

Introduzione alla valutazione degli effetti combinati delle miscele

Paola Grenni

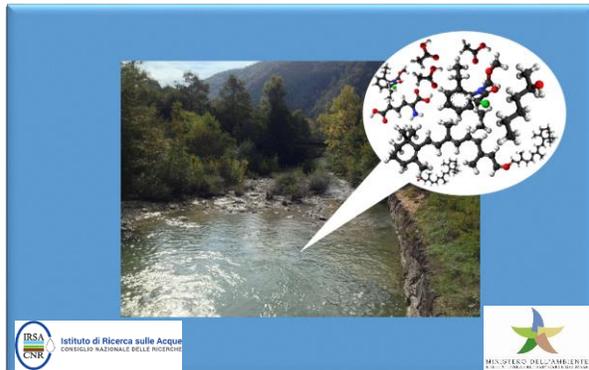
*Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Ricerca sulle Acque*



VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI COMBINATI DELLE MISCELE DI SOSTANZE CHIMICHE

Digital Workshop

25 Giugno 2020



Miscela:

- è un preparato o una soluzione composta di due o più sostanze (ECHA)
- si possono formare nell'ambiente (in diversi comparti quali aria, acqua, suolo) in seguito al rilascio o all'utilizzo di diverse sostanze



Il risultato finale:

- nell'ambiente vi sono più sostanze contemporaneamente
- la loro presenza simultanea può influire sulla qualità dell'ambiente

Le attuali regolamentazioni si basano sulla **gestione del rischio di singoli contaminanti**, ma nella realtà **gli organismi viventi sono esposti contemporaneamente a più sostanze** (miscele) con caratteristiche chimico-fisiche, tossicologiche ed ecotossicologiche estremamente differenti.

- ✓ **Come prevedere quali miscele sono presenti nell'ambiente in un determinato momento?**
- ✓ **Qual è la loro tossicità e come si può prevenire?**

Il problema della presenza di miscele nell'ambiente e dei loro potenziali effetti negativi sugli ecosistemi e sulla salute umana ha dunque destato particolare attenzione negli ultimi anni. Sono numerosi, infatti, i documenti realizzati da organizzazioni scientifiche internazionali, per la definizione di un approccio scientifico utile alla valutazione e gestione del rischio da miscele per l'uomo e per l'ambiente.

La valutazione del rischio da esposizione contemporanea a più sostanze chimiche presenta notevoli difficoltà, principalmente a causa della:

- complessità dell'inquadramento del problema,
- grande numero di contaminanti coinvolti
- quantità di dati necessari per descrivere i profili tossicologici e i *pattern* di esposizione delle sostanze presenti in miscela.

Letteratura internazionale in ambito di miscele di sostanze:

- ✓ **SCHER, SCCS, SCENIHR (2012)**, Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER), Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR), and the Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Toxicity and assessment of chemical mixtures.
- ✓ **OECD (2018)**, Considerations for Assessing the Risks of Combined Exposure to Multiple Chemicals, Series on Testing and Assessment No. 296, Environment, Health and Safety Division, Environment Directorate.
- ✓ **EFSA Scientific Committee (2019)**, Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals.
- ✓ **JRC, 2014**. Assessment of Mixtures - Review of Regulatory Requirements and Guidance.
- ✓ **JRC, 2015**, Scientific methodologies for the assessment of combined effects of chemicals – a survey and literature review.
- ✓ **JRC, 2016**. Review of case studies on the human and environmental risk assessment of chemical mixtures.



Scientific Committee on Health and Environmental Risks
SCHER

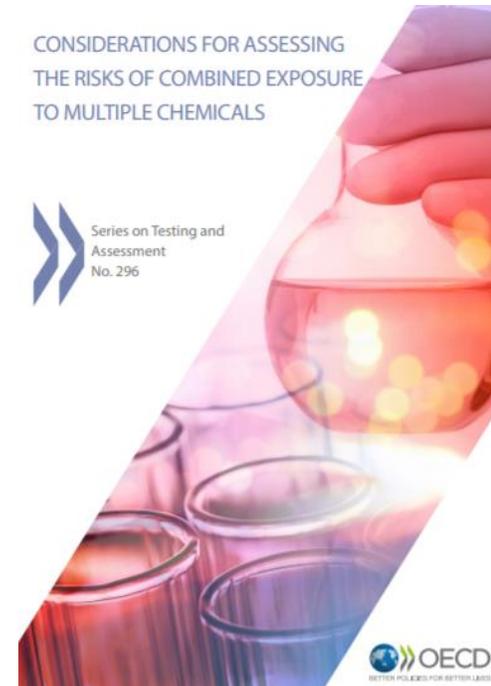
Scientific Committee on Consumer Products
SCCP

Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks
SCENIHR

Risk assessment methodologies and approaches for genotoxic and carcinogenic substances



CONSIDERATIONS FOR ASSESSING
THE RISKS OF COMBINED EXPOSURE
TO MULTIPLE CHEMICALS



GUIDANCE



ADOPTED: 20 February 2019

doi: 10.2903/j.efsa.2019.5634

Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals

EFSA Scientific Committee,
Simon John More, Vasileios Bampidis, Diane Benford, Susanne Hougaard Bennekou, Claude Bragard, Thorhallur Ingi Halldorsson, Antonio F. Hernández-Jerez, Konstantinos Koutsoumanis, Hanspeter Naegeli, Josef R. Schlatter, Vittorio Silano, Søren Saxmose Nielsen, Dieter Schrenk, Dominique Turck, Maged Younes, Emilio Benfenati, Laurence Castle, Nina Cedergreen, Anthony Hardy, Ryszard Laskowski, Jean Charles Leblanc, Andreas Kortenkamp, Ad Ragas, Léo Posthuma, Claus Svendsen, Roland Solecki, Emanuela Testai, Bruno Dujardin, George EN Kass, Paola Manini, Maryam Zare Jeddi, Jean-Lou CM Dorre and Christer Hogstrand



JRC SCIENCE AND POLICY REPORTS

Assessment of Mixtures - Review of Regulatory Requirements and Guidance



Non esiste un approccio unico che sia sufficiente a garantire un adeguato livello di protezione per l'ambiente e per la salute umana.

Infatti gli effetti tossici di una miscela possono essere predetti soltanto conoscendone la completa composizione. Anche le interazioni tra i componenti raramente possono essere noti a priori, e vanno valutati caso per caso.

Dall'analisi dei documenti è stato identificato, tra i diversi modelli di valutazione dell'effetto di miscele prioritarie e di valutazione dei loro effetti combinati e/o cumulativi sull'ambiente più recenti, il **modello di Löewe (*Concentration Addition* = Additività di Dose/Concentrazione)**

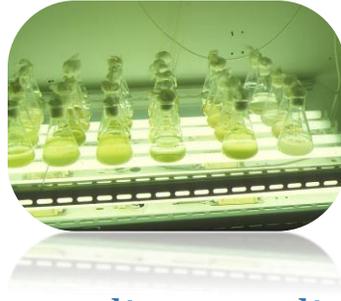
In **assenza di informazioni sulla tossicità della miscela**, questo approccio risulta essere di caso peggiore:

- si assume che tutte le sostanze presentino lo stesso meccanismo d'azione
- la tossicità della miscela viene calcolata ed espressa in termini di **unità di tossicità (TU, Toxic Unit)**:

$$TU = \sum_i^n ([Conc_i] / LC50i_{org})$$

ovvero sommando le concentrazioni misurate (MEC) o previste (PEC) di ciascun componente della miscela, normalizzate rispetto ad un endpoint ecotossicologico

Il modello permette il calcolo del rischio di una miscela su ogni singolo organismo considerato e rappresentativo di un livello trofico (es. alga, dafnia, pesce) combinando gli effetti di tutte le sostanze presenti nella miscela.

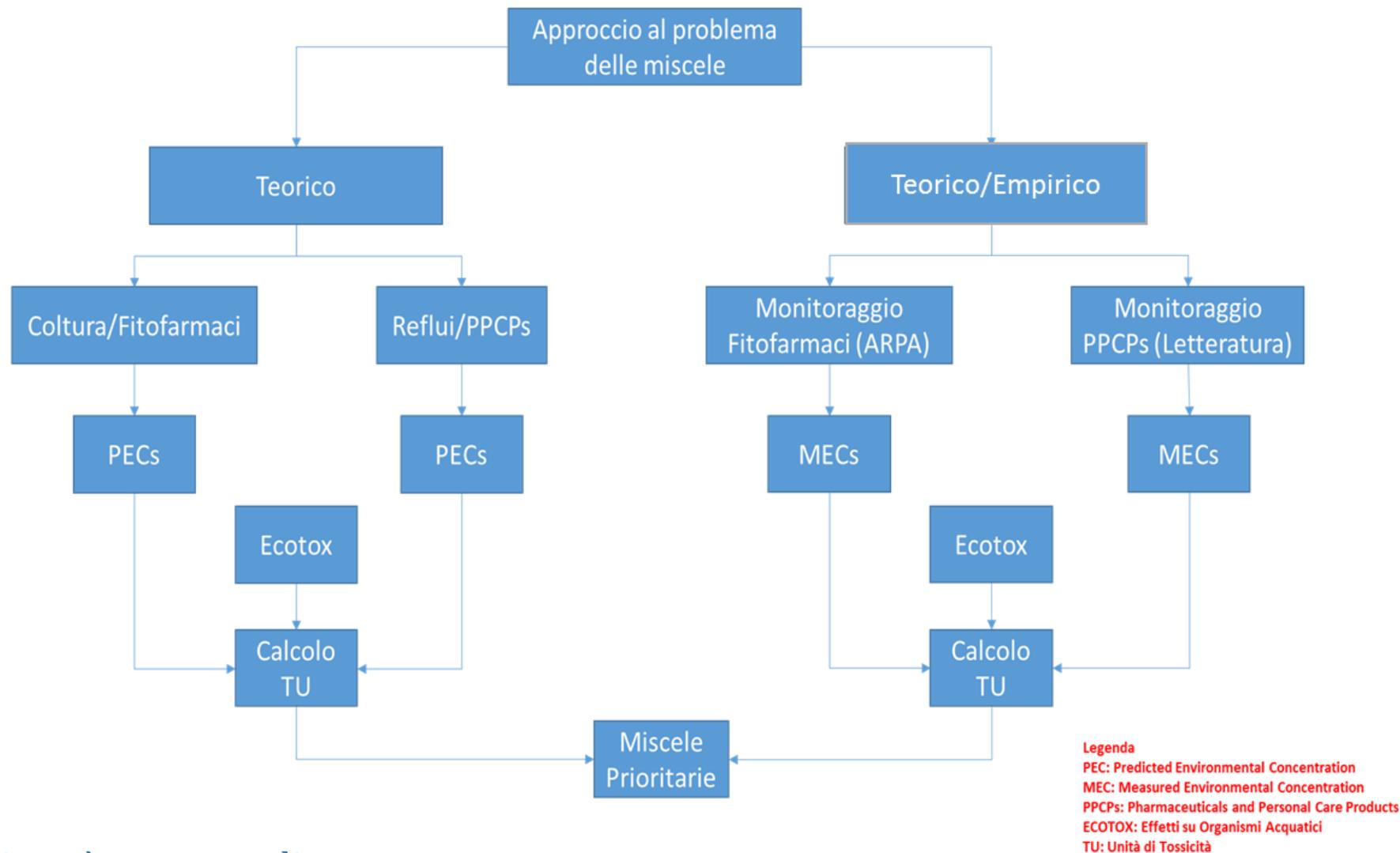


Il modello è stato applicato a diversi casi di studio con concentrazioni di contaminanti misurate, sia su concentrazioni previste:

- **5 casi di studio** con dati di monitoraggio ambientale misurati (MECs: *Measured Environmental Concentrations*); sono state prodotte, **mappe tematiche georeferenziate relative alla potenza delle miscele**; ad ogni punto di monitoraggio sono stati associati i relativi dati analitici e l'applicazione del modello di additività di dose/concentrazione, con il relativo risultato di unità di tossicità.
- **3 casi di studio** in cui il modello è stato applicato a dati di monitoraggio ambientale previsti (PECs: *Predicted Environmental Concentrations*).

Il modello è stato applicato sia a **sostanze normate** (normativa acque)

sia a **sostanze emergenti** (es. farmaci)



L'approccio può essere applicato:

- in maniera prospettica (teorico previsionale) per prevedere la formazione di una miscela nell'ambiente;
- in maniera retrospettiva (empirica), utilizzando i dati di monitoraggio disponibili per la valutazione del rischio da miscela.

CASI DI STUDIO PER L'APPROCCIO TEORICO/EMPIRICO

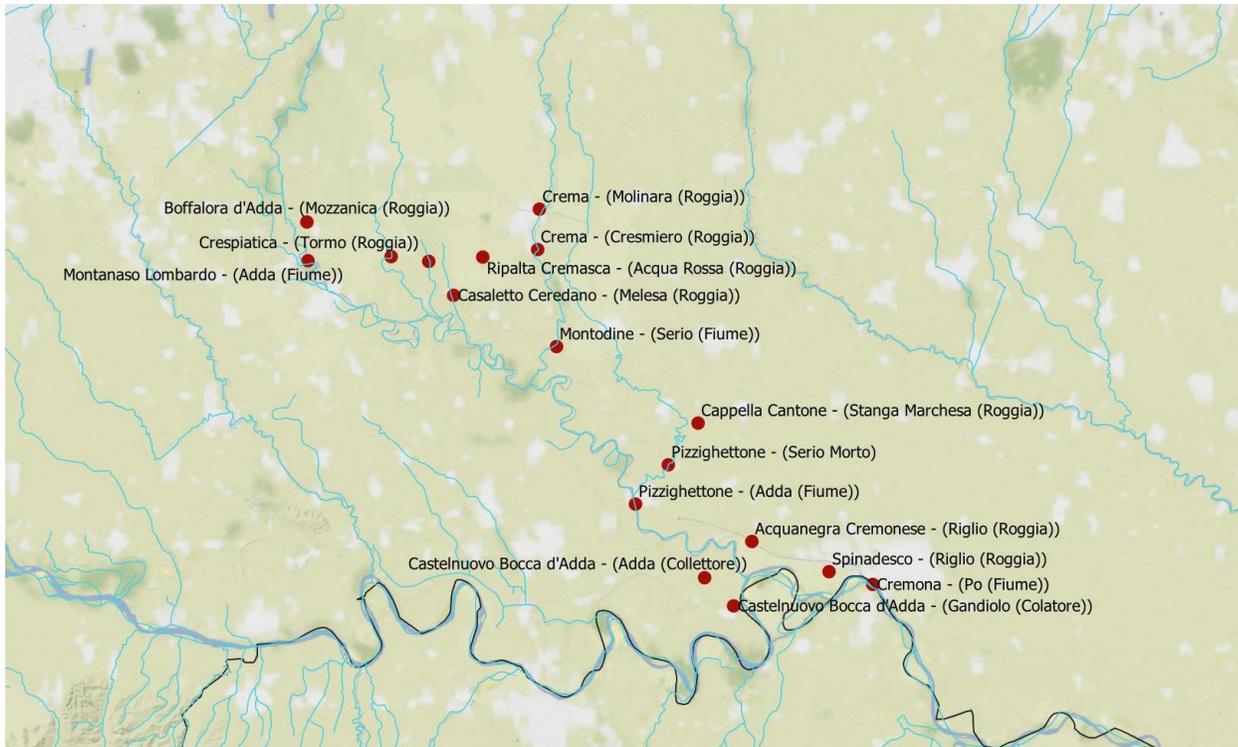


Figura: Anna Bruna Petrangeli

CASI DI STUDIO PER L'APPROCCIO TEORICO/EMPIRICO

-la parte terminale del bacino dell'Adda, uno dei principali affluenti del Po (dopo il lago di Como, dati ARPA Lombardia) con **17 stazioni di campionamento**, in cui prevalgono pressioni antropiche di origine agricola; dati analitici relativi a tre anni (2015-2017);

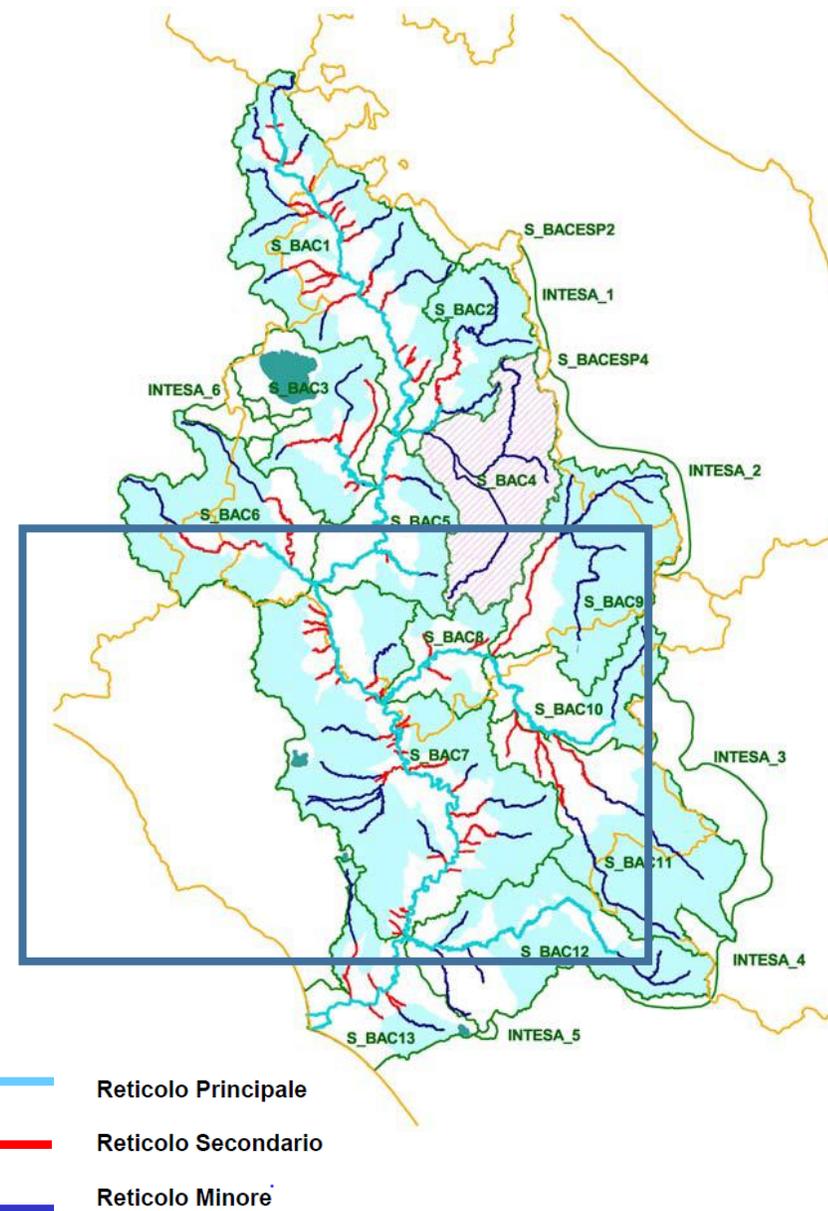
DATI MEC da ARPA LOMBARDIA



CASI DI STUDIO PER L'APPROCCIO TEORICO/EMPIRICO

Tratto del fiume Tevere (da Civiltà Castellana a Roma città), di lunghezza di circa 50 km **con 10 stazioni** di monitoraggio. I dati reperiti si riferiscono a dati temporali su 3 anni (2015-2017).

DATI MEC DA ARPA Lazio.



CASI DI STUDIO PER L'APPROCCIO TEORICO/EMPIRICO

un punto specifico del fiume Tevere (Scafa), ubicato a valle dell'impianto di depurazione di Roma sud (coordinate: 41°48'15"N, 12°14'50"E).

I dati elaborati su 3 anni (2013-2014-2015) per 5 campionamenti totali effettuati
DATI MEC DA Saccà et al, 2019 (EU -Project Microcokit).

Microcokit: Microbial Community-based sequencing analysis linked to anthropogenic pressures: MicroCoKit to address the water quality, FP7-PEOPLE-2012-IAPP - Marie Curie Action: "Industry-Academia Partnerships and Pathways"

Chemical mixtures and fluorescence in situ hybridization analysis of natural microbial community in the Tiber river

Maria Ludovica Saccà^{a,1,2}, Valentina Elisabetta Viviana Ferrero^{b,2}, Robert Loos^c, Martina Di Lenola^a, Simona Tavazzi^c, Paola Grenni^a, Nicoletta Ademollo^a, Luisa Patrolecco^a, Jim Huggett^{b,d}, Anna Barra Caracciolo^a, Teresa Lettieri^{c,*}

^a National Research Council, Water Research Institute, Via Salaria km 29,300, 00015 S. Maria della Vittoria, Rome, Italy

^b Molecular and Cell Biology team, ICG, Queens Road, Reading, RG1 1QV, United Kingdom

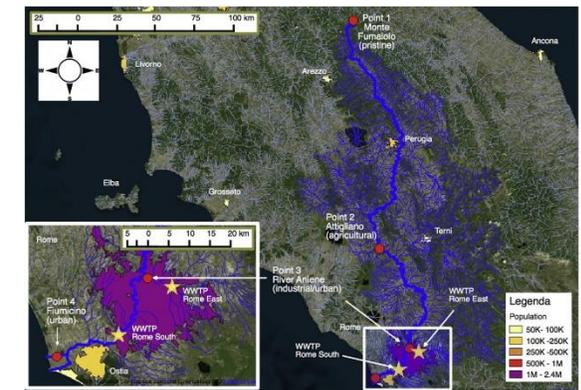
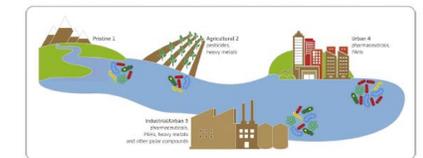
^c European Commission, Joint Research Centre (JRC), Ispra, Italy

^d School of Biomedical Sciences, Faculty of Health & Medical Science, University of Surrey, Guildford, Surrey GU2 70L, United Kingdom

HIGHLIGHTS

- Four freshwater sites differently affected by anthropogenic pressure were analyzed.
- The most chemical polluted site was the urban area.
- The bacterial community varies with degree of anthropogenic pressure.
- *β*-Proteobacteria were predominant in the urban area.

GRAPHICAL ABSTRACT



Saccà ML, Ferrero VEV, Loos R, Di Lenola M, Tavazzi S, Grenni P, Ademollo N, Patrolecco L, Huggett J, Barra Caracciolo A, Lettieri T, 2019. Chemical mixtures and fluorescence in situ hybridization analysis of natural microbial community in the Tiber River. *Science of the Total Environment*, 673, 7-19.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.011>

CASI DI STUDIO PER L'APPROCCIO TEORICO EMPIRICO

- **15 punti specifici del fiume Ledra** (Friuli Venezia Giulia), a monte e a valle di impianti di depurazione civile. Campionamenti lungo un'asta fluviale di 21 km in cui è stato fatto un unico campionamento a maggio 2015 con un totale di 47 sostanze analizzate.

DATI MEC DI LETTERATURA DA Raitano et al (2018).



Foto: sito FAI

- **7 punti specifici di tre fiumi (Olona, Seveso e Lambro)**, a monte e a valle di impianti di depurazione civile della città di Milano; (marzo e settembre 2011).

DATI MEC DI LETTERATURA DA Riva et al., 2019.



Raitano G, Goi D, Pieri V, et al. (Eco)toxicological maps: A new risk assessment method integrating traditional and in silico tools and its application in the Ledra River (Italy). Environ Int. 2018;119:275-286. doi:10.1016/j.envint.2018.06.035 .

Riva F, Zuccato E., Davoli E., Fattore E., Castiglioni S., 2019. Risk assessment of a mixture of emerging contaminants in surface water in a highly urbanized area in Italy. J. Hazard. Mater. 361, 103–110

Selezione dei dati

- Sono stati considerati **solo i dati relativi ai contaminanti organici**
- Sono stati esclusi i gruppi di sostanze (es. Idrocarburi policiclici aromatici, DDD+DDT+DDE, m+p-Xilene, Methylbenzotriazoles ecc.) perché non esiste un valore unico di ecotossicità.

Da questa selezione sono risultate **249 sostanze** per i quali sono stati ricercati i dati di ecotossicità nei database ECHA, PPDB o da altre fonti ufficiali (es. OSPAR).

Sono risultate **168** sostanze con almeno un dato di ecotossicità (Alga, Daphnia o pesce)

Elaborazione aggiuntive dei dati

BEST CASE/WORST CASE

- in molti casi la concentrazione rilevata era con un **valore <LOQ**.
- una concentrazione <LOQ potrebbe non significare assenza della sostanza, ma che il metodo applicato o la strumentazione utilizzata non sono stati in grado di rilevarla al di sotto di una certa concentrazione; tale limitazione può dar luogo ad ulteriore incertezza nella valutazione della tossicità della miscela.

Per tale motivo è stata fatta una **doppia elaborazione** (due criteri):

- Criterio **Best case**, in cui si è considerato il valore <LOQ =0, e dunque, quella determinata sostanza non è stata considerata facente parte della miscela
- Criterio **Worst case**, in cui le sostanze con concentrazione <LOQ, sono state considerate con un valore pari a metà del LOQ (come indicato da TGD); tale concentrazione dimezzata è stata inclusa per l'elaborazione della tossicità della miscela con un risultato molto peggiorativo rispetto alla situazione «reale».

ASSESSMENT FACTOR

Un'ulteriore considerazione è stata fatta per il **grado di incertezza** (si considera un solo dato di ecotossicità per i tre organismi target che potrebbero non essere quelli più sensibili alle singole sostanze considerate).

Pertanto per tale incertezza, è stato applicato un **assessment factor** di 0.1 per i dati elaborati di tossicità della miscela riguardanti alghe e di 0.01 dafnia e pesci.

Mappe tematiche prodotte

In definitiva, per ciascun caso di studio teorico/empirico, considerando ogni set di dati di monitoraggio (es. una stagione), sono state prodotte diverse mappe tematiche quali:

- 1 mappa *best-case* per ogni organismo target per i tre livelli trofici
- 1 mappa *worst-case* per ogni organismo target per i tre livelli trofici
- 1 mappa *best-case* per ogni organismo target con applicazione dell'*assessment factor* per i tre livelli trofici
- 1 mappa *worst-case* per ogni organismo target con applicazione dell'*assessment factor* per i tre livelli trofici



Alcune problematiche incontrate nella gestione ed elaborazione dei dati:

- Non uniformità nel numero di sostanze analizzate per punto di campionamento: l'elaborazione può non essere comparabile tra punti
- Per alcuni punti, i dati sono stati campionati su più giorni
- Variabilità dei LOQ nel tempo
- Nel caso in cui i risultati sono prevalentemente $< LOQ$, l'elaborazione nel *worst-case* può dare un risultato che non rispecchia la «realtà».



CASI DI STUDIO PER L'APPROCCIO EMPIRICO (PEC)

Miscele prioritarie derivanti dalla coltivazione di mais



Miscele prioritarie derivanti dalla coltivazione del melo



Identificazione di miscele prioritarie
derivanti da impianti di depurazione
(depuratore del Passo del Tonale, Trentino)



Grazie per l'attenzione!

grenni@irsa.cnr.it

*Accordo di collaborazione MATTM e CNR-IRSA per la realizzazione di uno studio finalizzato allo sviluppo di un approccio metodologico alla valutazione degli effetti combinati sulle sostanze chimiche (valutazione del rischio delle miscele di sostanze
Prot. DVA 456 del 29/11/2018*

Team che ha partecipato:

**Anna Barra Caracciolo, Anna Bruna Petrangeli,
Paola Grenni**

Antonio Finizio, Andrea Di Guardo

