, provvedere ad aiutare il soggetto a fronteggiare i problemi emotivi emergenti, e a prospettare le possibilità di supporto, incluso quello psicologico, fornendo indicazioni su come evitare eventuali rischi di trasmissione ad altre persone. Il soggetto sarà invitato a mettersi in contatto con centri specializzati per l'esecuzione dell'esame di appropriati e ulteriori interventi diagnostici e terapeutici, che valuteranno la necessità di interventi clinici urgenti e comunque avviando l'interessato alle Unità di cura e assistenza secondo protocolli predefiniti. Per i soggetti il cui esito analitico sarà borderline è stata prevista l'invio di una missiva tramite raccomandata in cui si consiglia di eseguire approfondimenti diagnostici, contattando il Principal Investigator per chiarimenti o incontro dedicato.

## METODI STATISTICI

Per ciascuno dei quattro gruppi caso-controllo, la numerosità campionaria è di 400 individui (200 casi per ciascuna delle patologie considerate e 200 controlli per ciascuna delle patologie considerate), per un totale di 1600 individui arruolati. Il campione arruolato per ciascuno studio permetterebbe di osservare un effetto minimo corrispondente ad un odds ratio di 1.94, una frequenza di controlli esposti del 50%, un rischio alfa del 5%, una potenza del 90% e un rapporto tra casi e controlli di 1. La mancata partecipazione dei soggetti individuati per la selezione, sia essa dovuta a rifiuto esplicito o a irreperibilità, rappresenta un problema nelle indagini statistiche in quanto può condurre a campioni nei

quali i segmenti di popolazione meno disposti a collaborare (o meno raggiungibili) possono essere sottorappresentati, producendo stime distorte (selection bias). Poiché nella stima si utilizzano solo le informazioni di coloro che hanno partecipato alla rilevazione, la distorsione cresce all'aumentare della mancata risposta e del divario tra il valore medio della variabile oggetto di studio per i rispondenti e per i non rispondenti. Per limitare gli effetti della mancata partecipazione verranno adottate varie misure. In primo luogo, gli individui che non sarà possibile intervistare saranno sostituiti con altri estratti con criteri casuali negli stessi comuni. Ciò consente di tenere sotto controllo una potenziale fonte di distorsione, cioè quella che origina dalla relazione tra territorio e caratteristiche dell'individuo. In secondo luogo, al termine della rilevazione, verrà effettuata una stratificazione a posteriori sulla base di alcune caratteristiche individuali dei soggetti intervistati, che consentirà di riequilibrare, all'interno del campione, il peso dei diversi segmenti della popolazione. Essa verrà eseguita imponendo al campione finale, tramite tecniche di raking, l'allineamento alle caratteristiche della popolazione per quanto riguarda il sesso, la classe di età ed il cluster (basso, medio o alto impatto). È tuttavia possibile che permarranno elementi di distorsione, cioè che a parità di quelle caratteristiche che sono tenute sotto controllo si continuano a selezionare con minore probabilità gruppi particolari di individui (ad esempio più o meno in salute). Questo aspetto non è facilmente valutabile poiché le informazioni relative ai non rispondenti non sono disponibili nell'indagine. Il metodo di correzione si baserà necessariamente su una serie di ipotesi semplificatrici. In primo luogo, l'ipotesi sarà che il meccanismo di mancata risposta sarà funzione delle sole caratteristiche osservabili (missing at random). In secondo luogo, l'ipotesi sarà che la mancata risposta e gli errori di misurazione saranno fenomeni indipendenti. Di conseguenza, l'aggiustamento sarà realizzato al momento in modo indipendente dagli altri aggiustamenti. Le caratteristiche sociodemografiche delle due popolazioni in esame saranno sintetizzate attraverso l'uso di statistiche descrittive. L'associazione tra variabili di interesse e la probabilità di patologia verrà esplorata utilizzando regressioni logistiche. Nello specifico l'uso di regressioni logistiche condizionate o non-condizionate dipenderà dalla presenza o meno di dati sparsi. Per meglio comprendere l'effetto sull'associazione dei fattori confondenti ogni regressione logistica sarà inizialmente univariata, per poi progressivamente aggiustare il modello per i fattori confondenti presi in esame.

## GEMMA

Progetto di ricerca scientifica innovativa per la valutazione delle interazioni tra microbioma, metaboloma, epigenoma e risposta immunitaria al fine di fornire nuovi approcci diagnostici e terapeutici, sia personalizzati che preventivi, per l'autismo

- Responsabile della Ricerca: Prof. Alessio Fasano Presidente della Fondazione Ebris Via S. De Renzi 84125 Salerno
- DPO Centro di Sperimentazione: Dr. Giulio Corrivetti Direttore Dipartimento di Salute Mentale presso ASL di Salerno via Martin Luther King tel. 089/3076327
- DPO Centro del centro promotore: Dr. Corrado Vecchi IT Data Manager Fondazione Ebris Salerno

### Titolare e Responsabile della Protezione dei dati

Il Centro di Sperimentazione (ASL Salerno) e il Promotore dello studio (EBRIS), inclusi partner di ricerca, designati e rappresentanti che collaborano allo Studio, in qualità di Titolari del Trattamento, ciascuno per gli ambiti di propria competenza e in accordo alle responsabilità previste dalle norme di Buona Pratica Clinica (D.L. 211/2003), dal Regolamento UE 2016/679 del Parlamento e del Consiglio Europeo relativo alla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali, nonché alla libera circolazione di tali dati (di seguito GDPR), dall'Autorizzazione generale n.9/2016 al trattamento dei dati personali effettuato a scopi di ricerca scientifica del 15 dicembre 2016, dall'Autorizzazione generale n.8/2016 al trattamento dei dati genetici del 15 dicembre 2016 e dalla Delibera del Garante per le "Linee guida per i trattamenti di dati personali nell'ambito delle sperimentazioni cliniche di medicinali" del 24 luglio 2008 e successive modifiche, tratteranno i suoi dati personali, soltanto nella misura in cui sono indispensabili in relazione all'obiettivo dello Studio e per le finalità di seguito indicate.

La nostra ricerca prevede la partecipazione gratuita allo studio inoltre:

- Riflette l'integrità e la dignità delle persone
- Persegue il principio di "Non nuocere".
- Riconosce i diritti delle persone alla privacy, alla protezione dei dati personali e alla completa libertà di modifica di qualsiasi trattamento in corso e in qualsiasi momento
- Prevede il Continuo coinvolgimento e dialogo con i referenti della ricerca
- Rispetta il principio di proporzionalità ossia quello di non esporre i dati personali di ricerca più del necessario e comunque non oltrepassando gli obiettivi dichiarati
- Tratta le vostre preoccupazioni seriamente coinvolgendo le famiglie in un dialogo costruttivo e trasparente

- Garantisce il controllo su eventuale uso improprio dei dati personali
- Tratta tutti in modo egualitario senza alcuna forma di pregiudizio
- Rispetta la biodiversità fornendo garanzia di non incorrere in cambiamenti irreversibili che minacciano l'ambiente o l'equilibrio ecologico
- Persegue il miglioramento del benessere collettivo, abbandonando ogni pratica che solo desti preoccupazione o minaccia alla salute.

La informiamo che i Titolari, ai sensi dell'articolo 37 del GDPR EU 2016/679, hanno proceduto ad individuare e nominare il Responsabile della Protezione dei dati (anche "Data Protection Officer" o "DPO"):

Il DPO del Centro di Sperimentazione è contattabile ai seguenti recapiti:

Dr. Giulio Corrivetti  
Email: g.corrivetti@aslsalerno.it

Il DPO del Promotore è contattabile ai seguenti recapiti:

Dr. Corrado Vecchi  
Email: c.vecchi@ebris.eu

Categorie di dati oggetto del trattamento

Il presente trattamento avrà ad oggetto i Suoi dati personali e quelli del Suo bambino/a, di seguito meglio specificati:

1. Dati identificativi: codice identificativo, età, sesso, etnia, scolarità, stato civile, impiego, abitudini alimentari, condizioni abitative, modalità di parto.
2. Dati particolari ex art. 9 GDPR: dati antropometrici, pressione arteriosa, frequenza cardiaca, storia clinica, terapia farmacologica, indagini genetiche

Finalità del trattamento

I dati sopra descritti verranno trattati per le seguenti finalità:

- consentire lo svolgimento della ricerca e di tutte le relative operazioni ed attività connesse, in particolare la ricerca sarà incentrata su 3 obiettivi:

- ✓ individuare biomarkers multi-omici predittivi dei disturbi dello spettro autistico (DSA) in neonati a rischio, ivi compresa l'alterazione della permeabilità intestinale (mediante rilevamento dei livelli di zonulina), anomalie della risposta immunitaria (mediante livelli di

- IgA e IgG) e la presenza di una maggiore infiammazione cronica di basso grado (mediante citochine pro-infiammatorie seriche);
- ✓ confrontare i fattori/variabili quali: Composizione del microbioma/metagenoma-metatranscriptoma, Composizione del metaboloma, Funzione della barriera intestinale, Risposta immunitaria, Neuro infiammazione fra i bambini che sviluppano il DSA con o senza sintomi gastrointestinali con neonati a rischio d'età, sesso e sintomi gastrointestinali equivalenti che non hanno sviluppato il DSA:
  - ✓ confrontare fattori/variabili sopra riportati in neonati a rischio che sviluppano il DSA con o senza sintomi GI prima e dopo l'insorgenza della patologia:

#### Base giuridica del trattamento

Il consenso informato costituisce la base giuridica per il trattamento dei Suoi dati e quelli del Suo bambino per gli scopi descritti nella scheda informativa. In assenza di consenso firmato non potremo utilizzare tali dati per la conduzione e le analisi dello Studio.

Potrà interrompere la Sua partecipazione in qualsiasi momento e senza fornire alcuna motivazione; in tal caso, i Suoi dati verranno trattati come descritto nella scheda informativa dello Studio. Non saranno inoltre raccolti ulteriori dati che La riguardano, ferma restando l'utilizzazione di quelli eventualmente già raccolti per determinare, senza alterarli, i risultati della ricerca.

#### Natura del conferimento dei dati

La partecipazione alla sperimentazione avviene su base volontaria, pertanto, il conferimento dei dati personali è assolutamente volontario, nel senso che Lei può decidere di non conferire i Suoi dati personali e, quindi, di non partecipare allo Studio.

#### Modalità di Trattamento dei dati

Le finalità sopra indicate prevedono lo svolgimento del trattamento dei dati personali mediante strumenti manuali ed informatici con logiche strettamente correlate alle finalità stesse e, comunque, in modo da garantire la sicurezza e la riservatezza dei dati stessi. I dati raccolti per i fini dello Studio verranno gestiti in forma codificata.

Il medico che La seguirà nello Studio, identificherà il Suo bambino con un codice che non permetterà di risalire direttamente alla Sua identità, se non presso il Centro Partecipante. I ricercatori che studieranno i campioni avranno a disposizione campioni e dati contraddistinti unicamente dal codice segreto che impedisce loro qualsiasi possibilità di associare i dati delle indagini scientifiche con la Sua identità.

I dati che riguardano il Suo bambino, raccolti nel corso dello Studio, ad eccezione del Suo nominativo, saranno trasmessi al Promotore e dallo Stesso registrati, elaborati e conservati.

Soltanto il medico, il personale responsabile del monitoraggio dello Studio (Prof. Alessio Fasano) e il personale delegato dalle Autorità Competenti per attività di verifica, potranno collegare questo codice al Suo nominativo quando necessario.

#### Ambito di comunicazione dei dati

La Sua partecipazione allo Studio implica che, in conformità alla normativa sulle sperimentazioni cliniche dei medicinali, il personale del Promotore, il Comitato etico e le autorità sanitarie italiane e straniere potranno conoscere i dati che La riguardano, contenuti anche nella Sua documentazione clinica originale, con modalità tali da garantire la riservatezza della Sua identità. La diffusione dei dati scientifici risultanti dalle analisi dei dati dello Studio, potrà avvenire solo in forma anonima e per sole finalità scientifiche. In pratica, i risultati delle ricerche scientifiche potranno essere presentati in forma aggregata nell'ambito di Convegni o pubblicati su riviste specializzate senza mai permettere la precisa identificazione dei pazienti.

#### Trasferimento dei dati ad un Paese terzo

Nel caso di esportazione di dati verso un Paese terzo privo di una legislazione adeguata, il promotore si impegna ad adottare tutte le misure di sicurezza appropriate per salvaguardare i Suoi diritti in materia di riservatezza dei dati.

#### Politica in materia di conservazione dei dati personali

I dati personali raccolti nell'ambito di questo Studio verranno conservati presso il Centro sperimentale, il Promotore e le strutture coinvolte nello Studio, per un periodo minimo di 7 anni dopo la conclusione dello Studio o per un periodo più lungo, se necessario, in base ad ulteriori requisiti di legge.

#### Diritti dell'Interessato

##### Diritto di accesso ai dati

Può chiedere di consultare le informazioni che sono state raccolte su di Lei e sul Suo bambino. Tuttavia, per salvaguardare l'integrità scientifica dello Studio, potrebbe non essere possibile accedere ad alcuni dati prima della conclusione dello Studio stesso.

##### Diritto di rettifica ai dati

Può richiedere la modifica dei dati che La riguardano, qualora fossero errati o incompleti. Durante la valutazione di tale richiesta, ha il diritto di limitare il trattamento dei dati che La riguardano.

##### Diritto di portabilità dei dati

Può richiedere il trasferimento dei dati che La riguardano a Lei stesso o a qualcun altro in un formato comunemente utilizzato (cartaceo o elettronico).

#### Diritto di cancellazione dei dati

Può ritirare il consenso in qualsiasi momento senza darne motivazione alcuna. Può ritirare il consenso per il trattamento dello Studio e/o il follow up successivo, anche senza ritirare il consenso per il trattamento dei dati. Qualora cambiasse idea sul trattamento dei Suoi dati, non sarà possibile rimuovere le informazioni personali già elaborate per lo Studio prima del Suo ritiro (coperte dal consenso originale). In seguito al ritiro del consenso al trattamento dei Suoi dati, non verrebbero acquisite ulteriori informazioni che La riguardano.

#### Diritto di reclamo

Può presentare un reclamo presso l'autorità incaricata della protezione dei dati:

Garante della privacy: e-mail: [garante@garanteprivacy.it](mailto:garante@garanteprivacy.it) Sito web: <http://www.garanteprivacy.it/>

In merito all'esercizio di tali diritti, potrà rivolgersi direttamente al Centro di sperimentazione (Prof. Alessio Fasano, responsabile Scientifico dello studio GEMMA presso la Fondazione EBRIS – Salerno tel. E Fax 089-233463) o, per il suo tramite, al Responsabile della protezione dei dati del Promotore (Dr. Corrado Vecchi).