

# SITOX Informa

SITOX INFORMA - Periodico della Società Italiana di Tossicologia - Fondata nel 1967 - Riconosciuta con DPR 16/05/1972, n. 376 - Codice fiscale: 96330980580  
Iscritta Registro Persone Giuridiche Prefettura di Milano n. 351 pag. 606 vol. II - Dir. Resp. Sarah Vecchio - Anno XX n. 1 - Maggio 2017 - ISSN 2282-5738



## Editoriale

*Sarah Vecchio*

In questo numero parliamo di principi metodologici ed aspetti applicativi della tossicologia forense, di metodi alternativi di sperimentazione animale, di impatto sulla popolazione degli impianti di smaltimento dei rifiuti e di antidoti in termini di necessità e disponibilità.

SITOX Informa si conferma quindi specchio dell'eterogeneità del mondo tossicologico, dove sperimentazione e clinica, ambiente e uomo, laboratorio e corsia procedono affiancati con l'unico fine di tutelare la salute pubblica. Non è raro constatare che, pur all'interno della stessa società e ambito di studio, non si abbia idea del tipo di lavoro che un tossicologo di un altro settore svolge quotidianamente. Questo non deve spaventare o tradursi nell'errato concetto di "identità sfumata" della nostra società. Anzi, è proprio la ricchezza e la diversità delle figure professionali che compongono SITOX a farne una società con un profilo unico, che va tutelato e stimolato. In occasione del **cinquantésimo anno dalla fondazione**, SITOX rinnova l'invito a tutti i soci a partecipare attivamente alla crescita della società, condividendo le proprie esperienze, pubblicazioni, progetti e permettendo a tutti di conoscere meglio un'altra delle tante tessere che compongono il nostro mosaico.

***“Arricchiamoci delle nostre reciproche differenze”***

*(Paul Valéry)*

## Indice:

Editoriale  
*Sarah Vecchio* ..... pag. 1

### TOSSICOLOGIA FORENSE

Principi metodologici ed aspetti applicativi  
*Donata Favretto, Massimo Montisci, Rossella Snenghi* ..... pag. 2

*“Organ - on a chip”*: la nuova frontiera dei metodi alternativi alla sperimentazione animale  
*Laura Turco, Emanuela Testai* ..... pag. 4

Focus sulla gestione dei rifiuti urbani  
*Primo Botti, Patrizia Hrelia, Emanuela Masini* ..... pag. 9

Disponibilità di antidoti sul territorio nazionale  
*Eleonora Buscaglia, Giulia Scaravaggi* ..... pag. 13

## TOSSICOLOGIA FORENSE

### Principi metodologici ed aspetti applicativi

**Donata Favretto, Massimo Montisci, Rossella Snenghi**

*UOC Medicina Legale e Tossicologia, Azienda Ospedaliera - Università di Padova*

La Tossicologia forense studia sotto il profilo forense la patologia indotta dagli xenobiotici. Tale termine comprende tutte le sostanze di provenienza esogena che non hanno un ruolo fisiologico nei processi biochimici dell'organismo. Si considerano xenobiotici i veleni, i farmaci, le droghe d'abuso, i fitofarmaci, le sostanze dopanti e, in parte, gli integratori alimentari.

La conoscenza delle proprietà chimiche e biochimiche di piante, animali, insetti e minerali ha accompagnato lo sviluppo della civiltà nel corso dei secoli, e la tossicologia, ovvero lo studio dei veleni, droghe, prodotti chimici o tossine, è antica, come testimoniano documenti risalenti al 1500 A.C. come il papiro Smith & Ebers. Nei primi anni di sviluppo della tossicologia molti importanti traguardi sono stati raggiunti, ma è solo a partire dal 19° secolo che la scienza della tossicologia si è evoluta in una disciplina scientifica. Come disciplina, la tossicologia moderna comprende la tossicologia clinica e forense, che si completano a vicenda, anche se con aree specifiche di interesse. Mentre la tossicologia forense ha bisogno di identificare e quantificare i veleni in un ambiente medico-legale, stabilire relazioni tra i livelli di sostanze tossiche nei fluidi biologici e una menomazione o una probabile causa di morte, la tossicologia clinica si confronta con le emergenze in ambito ospedaliero, la gestione di casi di overdose, avvelenamento, tentativi di suicidio. In entrambe le sotto-discipline, tuttavia, i tossicologi hanno bisogno di strumenti efficaci per identificare e quantificare veleni/droghe/sostanze tossiche, per comprendere i meccanismi di intossicazione e per affrontare le sfide poste da sostanze nuove o nuovi utilizzi di sostanze note. La storia della tossicologia moderna è stata in gran parte

determinata dallo sviluppo di tecnologie di analisi e la disponibilità di metodi diagnostici di laboratorio specifici e sensibili è stato il punto di svolta dell'evoluzione tossicologica, consentendo diagnosi e decisioni basate sull'evidenza, sia in ambito clinico che in ambito medico legale. Gli ambiti applicativi maggiormente sviluppati attualmente sono l'avvelenamento; la diagnostica di abuso/dipendenza da sostanze psicoattive, anche in soggetti sottoposti a misure cautelari e/o detentive; l'identificazione di causa o concausa di morte; l'accertamento di idoneità a funzioni o mansioni; la guida in stato di ebbrezza o in stato di alterazione psicofisica da uso di sostanze; il controllo sui lavoratori adibiti a mansioni rischiose per la salute e l'incolumità di terzi; l'utilizzo di sostanze vietate a fini di doping. Per ragioni di brevità, si riporterà di seguito la metodologia tossicologico-forense idonea, allo stato dell'arte, per la diagnosi di avvelenamento, i cui principi comunque ben si attagliano a tutti i diversi ambiti in cui la disciplina si trova ad operare.

### L'avvelenamento

In ambito tossicologico-forense, i concetti di avvelenamento e di reazione avversa, siano essi da xenobiotici, integratori alimentari, prodotti omeopatici o di erboristeria, si ricomprendono nel concetto di intossicazione secondo una visione criteriologica unitaria, sempre finalizzata a risolvere il fondamentale quesito sul nesso di causalità tra l'azione di uno o più xenobiotici e l'evento lesioni e/o morte. Si considerano veleni le sostanze capaci di produrre lesioni già a bassi dosaggi, ma anche i farmaci e, comunque, tutti gli xenobiotici possono esercitare una azione velenosa per iperdosaggio assoluto, per effetti farmacocinetici-farmacodinamici sinergici o per concause esogene o endogene. La classificazione dei veleni in Tossicologia forense è tradizionalmente effettuata in base alle caratteristiche chimico-fisiche delle sostanze e alla conseguente possibilità di estratti dai fluidi biologici con una metodica specifica per classe. Si hanno così sei gruppi: veleni gassosi o allo stato di vapore che inalati provocano intossicazione (monossido di carbonio, acido solfidrico, etere etilico,

acetone, etc.); veleni allo stato liquido dotati di volatilità (benzene e derivati, glicoli, aldeidi, olio essenziali di alcune piante, etc); acidi e basi forti (acido cloridrico, solforico, nitrico, idrato di sodio o di potassio, etc); anioni inorganici (permanganati, cromati); metalli o sali di metalli (arsenico, tallio, mercurio, piombo); composti organici non volatili di natura acida, neutra o basica (la maggior parte dei farmaci di sintesi, alcaloidi, stupefacenti, insetticidi, antiparassitari, etc.). In molti casi l'avvelenamento rappresenta un avvenimento ignoto che può essere dimostrato solo attraverso una equilibrata criteriologia di diagnosi differenziale medico-legale, spesso inopportunitamente trascurata nel novero degli esami da espletarsi nei casi di morte improvvisa. Tutto ciò porta ad una sottostima dell'incidenza degli avvelenamenti nell'ambito delle cosiddette patologie medico-legali. La metodologia di accertamento nel cadavere deve essere finalizzata alla acquisizione della totalità dei dati, circostanziali, clinici (documentali, anamnestici, obiettivi), necroscopici (autoptici, istologici, immunoistochimici, microbiologici, tanatochimici) e chimico-tossicologici.

L'analisi chimico-tossicologica dovrà essere articolata secondo due indirizzi:

- *ricerca generica*, quando sussiste il sospetto di intossicazione, ma la sostanza è misconosciuta;
- *ricerca mirata*, quando i dati circostanziali e/o clinico-documentali consentono di ipotizzare un'esposizione a specifiche sostanze.

Il campionamento dei tessuti post-mortali deve riguardare encefalo, fegato, reni, polmoni, sangue cardiaco e periferico, contenuto gastrico, bile, urina, capelli o altre formazioni cheratiniche, eventualmente anche frammenti di ossa o altro. I prelievi devono essere conservati in contenitori separati e riempiti il più possibile per minimizzare l'evaporazione di sostanze volatili e la ossidazione di farmaci. Il prelievo ematico per analisi quantitativa deve essere effettuato a livello della vena femorale in quanto tale sito risulta meno esposto alle alterazioni post-mortali di concentrazione di xenobiotici. Prelievi ematici da distinti siti periferici e da cavità cardiaca, destra e sinistra, sono utili a rilevare la eventuale

variazione di concentrazione di xenobiotici nel periodo post-mortale. In soggetti vittime di incendi il sangue dovrebbe essere prelevato da vasi di regioni risparmiate dal fuoco, in quanto è stata osservata in letteratura la diffusione di monossido di carbonio. In caso di cadaveri in avanzato stato di decomposizione è necessario prelevare larve di ditteri e di altri artropodi reperiti sul corpo al fine di analisi entomotossicologiche. Nel caso di accertamenti su viventi, a fini diagnostici clinici o medico-legali, le matrici biologiche più frequentemente oggetto di indagine sono sangue, urine, formazioni pilifere, saliva, sudore. Le analisi devono comunque essere espletate tramite determinazioni qualitative e quantitative, impiegando tecnologie avanzate, usando metodi validati, prevedendo l'obbligatorietà dell'analisi di conferma con standard certificati di riferimento per gli xenobiotici identificati. Sono prevedibili in generale due tipi di estrazione: quella liquido/liquido e quella solido/liquido o su fase supportata (SPE). Le analisi strumentali si avvalgono di tecnologie avanzate che accoppiano la separazione degli analiti in fase gassosa o liquida (gas chromatography GC, or liquid chromatography LC) e la loro identificazione mediante detector specifici quali UV, IR, FID, fluorescenza, spettrometria di massa e spettrometria di massa multipla (GC-MS, HPLC-MS, MS/MS, etc). In particolare l'uso della spettrometria di massa ad alta risoluzione (HRMS) o bassa risoluzione accoppiata a tecnica cromatografia è considerato il golden standard delle tecniche analitiche. Sarà necessario inoltre determinare rapporti di concentrazione parenchimo-ematica, emato-urinaria, sostanza madre/metaboliti al fine di poter eseguire un corretto inquadramento di dati in senso storico, biologico e statistico-epidemiologico.

Sia che si operi su fluidi biologici e tessuti da cadavere che su fluidi biologici di vivente, il laboratorio di Tossicologia forense ha il compito primario di assicurare la correttezza del dato analitico mediante processi di qualità analitica e logistico-organizzativo. La qualità logistico-organizzativa implica l'adozione di un protocollo volto a preservare la catena di custodia dal luogo del prelievo di campioni biologici, attraverso l'analisi e refertazione.

Particolare attenzione deve essere posta alle procedure di custodia e conservazione del campione biologico, sia “a breve termine” (in frigorifero 2°- 4°C) che “a lungo termine” (congelatore a temperatura massima di -18°C/-20°C). La qualità analitica deve essere raggiunta mediante la validazione dei metodi, perseguendo principi di selettività, specificità, precisione, accuratezza e linearità. Il metodo analitico deve inoltre essere caratterizzato dal proprio limite di identificazione e dal proprio limite di quantificazione. È inoltre opportuno che sia dichiarato il valore soglia interpretativo (cut-off) del metodo, misura arbitraria che viene adottata in determinati ambiti al fine di discriminare il confine tra risultato da considerare negativo e risultato da considerare positivo. Il “cut-off” non è quindi solo una misura tecnico-analitica, ma essa viene stabilita anche in funzione dell’obiettivo diagnostico. La “finalità” dell’indagine e la “destinazione” del dato analitico devono influenzare e condizionare grandemente la scelta del “cut - off”. È importante ricordare, infine, che ogni procedura analitica deve distinguere e dare il giusto peso ai metodi di screening e ai metodi di conferma. Il concetto della “conferma” in Tossicologia forense è irrinunciabile e la tecnica di conferma deve necessariamente essere basata su principi analitici e/o caratteristiche chimico fisiche, diversi dallo screening.

Esaurita la fase accertativa si sviluppa la non facile fase valutativa, nella quale i risultati delle diverse tipologie d’esame devono essere valutati comparativamente e criticamente. L’accertamento della intossicazione quale causa di rilevanza medico-legale può avvenire in termini di certezza o di probabilità, la quale a sua volta si distingue in probabilità statistica e logica. Poiché in ambito tossicologico spesso non vi sono leggi scientifiche generali, di copertura universali o statistico-epidemiologiche, le quali permettano di accertare od escludere l’esposizione a sostanze tossiche come causa di rilevanza medico-legale, il tossicologo-forense deve fare allora ricorso al processo di credibilità razionale, secondo migliore scienza ed esperienza.

## **“Organ-on a chip”: la nuova frontiera dei metodi alternativi alla sperimentazione animale**

**Laura Turco, Emanuela Testai**

*Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento  
Ambiente e Prevenzione Primaria – Reparto  
Meccanismi di Tossicità, Roma*

Le limitazioni dei metodi *in vitro* nella ricerca, sia in ambito tossicologico che nello sviluppo di nuovi farmaci, possono essere ricondotte a due principali problematiche: quella della loro reale rappresentatività della funzionalità fisiologica dell’organo o tessuto che sono deputati a mimare e quella della loro condizione di isolamento rispetto alla complessa rete di interconnesse relazioni/comunicazioni tra comparti fisiologici diversi, che nel loro insieme costituiscono l’omeostasi generale dell’organismo in toto. Queste limitazioni ne hanno ridotto o quantomeno rallentato l’applicazione nelle procedure regolatorie per la valutazione di sicurezza di prodotti con varie destinazioni d’uso.

Il miglioramento del livello di differenziamento delle cellule in coltura e la possibilità di coesistenza in coltura di tipi cellulari diversi rappresentano le soluzioni principali adottate per superare alcune limitazioni dei sistemi *in vitro*. Grandi sviluppi in tal senso si sono avuti grazie all’impiego di nuovi materiali di supporto delle colture che, consentendo il ripristino delle condizioni reali in termini di architettura tridimensionale, non solo hanno migliorato i contatti e le comunicazioni cellula-cellula, ma contemporaneamente, proprio grazie a tali connessioni che riproducono in parte il reale micro-ambiente originario delle cellule, hanno favorito il differenziamento cellulare in strutture/funzioni di tessuti di sistemi fisiologici altamente rappresentativi delle reali condizioni *in vivo*.

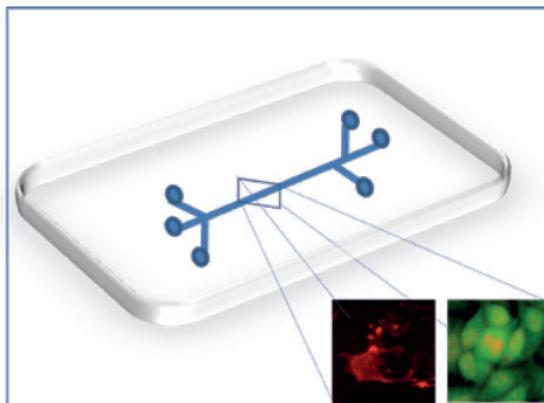
Questi progressi hanno portato alla ricostituzione *in vitro* di strutture biologiche sempre più complesse che spaziano da colture cellulari tal quali, ma altamente differenziate, ad alcuni tessuti epiteliali mono- o pluri-stratificati (i modelli di cute umana ricostituita

ne rappresentano l'esempio più noto e riconosciuto anche in ambito regolatorio), fino a sistemi più complessi che possono essere considerati veri e propri "organi" o quantomeno "unità strutturali/funzionali di organi". Quello degli organi artificiali rappresenta l'ultimo grande traguardo raggiunto dal progresso nello sviluppo dei metodi di sostituzione del modello animale in termini di complessità di sistema biologico ricostituito e, benché la definizione di "organi artificiali" suoni per i più scettici presuntuosa e utopistica, questi modelli consentono non solo di disporre *in vitro* di unità strutturali/funzionali caratteristiche dei vari organi, ma soprattutto permettono indagini in tempo reale della loro funzionalità nelle condizioni di microambiente in cui queste operano nell'organismo.

Tutto ciò è stato possibile grazie alla possibilità di ricostruire modelli sperimentali di cellule in coltura dinamici nella loro tridimensionalità, vale a dire sistemi in cui il mezzo circostante le cellule non è stazionario, ma circola in maniera laminare, senza turbolenze o ristagni: si ripristina in questo modo la reale condizione vitale nell'organismo di connessione tra cellule vicine e, contemporaneamente, di comunicazione fluida tra cellule che risiedono in distretti non adiacenti ma normalmente comunicanti, attraverso canali di circolazione mediata anche da molecole specifiche come citochine o trasmettitori. Alla dinamicità del mezzo circostante si aggiunge la plasticità dei materiali che fanno da substrato alle cellule adese: ciò permette di mimare specifiche caratteristiche meccaniche (pressioni, alternanza di vuoto e mezzo fluido, movimenti funzionali ecc.) che per alcuni tessuti rappresentano le condizioni necessarie per funzionalità e differenziamento cellulare.

La miniaturizzazione di questi modelli (da cui deriva la terminologia usata "organs on chips", unitamente al fatto che i primi prototipi erano modificazioni di incisioni fotolitografiche analoghe a quelle utilizzate per i microchip dei computer) e la trasparenza ottica dei materiali di supporto impiegati, consentono sia la crescita ottimale di più tipi cellulari contemporaneamente, sia il collegamento con più di una strumentazione di analisi in tempo

reale e l'impiego di metodi di indagine visiva con tecniche di imaging in fluorescenza (Fig. 1).



**Fig. 1.** Rappresentazione semplificata di un generico "organ on a chip". Le linee rappresentano le aree interessate dalla circolazione del flusso del mezzo di coltura (o aria nel caso di interfaccia cellule/aria); le cellule si trovano adese nel corpo centrale del canale in cui circola il mezzo; i cerchi rappresentano le connessioni con l'esterno per l'immissione delle cellule e successivamente degli input delle condizioni di esposizione introdotti attraverso il flusso di circolazione o, analogamente, per gli output rilevati dalle strumentazioni di analisi ivi connesse.

Questa tecnica di coltura permette così di ricostituire *in vitro* diverse tipologie di unità strutturale/funzionale di organi. Queste condizioni non sarebbero state possibili usando bioreattori, finora il mezzo più utilizzato per ottimizzare il differenziamento cellulare contemporaneamente in più tipi di tessuti. Con i bioreattori infatti si rendono necessari quantitativi di cellule elevati, non sempre ottenibili o quantomeno non con tutti i tipi cellulari, necessari per ottenere una completa unità funzionale. Inoltre i bioreattori non consentono un'ottimale contiguità di tessuti diversi.

Le unità funzionali di organi finora ricostituite *in vitro* con ottimi risultati riguardano il polmone, i reni, le arterie, l'intestino tenue e anche il fegato. Oltre che per studi tossicologici che permettano di valutare la sicurezza d'uso delle sostanze chimiche, le piattaforme "organ-on-a-chip", in cui vari tessuti 3D ingegnerizzati sono integrati da una rete microfluidica, sono state indicate anche come uno dei sistemi più promettenti per lo studio di eventuali reazioni avverse indotte da farmaci in fasi precoci dello

sviluppo, o per verificare l'efficacia di sistemi di rilascio (es: nanoparticelle) per ridurre l'attrito tra i risultati della fase preclinica rispetto ai trial clinici.

Un altro settore nel quale l'uso di "organ on a chip" è stato proposto è quello biomedico per lo sviluppo di modelli di malattia che possano implementare le conoscenze meccanicistiche su alcune patologie indirizzando sia la diagnostica che il trattamento terapeutico. Infatti, nonostante passi avanti siano stati fatti grazie allo sviluppo di modelli animali di malattia, ad esempio con l'uso di animali transgenici, in molti casi le differenze di specie (soprattutto in relazione alle funzioni del sistema immunitario) non permettono una diretta estrapolazione alle condizioni della specie umana, e difficilmente possono fornire per la loro intrinseca complessità indicazioni su eventi a livello molecolare o cellulare critici per l'insorgere dello stato patologico. La disponibilità di tessuti e organi ingegnerizzati ha permesso di sviluppare modelli sintetici di malattie, nei quali specifici tipi cellulari e altri fattori possono essere variati dall'esterno, misurando la risposta in tempo reale, vedendone anche l'eventuale effetto terapeutico.

Una delle strutture polmonari che è stata ricostituita è stata denominata "breathing lung on a chip" poiché ricapitola l'interfaccia alveolo-capillare mediante due canali separati da una membrana porosa sulla quale sono adese nelle due superfici opposte cellule endoteliali microvascolari e cellule epiteliali di alveoli polmonari umani. Parallelamente all'asse centrale di questi due canali separati dagli "strati cellulari", decorrono altri due canali distinti nei quali aspirazioni cicliche imposte dall'esterno deformano ritmicamente i materiali delle pareti dei canali stessi e anche quelli del setto poroso che fa da supporto alle cellule. Questa deformazione ritmica induce a tutto il sistema una dinamicità strutturale, che nel caso degli alveoli polmonari è strettamente correlata alla funzionalità, promuovendo fortemente il differenziamento cellulare verso la ricostituzione della struttura funzionale respiratoria.

Per analizzare *in vitro* la patofisiologia polmonare in caso di malattie infiammatorie è

stata utilizzata una struttura polmonare nota come "small airway-on-a-chip" contenente cellule differenziate dell'epitelio bronchiolare insieme a endotelio microvascolare. L'esposizione dell'epitelio all'interleuchina-13 (IL-13) è in grado di riprodurre l'iperplasia cellulare, l'ipersecrezione di citochine nel mezzo sotto flusso e la diminuita funzione ciliare tipica degli asmatici. L'uso di cellule epiteliali provenienti da individui affetti da ostruzione polmonare cronica (COPD) mima esattamente la condizione patologica *in vivo*, permettendo di identificare fattori che sono in grado di esacerbare lo stato patologico (es: sostanze chimiche, infezioni batteriche) o di esercitare un effetto terapeutico (es: nuovi farmaci anti-infiammatori capaci di inibire il richiamo di neutrofili circolanti indotto da citochine nel fluido sotto flusso continuo).

La struttura base del sistema renale ricostituito consiste generalmente di due canali separati da una membrana porosa sulla cui superficie sono tenute in coltura cellule epiteliali di tubuli prossimali dei reni umani; nelle condizioni di coltura dinamica del mezzo circostante il differenziamento cellulare è tale da permettere studi altamente rilevanti della fisiologia della funzionalità renale umana, attraverso analisi di trasporto trans-cellulare di sostanze o dell'accumulo/secrezione delle stesse all'interno delle cellule, funzioni che nel loro insieme rappresentano l'unità funzionale dei tubuli prossimali renali. Questo può permettere anche di studiare la funzionalità e il ruolo dei molti trasportatori di membrana grazie ai quali le sostanze (endogene ed esogene) si muovono per trasporto attivo contro gradiente e le eventuali interazioni tra sostanze substrato degli stessi trasportatori.

Analogamente sono stati ricreati canali interamente ricoperti di cellule endoteliali umane sfruttandone il differenziamento indotto attraverso la creazione di gradienti fluidi di fattori stimolanti l'angiogenesi; questo sistema è stato caratterizzato anche per la capacità di riprodurre la migrazione dei neutrofili attraverso l'epitelio endoteliale in risposta a transienti gradienti di specifiche molecole.

Sfruttando la capacità di induzione del differenziamento cellulare di questi sistemi di

coltura, dovuto sia alla tridimensionalità del sistema stesso che alla natura dei materiali di supporto e alla creazione di stimoli in modalità fluida e dinamica, è stato possibile anche ottenere ottimi risultati nella ricostituzione di epitelii di assorbimento comunemente indicati come bio-barriere, molto utili per lo studio di permeabilità delle sostanze all'interno dell'organismo; sono state infatti migliorate fortemente le caratteristiche di attendibilità di questi modelli, rispetto a quelli classici mantenuti in condizioni non dinamiche, sia per la barriera emato-encefalica che di quella intestinale finora utilizzati in sistemi tridimensionali statici. La migliore predittività di questi modelli è strettamente correlata al maggior livello di differenziamento cellulare raggiunto nelle condizioni di coltura che permette di riprodurre più fedelmente i diversi pathway di assorbimento attraverso le bio-barriere. Ad esempio, dal punto di vista morfologico/funzionale il sistema intestinale così ricostituito è in grado di riprodurre non solo i microvilli cellulari (già presenti anche nelle colture monostrato della linea cellulare CaCo2), ma anche le anse dei villi intestinali (con cellule a diverso grado di differenziamento lungo l'asse longitudinale del villo), nonché i trasportatori implicati nel trasporto specifico e differenziale delle diverse molecole.

Una particolare tecnica di semina e coltura cellulare, che sfrutta i vantaggi sia dei materiali che della fluidità di queste nuove tecniche di coltura, ha permesso di ricostituire *in vitro* anche tessuti epatici miniaturizzati con elevata capacità rappresentativa sia strutturale che funzionale del tessuto epatico umano. La tecnica prevede una prima co-coltura di epatociti e fibroblasti su un substrato di microcelle, all'interno delle quali si creano micro-aggregati eterogenei dei due tipi cellulari, che vengono successivamente trasferiti all'interno di un chip in cui vengono mantenuti ed esposti alle varie sostanze in condizioni fluide. Oltre al mantenimento del fenotipo associato alle varie attività enzimatiche degli epatociti (soprattutto relativamente alla biotrasformazione), l'enorme vantaggio che si ottiene con questo modello sperimentale consiste nella possibilità di monitorare in

tempo reale, attraverso collegamenti diretti con le strumentazioni appropriate, gli effetti di epatotossicità (es: risposta allo stress, fibrotica, immunitaria, effetti colestatici, quindi non solo citotossicità).

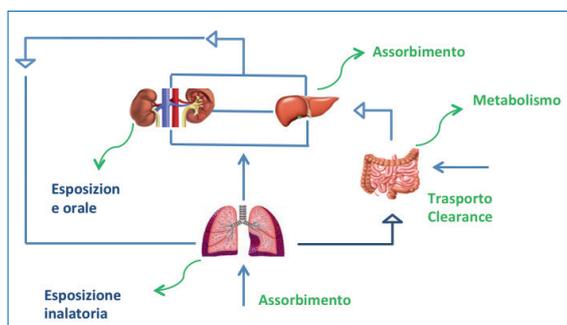
Man mano che aumenta la nostra conoscenza dei processi molecolari che portano a danni epatici, diventa sempre più chiaro che le lesioni patologiche non si limitano alle cellule parenchimatiche, ma sono spesso dovute all'interazione tra gli epatociti e le cellule stellate, con funzioni immunologiche, e con le endoteliali, che sono generalmente diverse tra gli animali sperimentali e l'uomo. A maggior ragione, un modello predittivo della condizione umana *in vivo* non può prescindere dal ricostruire una architettura *in vitro* che permetta queste interconnessioni.

Questi modelli di tessuto epatico rappresentano una grande potenzialità per la tossicologia *in vitro* poiché, mantenendo inalterato per diversi giorni il loro corredo enzimatico, permettono di superare la grande limitazione che ha caratterizzato le colture di epatociti fino ad oggi, vale a dire la rapida perdita di alcune importanti attività enzimatiche (esempio i vari isoenzimi del citocromo P450), fondamentali per gli studi di metabolismo epatico e delle implicazioni tossicologiche in termini di bilancio tra bioattivazione e detossificazione.

Quelli fin qui descritti sono i modelli di *organs-on-chips* più sviluppati e caratterizzati, ma sono stati riprodotte diverse strutture di etero-tessuti che permettono di studiare particolari fenomeni fisiologici dinamici anche se parziali rispetto alla globale azione dell'organo relativo considerato in toto quali cuore, muscolo liscio e striato, osso, tessuto nervoso e midollo osseo. Quest'ultimo caso è particolarmente rilevante perché permette di simulare la risposta immunitaria a seguito di stimoli esterni in virtù del ruolo chiave che il midollo osseo svolge con la sua attività ematopoietica, anche se il mantenimento delle condizioni micro ambientali biochimiche e fisiche che regolano l'ematopoiesi resta ancora l'aspetto più difficoltoso di questi modelli.

La grande sfida dello sviluppo di queste promettenti nuove modalità di tecnica colturale e di sviluppo di modelli sperimentali

consiste nell'approntare un sistema di più modelli, tra loro connessi sempre attraverso una comunicazione dinamica e fluida, in una architettura di canali paralleli o seriali tali da riprodurre il percorso fisiologico delle sostanze dalla loro penetrazione all'interno dell'organismo attraverso le biobarriere alla loro eventuale biotrasformazione fino all'azione finale a livello di organo target e definitiva escrezione. Si tratta di un progetto definito come "body-on-a-chip" (Fig. 2)



**Fig. 2.** Schema semplificato di un possibile sistema di organs-on chips tra loro connessi per studi tossicologici in vitro di ADME

che, seppure possa sembrare presuntuoso, ha delle grandi ed importanti implicazioni negli studi tossicologici e nello sviluppo di nuovi farmaci per quanto riguarda gli aspetti tossicocinetici di ADME (Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo ed Escrezione) e di tossicodinamica. Questi aspetti della tossicologia sono sempre stati i maggiori ostacoli nell'impiego delle tecniche *in vitro* che, oltre a presentare le ovvie problematiche di semplicità di sistema sperimentale rispetto all'intero organismo, hanno sempre presentato un livello di differenziazione cellulare che, seppure elevato in alcuni casi, è comunque di breve durata. Le condizioni sperimentali di questi nuovi modelli, quali le proprietà dei materiali di supporto e le caratteristiche chimico/fisiche del microambiente ricreato, instaurano un effetto sinergico nel raggiungimento e mantenimento di elevati livelli di differenziazione cellulare e complessità di struttura fisiologica che, unitamente alla possibilità di mantenere nel tempo tali caratteristiche e alla possibilità di indagine in tempo reale, hanno aperto un nuovo, più vasto orizzonte nelle applicazioni

tossicologiche delle tecniche *in vitro*.

#### BIBLIOGRAFIA

Benam KH, Dauth S, Hassell B, Herland A, Jain A, Jang KJ, Karalis K, Kim HJ, MacQueen L, Mahmoodian R, Musah S, Torisawa YS, van der Meer AD, Villenave R, Yadid M, Parker KK, Ingber DE. Engineered in vitro disease models. *Annu Rev Pathol.* 2015; 10: 195-262. doi: 10.1146/annurev-pathol-012414-040418.

Benam KH, Villenave R, Lucchesi C, Varone A, Hubeau C, Lee HH, Alves SE, Salmon M, Ferrante TC, Weaver JC, Bahinski A, Hamilton GA, Ingber DE. Small airway-on-a-chip enables analysis of human lung inflammation and drug responses in vitro. *Nat Methods.* 2016 Feb; 13(2): 151-7. doi: 10.1038/nmeth.3697. Epub 2015 Dec 21.

Bhise NS, Ribas J, Manoharan V, Zhang YS, Polini A, Massa S, Dokmeci MR, Khademhosseini A. Organ-on-a-chip platforms for studying drug delivery systems. *J Control Release.* 2014 Sep 28; 190: 82-93. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.05.004. Epub 2014 May 10.

Huh D, Matthews BD, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Hsin HY, Ingber DE. et al. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science* 2010, 328: 1662-1668.

Kim HJ, Li H, Collins JJ and Ingber DE. Contributions of microbiome and mechanical deformation to intestinal bacterial overgrowth and inflammation in a human gut-on-a-chip. *PNAS* 2015, www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1522193112.

Kim J, Lee H, Selimović Š, Gauvin R, Bae H. Organ-on-a-chip: development and clinical prospects toward toxicity assessment with an emphasis on bone marrow. *Drug Saf.* 2015 May; 38(5): 409-18. doi: 10.1007/s40264-015-0284-x.

Lee PJ, Hung PJ, Lee LP. An artificial liver sinusoid with a microfluidic endothelial-like barrier for primary hepatocyte culture. *Biotechnology and Bioengineering* 2007, 97 (5): 1340-1346.

Sangeeta N Bhatia and Donald E Ingber. Microfluidic organs-on-chips. *Nature biotechnology* 2014, 32 (8): 760-772.

## Focus sulla gestione dei rifiuti urbani

**Primo Botti<sup>1</sup>, Patrizia Hrelia<sup>2</sup>,  
Emanuela Masini<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Dipartimento NEUROFARBA, Sezione di Farmacologia e Tossicologia, Università di Firenze – Consiglio Direttivo SITOX

<sup>2</sup>Professore di Tossicologia, Università di Bologna. Coordinatore Dottorato in Scienze farmacologiche, tossicologiche, dello sviluppo e del movimento umano. Presidente Società Italiana Tossicologia

<sup>3</sup>Professore di Farmacologia e Tossicologia, Università di Firenze. Direttore SODc e Scuola di Specializzazione in Tossicologia Medica

**Abstract:** è comprensibile che la popolazione, specie quella residente nelle aree dove insistono o insisteranno impianti di smaltimento dei rifiuti, ponga attenzione alle possibili ricadute in termini di salute pubblica. È opportuno che l'informazione, necessaria e corretta, si basi su dati scientifici concernenti gli impianti attuali, in tema di monitoraggio delle emissioni e biomonitoraggio nelle popolazioni esposte. Il problema della gestione dei rifiuti riveste certamente un ruolo sempre più importante, sia dal punto di vista economico che sanitario. Le sue ricadute, in termini di tossicologia ambientale nel breve e nel lungo periodo e i relativi aspetti di salute pubblica, focalizzano non solo l'attenzione dei medici, come richiamato dal Codice Deontologico, ma anche di tutta la popolazione. Infatti, nell'estate 2016 nell'hinterland fiorentino è iniziato un ampio e animato dibattito riguardante i rischi ambientali e sanitari che sarebbero potuti derivare dalla costruzione di un termovalorizzatore di ultima generazione nella piana di Sesto Fiorentino. Il dibattito ha investito i cittadini e i medici della piana, organizzati in comitati, nonché gli amministratori dei comuni interessati, schierati per lo più su posizioni contrarie al progetto regionale.

A questo proposito la Società Italiana di Tossicologia (SITOX), con il patrocinio dell'Ordine dei Medici di Firenze, ha organizzato, nel novembre 2016, un "Focus sulla gestione dei rifiuti" tenutosi presso la

sede dell'Ordine, a cui hanno partecipato, come relatori, alcuni fra i maggiori esperti nazionali in materia.

Nel presente articolo vengono riportati in sintesi i punti salienti discussi dai vari relatori. L'introduzione alla tematica e il suo rilievo sociale e sanitario sono stati svolti dal Presidente dell'Ordine, Dr. Antonio Panti, e dal Presidente della SITOX, Prof.ssa Patrizia Hrelia.

Gli aspetti generali sulla "Gestione dei rifiuti solidi nel mondo, tra desideri e realtà" sono stati trattati dal Prof. Raffaello Cossu (Professore di Gestione dei rifiuti solidi, Dipartimento di Ingegneria Industriale dell'Università di Padova). I rifiuti urbani solidi rappresentano "solo" il 3% della quantità complessiva annua di rifiuti in Europa, circa 5Gton = 5 miliardi di tonnellate, e in questa misura contribuiscono all'inquinamento ambientale, ma sono quelli che, più degli altri rifiuti (industriali, minerari, agricoli, zootecnici, scarti di energia, demolizioni etc.), preoccupano la popolazione, soprattutto e comprensibilmente, quella delle aree dove insistono o dovranno essere costruiti impianti di smaltimento. La sindrome NIMBY (Not In My Back Yard) e una informazione non sempre scientificamente corretta influenzano certamente l'opinione pubblica, che troppo spesso dimentica che ognuno di noi è un produttore di rifiuti (601 kg/anno pro capite in Toscana nel 2014, Fig. 1).

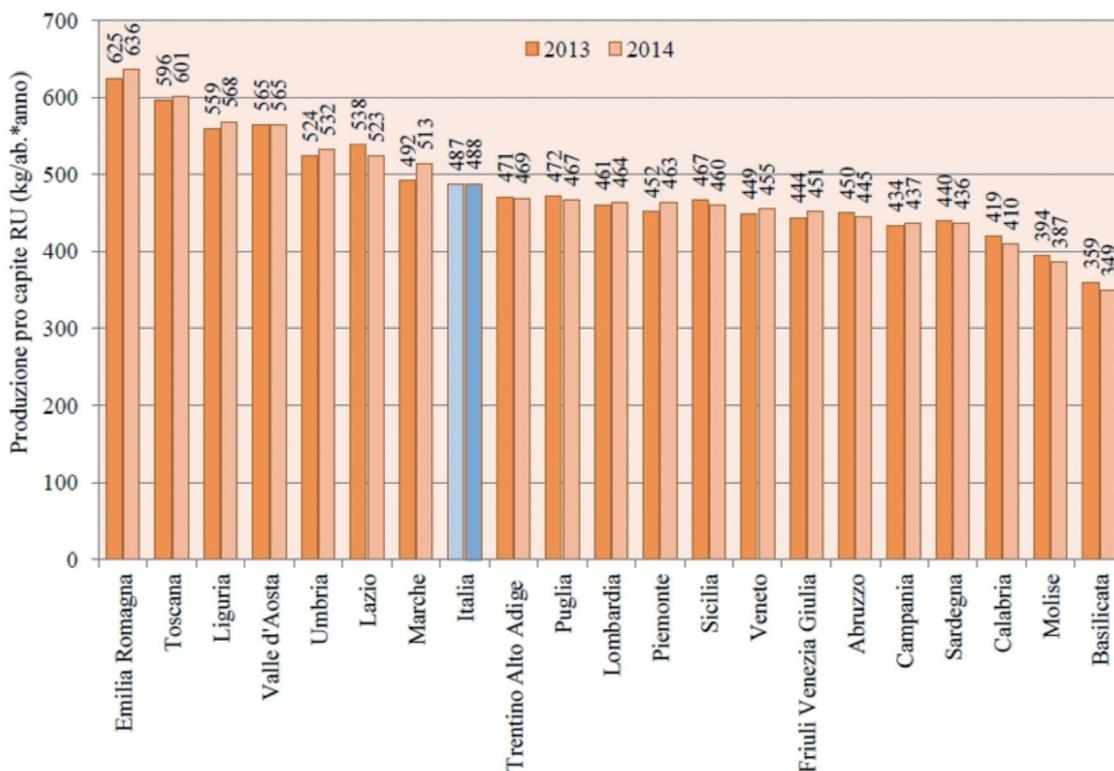


Fig. 1. Produzione regionale di rifiuti organici pro capite negli anni 2013-2014 (ISPRA - Rapporto rifiuti urbani 2015).

A fronte di questi dati, esistono varie possibilità di gestione e smaltimento dei rifiuti, che vanno dal trattamento biologico a quello termico, con diverse tecnologie. Al primo sono attribuibili il compostaggio e le discariche, dalle bandite discariche indifferenziate a cielo aperto, che evocano scenari tipo “terra dei fuochi”, alle discariche controllate, intese come deposito sul terreno “landfilling”, reso sostenibile dal punto di vista ambientale per mezzo di appropriate e normate tecniche di costruzione. Al secondo appartengono le diverse tipologie di inceneritori, che vanno da quelli di prima generazione a combustione indifferenziata e altamente inquinante, ormai desueti, ai più recenti, a combustione controllata, con abbattimento di fumi e polveri e recupero di energia termica e/o elettrica, conosciuti come termovalorizzatori.

Numerosi altri sistemi di trattamento termico come la gasificazione, la pirolisi e gli inceneritori al plasma sono in avanzato stato di progettazione. La realtà è che i due sistemi, seppure evoluti e controllati, non sono a rischio zero, riguardo alle emissioni in atmosfera e all’inquinamento del suolo e delle acque, anche se la gestione dei rifiuti urbani riuscisse a rispettare pienamente la regola delle 3R (Riduzione, Riutilizzo, Riciclaggio) a cui si può aggiungere oggi una quarta R (Recupero di energia) (Fig. 2).

Il desiderio del rischio zero, che oggi appare utopistico, si avvererà solo quando, forse, le società evolute raggiungeranno la soglia di rifiuti zero e non ci sarà più bisogno né di discariche né di inceneritori.

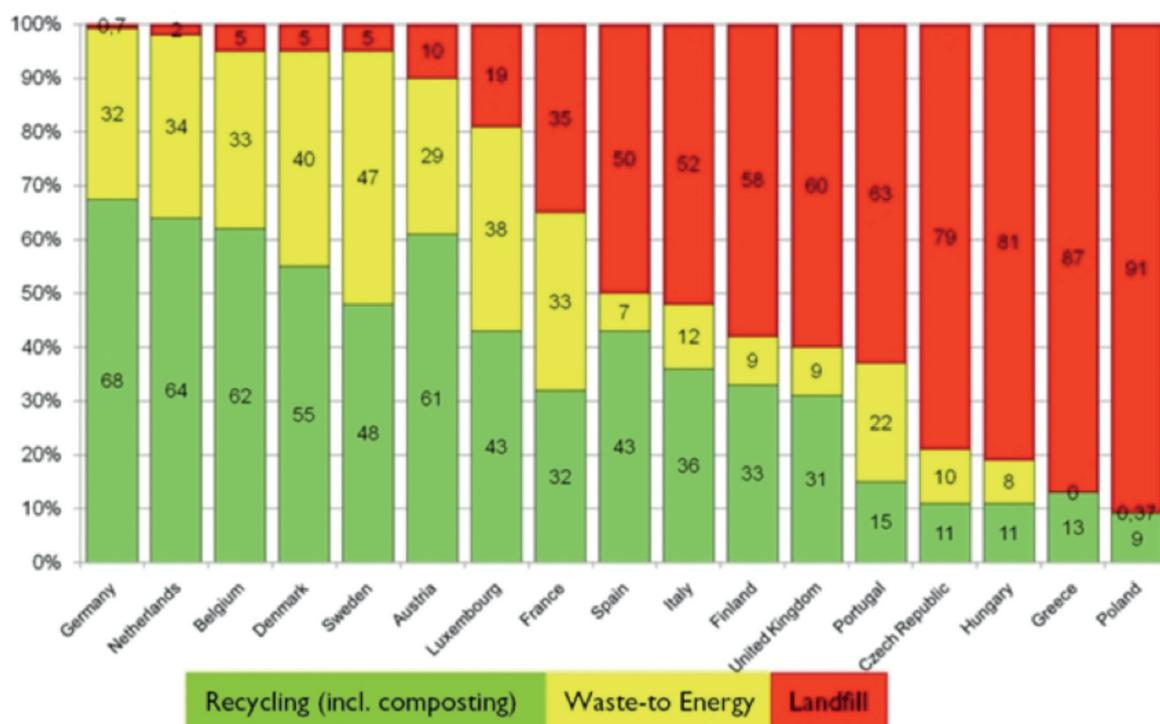


Fig. 2. Gestione rifiuti nei paesi EU27: evidenziato in giallo l'invio ai termovalorizzatori (Credits: Prof. Raffaello Cossu, UniPD).

Relativamente a questi aspetti, l'Italia (Fig. 2) si trova in una posizione intermedia fra i paesi UE, ma è evidente che l'utilizzo del riciclaggio e dei termovalorizzatori è ancora minoritario rispetto alle discariche; la Toscana, in particolare, invia a termovalorizzazione solo il 12% dei rifiuti urbani, contro una media europea del 27%. Il tema del "Passato, presente e possibile futuro per il recupero di energia da rifiuti" è stato affrontato dal Prof. Stefano Consonni (Professore di Sistemi per l'energia e l'ambiente, Politecnico di Milano). I vecchi inceneritori costruiti fino agli anni '80, che prevedevano la termodistruzione dei rifiuti indifferenziati, sono oggi sostituiti, per legge, sia in Italia che in Europa, da impianti di termovalorizzazione, definita meglio come termo-utilizzazione, finalizzati al recupero

di energia: di fatto, i termo-utilizzatori di ultima generazione non sono altro che centrali termoelettriche che utilizzano i rifiuti come combustibile. L'evoluzione della tecnologia ha consentito da un lato il miglioramento dell'efficienza degli impianti e, dall'altro, l'adozione di sofisticati sistemi di trattamento dei fumi e depurazione dei gas prima dell'invio al camino. Il controllo di questi sistemi e il monitoraggio delle emissioni al camino permettono di ridurre al minimo l'impatto ambientale. Si considera che 1 Kg di Rifiuto Urbano Residuo (RUR), ovvero tutto ciò che, del rifiuto, rimane a valle della raccolta differenziata, generi:

- 0,180 kg di ceneri pesanti deferrizzate (riutilizzabili)
- 0,080 kg di polveri inertizzate da smaltire in discarica

- 7 kg di prodotti di combustione (fumi), di cui:
  - 6,9995 kg di CO<sub>2</sub>, vapore acqueo, O<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>
  - 0,0005 kg di inquinanti (N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, CO, SO<sub>3</sub>, HCl, etc.)
  - 0,000001 kg di polveri ultrasottili (0,001 g)
- 2.400 kilocalorie = ~ 10 MJoules

In assenza di controllo delle emissioni, gli inquinanti sarebbero 10-20 g per kg di RUR e le polveri 10-40 g per kg. L'emissione di diossine è 300 volte inferiore a quella di un caminetto domestico (0,005-0,15 g vs 1-30x 10<sup>-6</sup>g per tonnellata) e contribuisce in maniera infinitesimale al valore di fondo nell'area di un grande impianto, così come la concentrazione di polveri ultrasottili (PU) per cm<sup>3</sup> è molte migliaia di volte inferiore a quella dagli impianti di riscaldamento e del traffico veicolare su gomma. Nelle ceneri, da smaltire nelle discariche controllate, sono presenti tracce di metalli come alluminio, ferro, silicio, magnesio, piombo, ma questi sono in rapporto inverso alla qualità della raccolta differenziata. Inoltre, il calore generato nella combustione può essere utilizzato per produrre vapore, che a sua volta, può essere impiegato per il riscaldamento, attività industriali, produzione di elettricità e/o calore (cogenerazione). In sintesi la sostenibilità di un sistema di questo tipo poggia su due pilastri essenziali:

- *recupero di materia* attraverso la riduzione complessiva della produzione di rifiuti, raccolta differenziata, riutilizzo, riduzione dei RUR;
- *recupero di energia* con una miglior efficienza/rendimento degli impianti e un abbattimento delle emissioni nocive.

I dati piuttosto rassicuranti enunciati dai precedenti relatori non esimono la comunità scientifica da una valutazione attenta e documentata del rischio sanitario da smaltimento dei rifiuti, che rimane un obiettivo impegnativo e stimolante in tutti i paesi europei, con importanti implicazioni per la salute umana, il benessere e la tutela dell'ambiente. Questa tematica è stata affrontata dal Dr. Pietro Comba, Direttore del Reparto di Epidemiologia Ambientale, Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto

Superiore di Sanità (ISS), presentando *“Le evidenze sulla salute che emergono dagli studi epidemiologici nella gestione dei rifiuti”*. Alcuni studi epidemiologici pubblicati dal 1999 al 2014, riguardanti popolazioni residenti in aree adiacenti ad impianti di smaltimento, discariche e/o inceneritori di vecchia generazione, forniscono dati suggestivi ma non conclusivi su un aumento di incidenza di patologie neoplastiche, linfomi non Hodgkin e delle parti molli, patologie croniche cardiocircolatorie e respiratorie e difetti della riproduzione. Come riportato anche dal *Meeting Report* dell'OMS del novembre 2015, il rispetto di norme più stringenti nella gestione dei rifiuti ha portato a progressi significativi: 1) riduzione delle emissioni totali da inceneritore di 3-4 volte a partire dagli anni '80; 2) riduzione del rilascio di particolato e metalli e 3) riduzione di quattro ordini di grandezza delle diossine a partire dagli anni 2000. Tuttavia, le possibili implicazioni sulla salute pubblica vengono tutt'ora monitorizzate da un'apposita Commissione Europea (*European Environment and Health Process - EHP*) e i risultati di tali indagini sono riferite nelle conferenze indette ogni cinque anni dai vari ministeri e coordinate dall'OMS. È evidente che la sorveglianza sanitaria in materia richiede un monitoraggio continuo delle emissioni inquinanti, un bio-monitoraggio permanente della popolazione esposta e, non meno importante, risorse adeguate per l'implementazione di metodi di ricerca.

*“La valutazione dell'esposizione a inquinanti organici persistenti nella popolazione residente nei pressi di un termovalorizzatore: gli studi di bio-monitoraggio”* è stato l'argomento affrontato dalla Dr.ssa Elena De Felip, Direttore del Reparto di Chimica Tossicologica, afferente al Dipartimento Ambiente e Salute dell'ISS.

Le maggiori preoccupazioni per le popolazioni residenti in prossimità di impianti di incenerimento sono legate all'emissione di sostanze organiche ad elevata tossicità, quali policloro-dibenzo-diossine (PCDD), policloro-dibenzo-furani (PCDF), policloro-bifenili (PCB) e idrocarburi policiclici aromatici (IPA). PCDD e PCDF, comunemente indicati

come diossine, e PCB sono caratterizzati da elevata tossicità, persistenza ambientale, concentrazione negli organismi viventi ed amplificazione nella catena alimentare; infatti, l'esposizione avviene in misura superiore al 90% attraverso gli alimenti, trascurabile è la via inalatoria. Anche per gli IPA, idrocarburi costituiti da due o più anelli aromatici condensati, presenti nell'ambiente in miscele complesse di centinaia di composti, la via alimentare rappresenta la più importante via di esposizione, soprattutto per i composti a maggiore tossicità. Lo strumento più efficace per valutare l'esposizione umana a inquinanti ambientali ed effettuare un adeguato risk assessment è rappresentato dal bio-monitoraggio, che fornisce una misura della reale "dose interna" risultante da tutte le possibili vie e fonti espositive.

Numerosi sono gli studi di bio-monitoraggio condotti negli ultimi 15 anni in vari Paesi europei (Portogallo, Francia) in popolazioni residenti intorno a impianti di incenerimento. Con l'eccezione di alcuni studi che hanno rilevato un contenuto incremento dei livelli ematici nei residenti intorno a inceneritori di vecchia generazione che consumavano alimenti di produzione locale/propria, un'associazione tra livelli ematici nei residenti e residenza in prossimità di inceneritori generalmente non è stata osservata. Un contributo particolarmente importante alla valutazione dell'impatto sulla salute umana delle emissioni da inceneritori è atteso da uno studio in corso a Torino. Lo studio (SPoTT "Sorveglianza sulla salute della Popolazione nei pressi del Termovalorizzatore di Torino" [www.dors.it/spott/](http://www.dors.it/spott/)) è un programma di monitoraggio che nasce per volontà della Provincia di Torino a seguito della costruzione di uno dei più grandi impianti per la combustione di rifiuti presenti in Europa. Include la valutazione delle concentrazioni di diossine, PCB e IPA in un gruppo di residenti in prossimità dell'impianto e in un gruppo di controllo, effettuata prima dell'avvio dell'impianto, e dopo 1-2 anni di funzionamento dello stesso.

### Considerazioni degli Autori

Toscana Medica (n. 5/2016) ha già dedicato al tema una sezione "Ambiente e Salute" con l'intervento di autorevoli esperti regionali. Ci pare che le loro conclusioni siano in linea con quelle dei relatori che hanno partecipato al Convegno del quale abbiamo riferito e che sentitamente ringraziamo per la loro partecipazione. In particolare l'articolo del Dr. Francesco Cipriani, Direttore dell'Agenzia Regionale di Sanità (*la valutazione dello stato di salute della popolazione residente nell'area della piana, confrontato con quello di chi risiede nelle zone fiorentine intorno alla piana, ha evidenziato poche criticità*), e quello del Dr. Giuseppe Petrioli, Direttore del Dipartimento di Prevenzione dell'Azienda Sanitaria di Firenze (*...procedere con giudizio e monitorare attentamente*) non differiscono nelle loro conclusioni da quanto riportato. Pur condividendo le considerazioni della D.ssa Patrizia Gentilini del Comitato Scientifico dell'ISDE (*...una piana troppo piena...*) sulle difficoltà di separare gli effetti sanitari dovuti alla gestione dei rifiuti dal rumore di fondo derivante da altre fonti di inquinamento ambientale (traffico autostradale ed aeroportuale), vorremmo concludere con le dichiarazioni rilasciate alla stampa (Corriere Fiorentino, 14/6/2016) dalla D.ssa Loredana Musumeci, Direttrice del Dipartimento Ambiente e Prevenzione dell'ISS: *"non voglio certo dire che le emissioni degli inceneritori non siano inquinanti. Ma tra gli impianti di vecchia e di nuova generazione c'è una differenza evidente, e negli impianti di nuova generazione le emissioni sono ridottissime... la correlazione tra inceneritori e tumori esiste ma riguarda i vecchi impianti. Gli impianti moderni inquinano meno del traffico"*.

### Disponibilità di antidoti sul territorio nazionale

**Eleonora Buscaglia, Giulia Scaravaggi**  
*Centro Antiveleni di Pavia – Centro Nazionale di Informazione Tossicologica, ICS Maugeri, Pavia*

Dal punto di vista clinico-tossicologico, gli antidoti sono sostanze che, con meccanismo specifico o aspecifico, consentono il

miglioramento della prognosi *quoad vitam* o *quoad functionem* dell'intossicazione. Alcuni di essi sono farmaci salvavita poiché costituiscono l'unica terapia in grado di modificare drasticamente il decorso clinico e la prognosi di gravi intossicazioni (es. Fab antidogossina, idrossocobalamina, glucagone, atropina). Altri hanno un ruolo determinante nella gestione del paziente intossicato anche quando vengono utilizzati nel contesto di trattamenti plurifarmacologici, contribuendo inoltre al contenimento delle risorse mediche altrimenti necessarie per la cura di un paziente intossicato.

Nel trattamento delle intossicazioni acute vengono spesso utilizzati anche farmaci non registrati come antidoti e/o impiegati a dosi diverse da quelle riportate sul foglietto illustrativo (uso *off-label* rispetto alle indicazioni registrate). Tali dosi possono: a) generare effetti farmacologici diversi e/o aggiuntivi rispetto a quelli sviluppati alle dosi usuali (es. per attivazione di vie metaboliche alternative o inducibili); b) causare l'insorgenza di effetti collaterali poco noti; c) conferire al farmaco un profilo cinetico completamente diverso; d) causare interazioni cinetiche e metaboliche significative con altri farmaci.

L'uso degli antidoti e l'impiego antidotico *off-label* di farmaci non può quindi basarsi solo sulle informazioni riportate sul foglietto illustrativo, ma necessita di un'appropriata prescrizione medica; in particolare, lo specialista del Centro Antiveneni (CAV) assume un ruolo fondamentale per l'approfondita conoscenza di tutte le problematiche non comuni connesse all'impiego di antidoti. L'indicazione all'uso di antidoti può essere basata sul solo quadro clinico, sul solo dato anamnestico della sostanza implicata, sul dato anamnestico in associazione al quadro clinico, oppure può richiedere il preventivo accertamento mediante esami tossicologici che documentino il tipo e/o la gravità dell'intossicazione.

Condizioni essenziali per l'impiego corretto e ottimale degli antidoti sono la pronta disponibilità nei servizi d'emergenza del Sistema Sanitario Nazionale (SSN) e la presenza in quantità adeguata.

### Survey antidoti

L'Accordo Stato-Regioni del 2008 (Riconoscimento dei Centri Antiveneni e loro integrazione nei Sistemi Sanitari Regionali e Nazionale, 28.02.2008) indica esplicitamente che "il monitoraggio del fabbisogno e la valutazione di efficacia e sicurezza degli antidoti impiegati nei Sistemi Sanitari Nazionale e Regionali" costituisce una delle funzioni e attività specifiche dei CAV.

È noto da studi effettuati in diversi Paesi (inclusi Stati Uniti, Canada, UK, Francia, Spagna) che spesso antidoti importanti non sono disponibili o lo sono in quantità insufficiente, anche in ospedali di riferimento nazionali o regionali. In Italia il CAV di Pavia ha effettuato, in collaborazione con il Ministero della Salute, due indagini (2003 e 2012) per valutare e migliorare la disponibilità di antidoti su scala nazionale.

Nel 2012, è stato inviato un questionario ai servizi d'emergenza (Pronto Soccorso, Rianimazione, 118, Centro Antiveneni) e alle farmacie di tutti gli ospedali italiani relativamente a 94 antidoti/farmaci utilizzati a scopo antidotico. Sono pervenute risposte da 192 servizi d'emergenza e 155 farmacie ospedaliere con informazioni esaustive riguardanti 23 antidoti: acido folico, fisostigmina, carbone vegetale attivato, etanolo, fomepizolo, amile nitrito, sodio tiosolfato, idrossocobalamina, dicobalto edetato, pralidossima, frammenti anticorpali (Fab) antivipera e antidogossina, glucagone, N-acetilcisteina (NAC), blu di metilene, blu di prussia, PEG 400, DMSA (succimer), DMPS (unitiolo), Ca-DTPA/Zn-DTPA (dietilentriaminopentaacetato di calcio e zinco), BAL (dimercaprolo), vitamina C. Le carenze principali sono risultate relative ad alcuni antidoti esteri e quindi più difficilmente reperibili in Italia: DMSA, DMPS, Ca-DTPA/Zn-DTPA in Pronto Soccorso e fomepizolo, dicobalto edetato, DMPS e Ca-DTPA/Zn-DTPA nelle Rianimazioni. Per confronto con i dati raccolti nella survey del 2003 [Locatelli *et al.* Ann Ist Super Sanita, 2006], si è evidenziato un aumento della disponibilità di fomepizolo, sodio tiosolfato, idrossocobalamina e glucagone nei Pronto Soccorso e di idrossocobalamina

e glucagone nelle Rianimazioni. Per quanto riguarda invece NAC, pralidossima e Fab antidigossina è stata registrata una minore disponibilità. Questo è probabilmente dovuto a difficoltà di approvvigionamento (Fab antidigossina) e alla disponibilità di tali antidoti (pralidossima e NAC) negli stockpile strategici per il terrorismo dislocati su tutto il territorio nazionale. Considerando la dose raccomandata per il trattamento di un'intossicazione in un paziente adulto (100 Kg) per 24 h, si è evidenziata una drastica riduzione della percentuale di ospedali con un quantitativo adeguato di antidoto.

Come tutte le ricerche scientifiche effettuate nel mondo hanno dimostrato, la corretta dotazione di antidoti rimane ancora un problema comune nei sistemi sanitari di tutti i paesi sviluppati: carenze di disponibilità, di conoscenze e di tempestivo impiego sono causa di inappropriata delle cure, e ogni singola struttura sanitaria non sembra oggi in grado di poter organizzare e disporre di tutte le risorse antidotiche che possono essere necessarie nelle diverse tipologie di intossicazioni. Tuttavia, le due indagini effettuate dal Centro Antiveneni di Pavia, unitamente alla continua attività formativa sugli antidoti e sul loro impiego, sembrano aver comunque contribuito a migliorare le conoscenze su questi presidi medici fondamentali e a migliorarne la disponibilità sul territorio nazionale.

Pertanto, in accordo con il Ministero della Salute - Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria, il CAV di Pavia sta nuovamente avviando un programma di monitoraggio della disponibilità degli antidoti nel SSN, al fine di aumentare sempre di più la presenza capillare degli antidoti in tutti gli ospedali del territorio nazionale, anche in un'ottica di ottimizzazione delle risorse sanitarie.

### **Banca Dati Nazionale degli Antidoti (BaNDA)**

Uno dei risultati pratici derivante dall'attività di monitoraggio degli antidoti prevista dall'Accordo Stato-Regioni del 2008 è stato la creazione della Banca dati Nazionale degli Antidoti (BaNDA), un database on-line ([www.cavpavia.it](http://www.cavpavia.it)) che riporta tutti gli

antidoti disponibili in ogni singolo servizio ospedaliero del territorio nazionale che intenda condividere tali dati. La BaNDA è stata creata per rendere accessibile a tutte le strutture sanitarie del SSN l'informazione su tipologia e quantità di antidoti presenti sul territorio nazionale, regionale e provinciale (specie per quelli di impiego più raro e costo elevato). Questo database è stato creato nel 2006 sulla base dei dati raccolti dalla prima survey antidoti condotta dal CAV di Pavia nel 2003.

Un adeguato approvvigionamento e un'adeguata gestione delle singole scorte per la cura ottimale di ogni paziente non possono essere affrontati in modo separato da ogni Regione o da ogni azienda sanitaria: recenti esperienze in tal senso hanno dimostrato scarsa efficacia e ridotte performance, rispetto a modelli sovraregionali. Solo un sistema unico e centralizzato può oggi consentire una reale copertura antidotica a livello di ogni struttura ospedaliera del SSN e di tutti i Sistemi Sanitari Regionali.

L'accesso autorizzato alla banca dati consente on-line di (a) comunicare la propria disponibilità di antidoti, (b) aggiornare i dati relativi a tipo e quantità di antidoti presenti nel proprio servizio/dipartimento, oppure (c) effettuare ricerche per identificare gli antidoti disponibili (e la relativa quantità) nelle strutture che aderiscono alla banca dati effettuando la ricerca per città, province o regioni più vicine. Questo permette di reperire rapidamente in urgenza l'antidoto necessario al trattamento del paziente e di ottimizzare l'approvvigionamento dei farmaci.

Alla BaNDA attualmente partecipano più di 450 servizi (CAV, PS-medicina d'urgenza, rianimazioni, 118, farmacie ospedaliere) presenti in circa 220 strutture sanitarie di tutte le regioni (corrispondenti a circa il 35-40% degli ospedali dotati di strutture d'urgenza del territorio nazionale).

### **Guida Antidoti**

Oltre alle attività già rese disponibili agli ospedali e agli operatori del SSN (consulenza specialistica h24, Banca Dati Nazionale Antidoti, disponibilità di uno stockpile

completo e consistente con fornitura di antidoti in urgenza, formazione specifica e aggiornamento scientifico continuo, monitoraggio della disponibilità di antidoti in Italia), il CAV di Pavia ha predisposto una guida all'uso clinico e all'approvvigionamento degli antidoti.

La guida, disponibile gratuitamente e costantemente aggiornata anche on-line sul sito [www.cavpavia.it](http://www.cavpavia.it), è un documento pratico creato per fornire agli operatori sanitari sia indicazioni per il pronto e rapido utilizzo degli antidoti in urgenza, sia una guida ragionata all'approvvigionamento antidotico in ambito pre-ospedaliero e ospedaliero. La guida comprende indicazioni su antidoti utili anche nei settori delle emergenze chimiche industriali e non convenzionali. Nella guida sono stati inclusi farmaci non sempre classificati come antidoti, quali (a) molecole utili per contrastare gli effetti di farmaci (es. stravano di antineoplastici) e veleni o per patologie/carenze enzimatiche, (b) vaccini e immunoglobuline, nonché (c) farmaci che vengono utilizzati nel trattamento delle intossicazioni acute in dosi assolutamente inusuali per le patologie organiche, indipendentemente dalla categoria assegnata in Farmacopea Ufficiale (impieghi *off-label*).

Gli antidoti riportati nella Guida sono suddivisi in classi di priorità di utilizzo, in base a efficacia, sicurezza e urgenza d'impiego: priorità 1 = il farmaco deve essere disponibile entro 30 minuti (quindi presente in tutti i servizi di emergenza); priorità 2 = il farmaco deve essere disponibile entro 2 ore (quindi può essere disponibile nelle farmacie ospedaliere - operative h 24 o con reperibilità - oppure presso servizi clinici d'urgenza di ospedali di riferimento); priorità 3 = il farmaco deve essere disponibile entro 6 ore (ospedali di riferimento regionale/sovraregionale, centri antiveleni); priorità 4 = la disponibilità di questi antidoti può essere superiore alle 6 ore e/o può essere sufficiente a livello sovraregionale oppure possono essere centralizzati in un unico servizio a livello nazionale.

Il criterio utilizzato per identificare la dotazione necessaria di antidoti integra quanto indicato relativamente agli antidoti dalla Risoluzione CEE del 3 dicembre 1990

[Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee, C 329/6 del 31.12.90], i dati della letteratura scientifica degli ultimi 10 anni, e l'esperienza clinica del CAV di Pavia.

Nella Guida sono anche riportati i nomi e le indicazioni di alcuni farmaci orfani o di raro impiego che potrebbero essere utili/necessari per la gestione in urgenza di malattie rare, nonché di presidi difficilmente reperibili. Informazioni sulla singola molecola potranno essere richieste, in caso di necessità, al CAV di Pavia.

Questi strumenti (BaNDA, Guida Antidoti) sono stati creati in linea con gli obiettivi del Ministero della Salute e dell'International Programme on Chemical Safety dell'OMS e hanno un impatto rilevante nell'ambito del miglioramento dell'appropriatezza delle cure e dell'ottimizzazione delle risorse sanitarie. Pertanto il CAV di Pavia implementa costantemente l'aggiornamento e l'attività di formazione/informazione relativi a questi modelli nazionali di disponibilità di antidoti.

Seguici su Facebook  e Twitter 

**SITOX Informa** è scaricabile online.  
Visita il nostro sito [www.sitox.org](http://www.sitox.org)

**SITOX INFORMA** - Periodico della Società Italiana di Tossicologia Fondata nel 1967  
Riconosciuta con DPR 16/05/1972, n. 376 - C.F.: 96330980580  
Iscritta Registro Persone Giuridiche Prefettura di Milano n. 3512 pag. 606 vol. II  
Anno XX n. 1 - Maggio 2017

Direttore Responsabile: Sarah Vecchio

Comitato Editoriale: Isabella Andreini, Emanuela Corsini, Elena De Felip, Ivano Eberini, Marco Pivato, Aurelia Tubaro  
Segreteria Editoriale: Ida Ceserani

**CONSIGLIO DIRETTIVO**

Presidente: Patrizia Hrelia

Presidente Eletto: Corrado Lodovico Galli

Consiglieri: Isabella Andreini, Primo Botti, Orazio Cantoni, Angelo Moretto, Michele Navarra, Sarah Vecchio

Segretario: Francesca Maffei

Past President: Carlo Alessandro Locatelli

Sede Legale & Sede Operativa: Via Giovanni Pascoli, 3 - 20129 Milano - Tel 02 29520311 - Fax 02 700590939 - E-mail: [sitox@comm2000.it](mailto:sitox@comm2000.it) - Sito Internet: <http://www.sitox.org>

Impaginazione e stampa: RBS Graphic Productions - Torino

SITOX Informa - Registrazione del Tribunale di Milano, N. 332 del 31.05.97