

La presenza di microcontaminanti organici persistenti in organismi del Mar Mediterraneo e il rischio correlato

Alessandro DI DOMENICO e Roberto MINIERO

*Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto. - I microcontaminanti organici persistenti sono stati oggetto di una convenzione mondiale che dovrebbe determinare la loro riduzione o eliminazione dalle emissioni di origine antropogenica. La loro presenza e i livelli riscontrati, però, negli organismi marini del Mar Mediterraneo possono destare attualmente qualche preoccupazione. La valutazione di rischio preliminare presentata per i contaminanti ad azione diossina-simile, infatti, evidenzia apparentemente alcune situazioni di attenzione per gli organismi che appartengono ai livelli più elevati della rete alimentare. Ad esempio, nelle uova di una specie di squalo i livelli di PCB ad azione diossina-equivalente risultano di un ordine di grandezza superiore alla soglia per effetti embriotossici rilevati in laboratorio su una specie di pesce. I mammiferi marini, in aggiunta, sembrano particolarmente sensibili ai livelli di POP presenti nei loro tessuti. La loro sensibilità a agenti patogeni sembra aumentata negli organismi che mostrano i livelli più elevati di questi microcontaminanti.

Parole chiave: microcontaminanti organici persistenti, Mar Mediterraneo, Convenzione di Stoccolma, valutazione di rischio.

Summary (*Persistent organic micropollutants in Mediterranean organisms and risk associated*). - Persistent organic pollutants are object of a global treaty between governments, including measures to reduce or eliminate their release in the environment. Their presence and levels found in some organisms of the Mediterranean Sea appear to give some concern. The preliminary risk assessment presented here, in fact, for dioxin-like action chemicals, shows a potential hazard for species belonging to higher levels of the food web. For example, in the eggs of a Mediterranean shark species, dioxin-like action PCBs concentration levels are one magnitude order higher than the No Observed Effect Level, evaluated on eggs of a laboratory fish species. Marine mammals, in addition, appear particularly sensitive to tissue levels of POPs. Their sensitivity to specific pathogenic organisms appears increased in specimen showing higher levels of these microcontaminants.

Key words: persistent organic micropollutants, Mediterranean Sea, Stockholm Convention, risk assessment.

Introduzione

Numerosi fattori predispongono il Mar Mediterraneo al rischio chimico per gli organismi in esso presenti. E' un mare tendenzialmente chiuso, con un bacino molto profondo e con un ridotto ricambio di acqua di mare proveniente essenzialmente dall'Oceano Atlantico e, in misura molto minore, dal Mar Nero. Un ridotto regime tidale, inoltre, rallenta la degradazione e la diffusione dei contaminanti flottanti o adesi al particolato. Questi fattori contribuiscono in maniera significativa ad aumentare i tempi di residenza dei contaminanti chimici e a favorirne l'accumulo.

I microcontaminanti organici persistenti, oggetto di questa rassegna, sono un gruppo molto eterogeneo di inquinanti comprendenti insetticidi clorurati (per

esempio, DDT, p,p'-diclorodifeniltricloroetano; DDE, p,p'-diclorodifenildicloroetilene; HCB, esaclorobenzene), fenoli clorurati (per esempio, PCP, pentaclorofenolo), policlorobifenili (PCB), policloronaftaleni (PCN), polibromodifenili (PBB), polibromodifenileteri (PBDE), policloro-p-dibenzodiossine (PCDD), policlorodibenzofurani (PCDF). La loro presenza in matrici ambientali è dovuta al loro uso da parte dell'uomo (pesticidi clorurati, PCN, PBB, PBDE) o alla loro produzione involontaria, come risultato di processi industriali di sintesi chimica, processi di combustione (PCDD, PCDF), ecc. Su un sottogruppo di questi contaminanti (quelli più diffusi e tossicologicamente più rilevanti) sono state stipulate una serie di convenzioni intergovernative, concluse con la Convenzione di Stoccolma (22 maggio 2001) - un trattato

globale per proteggere la salute umana e l'ambiente dai microcontaminanti organici persistenti, adottato da parte dei singoli stati, finalizzato a intraprendere misure per eliminare o ridurre a livelli non pericolosi le emissioni di queste sostanze chimiche nell'ambiente [1].

Questi contaminanti, infatti, possiedono caratteristiche chimico-fisiche tali che consentono loro di rimanere nell'ambiente per lunghi periodi di tempo, di essere distribuiti ampiamente dal punto di vista geografico, di accumularsi nella componente lipidica degli organismi viventi e di risultare tossici per l'uomo e per la fauna selvatica.

In questa rassegna, sono stati presi in considerazione i livelli di alcuni POP in organismi del Mare Mediterraneo, con particolare riferimento alle coste italiane. Inoltre, per il gruppo di xenobiotici ad azione tossicologica diossina-equivalente (policlorobifenili coplanari, policlorodibenzodiossine, policlorodibenzofurani), è stata prodotta una valutazione di rischio preliminare.

Contaminazione del biota

Dai primi anni '90, numerose ricerche dell'Istituto Superiore di Sanità si sono concentrate sulla laguna di Venezia. Nel passato, questi lavori hanno ricevuto un supporto economico addizionale da parte del Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica, dalla Procura di Venezia, dal Ministero della Sanità, dal Ministero dell'Ambiente e dalla Regione Veneto.

Nell'ambito di queste indagini si è adottata una suddivisione della laguna veneta in aree virtuali di rischio in base all'impatto antropico presunto. In particolare, il biota è stato raccolto con il proposito di formulare degli scenari d'esposizione per la popolazione residente, per questi contaminanti che si trasferiscono prevalentemente attraverso la catena alimentare.

A titolo esplicativo, si deve specificare che, per quanto riguarda i livelli di composti chimici ad azione diossina-equivalente, in questa rassegna, i valori vengono presentati come "quantità di unità di concentrazione (TE) di sostanze chimiche ad azione tossica diossina-equivalente" (TEQ). Infatti, pur essendo composti chimici diversi, la loro azione tossica, nei vertebrati, almeno per quanto concerne mammiferi, uccelli e pesci, sembra essere prodotta attraverso un comune meccanismo d'azione comprendente una risposta mediata da un recettore [2]. Questo comune meccanismo d'azione ha spinto a formulare il concetto dei "fattori di equivalenza di tossicità" (TEF) al fine di facilitare la valutazione di rischio per l'esposizione a queste miscele. Infatti, una delle peculiarità di questi contaminanti è quella che si presentano sempre in miscele che, quantificate nei tessuti biologici, risultano diverse da quelle più probabili a cui gli organismi sono potenzialmente esposti. I valori TEF per i congeneri

individuali moltiplicati per le loro concentrazioni nella matrice di interesse vengono usati per calcolare la concentrazione equivalente di 2,3,7,8-T4CDD, con i contributi pesati di tutti i componenti delle miscele d'esposizione. Attualmente, esistono numerose scale che definiscono i TEF per i singoli congeneri ma, al momento, due sono quelle più usate: la scala nota come "internazionale" (I-TEF) [3] e la scala nota come WHO [4]. Quest'ultima include anche i TEF per i PCB ad azione diossina-equivalente e prende in considerazione anche dei TEF "ecologici" provvisori. Questi ultimi sono stati sviluppati per uccelli e pesci, oltre che per i mammiferi, sebbene per i primi due gruppi non siano disponibili database tossicologici ampi. In questa rassegna si è ritenuto opportuno presentare i dati senza specificare la scala tossicologica da cui questi sono stati generati in virtù del suo carattere generale. Inoltre, tra le diverse scale, la differenza fra le somme dei contributi dei singoli prodotti, derivanti dalla moltiplicazione dei singoli congeneri per i rispettivi TEF, apparentemente non risulta rilevante.

In molti casi, il biota stanziale costituito da molluschi bivalvi come vongole (*Tapes* sp.) e mitili (*Mytilus galloprovincialis*) è stato raccolto in siti di campionamento in cui sono stati prelevati anche reperti di sedimento. Sia per il biota che per i sedimenti, è stato rilevato un andamento crescente di contaminazione per PCDD, PCDF, IPA, HCB e metalli pesanti con l'aumento dell'impatto di origine antropica, muovendosi cioè da siti campionati nel bacino meridionale e settentrionale verso Porto Marghera e la Città di Venezia, nel bacino centrale. Nei mitili, in particolare è stato riscontrato un range di valori che va da 0,68 (bacino meridionale) a 4,9 (Porto Marghera) pgTE/g base fresca (b.f.), mentre nelle vongole un range che va da 0,079 a 2,7 pgTE/g (b.f.) [5]. Questo incremento di concentrazioni di PCDD e PCDF, sia analitiche sia TE, nel biota a contatto con il sedimento lagunare (*Tapes* sp.), appare correlato con i livelli misurati nei sedimenti [6].

I valori riscontrati negli esemplari campionati nel bacino lagunare meridionale non sembrano significativamente differenti da quelli trovati in esemplari di *Mytilus galloprovincialis* raccolti in allevamenti marini situati lungo la costa adriatica (0,11-0,24 pgTE/g b.f.). Naturalmente, questi molluschi, campionati in aree idonee all'allevamento dei bivalvi, non sembravano essere esposti direttamente a un impatto chimico di origine antropica. Queste analisi sono state effettuate nell'ambito di un'altra ricerca dell'Istituto Superiore di Sanità, il Progetto PRISMA, attuato nel 1997-1998, in cui sono state prese in considerazione 12 specie edibili con l'obiettivo di stimare l'entità della contaminazione da PCDD, PCDF, PCB, DDT e DDE in prodotti della pesca, campionati da diverse aree del Mare Adriatico. Le specie marine selezionate avevano

un elevato valore commerciale e sono state ottenute in 19 porti di pesca, rispettivamente, dell'Adriatico settentrionale, centrale e meridionale. In generale, in questi campioni si è potuto osservare che la contaminazione da PCDD+PCDF appare piuttosto bassa. I risultati, comunque, evidenziano concentrazioni più elevate in quelle specie situate ai livelli più alti delle reti alimentari (sgombrò, 0,59-1 > triglia, 0,36-0,56 > acciuga, 0,23-0,47, tutti in pgTE/g b.f.). Con alcune eccezioni, il contributo dei furani appare sempre superiore a quello delle diossine e, in aggiunta, i valori cumulativi TE risultano maggiori in specie campionate nei porti dell'Adriatico settentrionale che non in quelle raccolte nei porti dell'Adriatico centrale e meridionale. La contaminazione da PCB ha rivelato una differenza più marcata tra le tre aree, con gli organismi dei porti settentrionali più contaminati, di quelli centrali e meridionali (10-180 > 5,5-160 > 3,7-94, in ng/g b.f.). In entrambi i casi, come atteso, la contaminazione sembra cambiare in accordo al livello trofico di appartenenza, con lo sgombrò risultante la specie più contaminata. Tuttavia, il grasso sembra giocare un ruolo importante nella definizione delle differenze osservate [7].

In generale, i grandi predatori risultano particolarmente interessanti per la loro posizione trofica e perché, dal punto di vista ecologico, possiedono un ruolo unico nelle reti alimentari. Nel grasso delle specie di squali *Prionace glauca* e *Rapias vulpinus*, i non-orto PCB variano tra 2,7 a 240 pgTE/g b.f., mentre nel muscolo del tonno *Thunnus thynnus* sono stati riscontrati livelli oscillanti tra 17 e 200 pgTE/g b.f. [8]. Nei muscoli di altre due specie di squali, *Centrophorus granulosus* e *Squalus bainvillei*, le concentrazioni TEQ appaiono situate intorno ai livelli più bassi dei valori precedentemente indicati, mentre fegato e uova sembrano contenere livelli decisamente più elevati (rispettivamente, 200 e 100 pgTE/g b.f. per *Centrophorus granulosus*, e 170 e 45 pgTE/g b.f. per *Squalus bainvillei*) [9].

Nel grasso dei delfini *Tursiops truncatus* e *Grampus griseus* sono state riscontrate concentrazioni di TCDD equivalenti rispettivamente di 19 e 21 ng/g b.f. [8, 10]. Queste concentrazioni sono state riportate per la riserva sottocutanea di grasso di individui morti, ritrovati spiaggiati, che contiene approssimativamente il 35-45% di lipidi. Queste stime di carico corporeo possono essere influenzate da molti fattori come la mobilizzazione dei lipidi che avviene durante la fase in cui gli organismi non si nutrono perché spiaggiati o sofferenti; questi fattori sono in grado di indurre un cambiamento nelle concentrazioni all'equilibrio tra i vari tessuti. In aggiunta, alle concentrazioni più elevate osservate, il sequestro epatico di questi composti potrebbe influenzare le stime di carico corporeo [4].

Per quanto riguarda i composti ad azione non diossina-simile alcune indagini sui mammiferi marini

hanno riportato che in esemplari di *Stenella coeruleoalba* e di *Balaenoptera physalus* gli omologhi a sei e sette gradi di clorosostituzione sembrano prevalere sugli altri PCB presenti nella miscela, con i PCB 138, 153, e 180 presenti in quantità maggiore [10, 11].

La stessa prevalenza di congeneri è stata osservata in pesci del piano infralitorale e del piano batiale mediterranei, così come nei grandi predatori pelagici, come tonni e squali, nei quali la concentrazione relativa di PCB 153 raggiunge, rispettivamente, 160 e 330 ng/g b.f. [7, 8, 12].

Valutazione di rischio

La procedura di valutazione di rischio preliminare comprende la comparazione della concentrazione riscontrata in un tessuto target con una "dose di riferimento" (RfD), consistente in una stima di esposizione giornaliera, che durante un intero ciclo di vita risulta probabilmente senza effetti avversi. In pratica, la RfD viene stimata dividendo un endpoint adeguato come un NOAEC (NOAEL) o un LOAEC (LOAEL), derivato da esperimenti di laboratorio su modelli animali, per un "fattore di incertezza". Questo fattore tiene conto della variabilità specie-specifica di risposta, della sensibilità dell'endpoint, della stima di tossicità considerata, e delle estrapolazioni tra differenti modalità d'esposizione.

Il "quoziente di rischio" (HQ) corrisponde al rapporto tra la concentrazione nel tessuto divisa per l'RfD e si esprime come "unità tossiche" (TU). Questo tipo di approccio è accettabile solo per una valutazione di rischio preliminare; non considera, infatti, la variazione che potrebbe esistere in termini di esposizioni reali e suscettibilità, che dovrebbe pure essere valutata. Un HQ maggiore di 1 indica che la concentrazione misurata eguaglia le concentrazioni-soglia in grado di evocare una risposta avversa statisticamente significativa [13].

Per i contaminanti ad azione tossicologica diossina-simile, la migliore stima di concentrazione per comparare il rischio tra specie diverse è la concentrazione libera nel tessuto target dei composti di interesse, o carico corporeo [4]. Il carico corporeo, infatti, sembra integrare le emivite differenziali tra le specie.

Nei mammiferi gli endpoint più sensibili nel caso dei composti ad azione diossina-simile sono, sulla base della misura del carico corporeo: endometriosi, effetti neurotossici durante lo sviluppo, effetti immunotossici sia nei confronti dell'adulto sia nei confronti dell'organismo giovane. In particolare, la dose più bassa che dà origine a un effetto statisticamente significativo in seguito ad una esposizione è 28 ngTE/kg peso corporeo (b.f.) [4] (esiste un LOAEL più basso di un ordine di grandezza, ottenuto per effetti osservati sul

sistema immunitario, che non è stato preso in considerazione perché, recentemente, è stato criticato dal punto di vista metodologico). Nelle riserve di grasso sottocutaneo di *Tursiops truncatus* e *Grampus griseus* sono state riscontrate concentrazioni, rispettivamente, di 19 e 21 ngPCB-TE/g peso corporeo (b.f.) [8]. Il meccanismo di ripartizione tra un tessuto a forte componente lipidica e un altro a componente lipidica inferiore, per contaminanti lipofili come quelli di cui si tratta, implica che nei secondi ci siano concentrazioni più basse. In questi ultimi però, si collocano i tessuti target per l'azione tossicologica degli xenobiotici di interesse. Nei mammiferi acquatici, in particolare, è stato osservato che le concentrazioni date per la riserva sottocutanea di grasso sono approssimativamente due ordini di grandezza superiori a quelle riscontrabili nel cervello [14, 15]. Applicando un fattore 10 al LOAEL indicato in precedenza [4], per la compensazione della variabilità specie-specifica nelle risposte, è possibile riportare come RfD la concentrazione soglia in un tessuto che causa un effetto avverso definito. Per i mammiferi, tale concentrazione è 2,8 pg/g di 2,3,7,8-T4CDD b.f., basata sul carico corporeo materno. L'effetto avverso considerato, in questo caso, è sul sistema riproduttivo. Questa concentrazione, espressa in TEQ b.f., è più di un ordine di grandezza inferiore della concentrazione trovata nel grasso sottocutaneo dei due organismi considerati.

Nei pesci, applicando la stessa procedura ad un LOAEL di 40 pg/g b.f. di 2,3,7,8-T4CDD, riscontrato nelle uova di *Salvelinus fontinalis* [16], sulla base del carico corporeo, si ottiene come RfD la concentrazione di 4 pg/g. Questo livello, espresso in TEQ, risulta più di un ordine di grandezza inferiore alle concentrazioni trovate nelle uova dei due squali.

Biomarker

Le ricerche effettuate negli ultimi anni hanno evidenziato una successione di legami tra la presenza di contaminanti ad azione tossicologica diossina-simile negli organismi e i loro effetti tossici. Tali effetti possono essere considerati, d'altra parte, come segnali d'avvertimento specifici: laddove essi si manifestano si può sospettare che siano presenti i contaminanti d'interesse senza la necessità di effettuare analisi chimiche specifiche. Tali eventi, quando risultano misurabili negli organismi, vengono riportati come biomarker. In particolare, la presenza di sostanze chimiche ad azione diossina-equivalente viene rilevata mediante un'attività enzimatica: l'attività EROD (7-ethoxyresorufin-o-deethylase activity). Anche se esistono altri biomarker altrettanto specifici, questo è un saggio estremamente sensibile. L'utilizzo di queste tecniche sarebbe fortemente raccomandabile per legare

la presenza di questi xenobiotici all'effetto e ottenere così un rilevamento omnicomprensivo. Molti di questi biomarker, però, teoricamente utilizzabili per il monitoraggio ambientale, dovrebbero essere accuratamente validati rispetto alle varie matrici biologiche con cui possono essere utilizzati.

Conclusioni

Basandosi su questa limitata raccolta di dati, appare evidente che a tutt'oggi, nell'ambito dei POP, si può tentare di produrre una valutazione di rischio preliminare solo per quel gruppo di contaminanti ad azione diossina-equivalente. Nonostante questa forte limitazione che si aggiunge al ridotto numero di stime di tossicità per pesci e uccelli presenti in letteratura, appare comunque evidente che per alcuni organismi è, in qualche misura, ipotizzabile un certo grado di pericolo. Ad ogni modo, le indagini dovrebbero prendere in considerazione più analiti e approfondire le relazioni esistenti tra livelli presenti negli organismi e risposte degli stessi. In particolare, una delle strade da percorrere potrebbe essere quella di utilizzare biomarker specifici e sensibili e validarli per il loro uso sul campo.

Lavoro presentato su invito.
Accettato il 22 ottobre 2002.

BIBLIOGRAFIA

1. UNEP-United Nations Environmental Programme; 2001. *Stockholm convention on persistent organic pollutants (PoPs)*. www.chem.unep.ch.
2. Giesy JP, Ludwig JP, Tillitt DE. Dioxins, dibenzofurans, PCBs and colonial, fish-eating water birds. In: Schecter A. (Ed.). *Dioxins and health*. New York: Plenum Press; 1994. p. 249-307.
3. USEPA-United States Environmental Protection Agency. *Interim procedures for estimating risks associated with exposure to mixture of chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (CDDs and CDFs)*. Washington DC: USEPA; 1989. (EPA/625/3-89/016).
4. World Health Organization. *Consultation on the assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the tolerable daily intake (TDI)*. Geneva: International Programme on Chemical Safety, WHO Centre for Environment and Health; 1998.
5. Di Domenico A, Turrio Baldassarri L, Ziemacki G, De Felip E, Ferrari G, La Rocca C, Cardelli M, Cedolini G, Dalla Palma M, Grassi M, Roccabella V, Volpi F, Ferri F, Iacovella N, Rodriguez F, D'Agostino O, Sansoni R, Settimo G. Priority microcontaminants in biota samples from the Venice Lagoon: a selection of concentration data and elements of risk analysis. *Organohalogen Compounds* 1998;39:199-204.
6. Di Domenico A, Miniero R. Transfer of PCDDs and PCDFs from bottom sediments to clams (*Tapes* sp) in the Venice lagoon: a preliminary assessment. *Organohalogen Compounds* 2000;49:473-6.

7. Bayarri S, Turrio Baldassarri L, Iacovella N, Ferrara F, Di Domenico A. PCDDs, PCDFs, PCBs and DDE in edible marine species from the Adriatic Sea. *Chemosphere* 2001;43:601-10.
8. Corsolini S, Focardi F, Kannan K, Tanabe S, Borrell A, Tatsukawa R. Congener profile and toxicity assessment of polychlorinated biphenyls in dolphins, sharks and tuna fish from Italian coastal waters. *Marine Environmental Res* 1995;40:33-53.
9. Storelli MM, Marcotrigiano GO. Persistent organochlorine residues and toxic evaluation of polychlorinated biphenyls in sharks from the Mediterranean sea Italy. *Marine Pollution Bull* 2001;42:1323-29.
10. Borrell A, Aguilar A, Corsolini S, Focardi S. Evaluation of toxicity and sex-related variation of PCB levels in mediterranean striped dolphin affected by an epizootic *Chemosphere* 1996;32:2359-69.
11. Marsili L, Focardi S. Organochlorine levels in subcutaneous blubber biopsies of fin whale (*Balaenoptera physalus*) from the Mediterranean sea. *Environmental Pollution* 1996;91:1-9.
12. Solè M, Porte C, Albaigés J. Hydrocarbons, PCBs and DDT in the NW Mediterranean deep-sea fish *Mora moro*. *Deep-Sea Res I* 2001;48:495-513.
13. Giesy JP, Kannan K. Dioxin-like and non-dioxin-like toxic effects of polychlorinated biphenyls (PCBs): implication for risk assessment. *Crit Rev Toxicol* 1998;28:511-69.
14. Jenssen BM, Shaare JV, Ekker M, Vongraven D, Lorentsen SH. Organochlorine compounds in blubber, liver and brain in neonatal grey seal pups. *Chemosphere* 1996;32:2115-25.
15. Tilbury KL, Stein JE, Meader JP, Krane CA, Chan SL. Chemical contaminants in harbor porpoise (*Phocoena phocoena*) from the North Atlantic coast: tissue concentrations and intra- and inter-organ distribution. *Chemosphere* 1997;34:2159-81.
16. Spitzbergen JM, Walker MK, Olson JR, Peterson RE. Pathologic alterations in early life stages of lake trout; *Salvelinus namaycush*, exposed to 2,3,7,8,-tetrachlorodibenzo-p-dioxin as fertilized eggs. *Aquatic Toxicol* 1991;191:41-72.