



Centro Tematico Regionale di Epidemiologia Ambientale

Via S. M. Crocifissa di Rosa – OSPEDALE

37067 – VALEGGIO s/M (VR)

Tel. 045-6338537 – 045-6338657 – 045-6338698

Fax 045-6338659

Sito Internet: www.ulss22.ven.it/context.jsp?ID_LINK=1148&area=7

E-mail: epidemiologia@ulss22.ven.it

POLVERI ULTRAFINI ED EFFETTI SULLA SALUTE

Il presente documento è stato redatto, su mandato della Direzione Regionale per la Prevenzione nell'ambito dell'attività del Gruppo di lavoro sugli "Effetti sulla salute dei processi di combustione originati da combustibili fossili", dal Centro Tematico Regionale di Epidemiologia Ambientale, la cui conduzione è affidata al Servizio di Epidemiologia dell'ULSS n.22 della Regione Veneto.

<i>Dott. Gianstefano Blengio</i>	<i>Direttore Scientifico del Centro Tematico Regionale di Epidemiologia Ambientale</i>
<i>Dott. Salvatore Falcone</i>	<i>Dirigente Medico - Servizio di Epidemiologia ULSS n.22</i>
<i>Dott.ssa Cristiana Pasqualetto</i>	<i>Medico in formazione specialistica - Scuola di specializzazione in Igiene e Medicina Preventiva Università di Verona</i>
<i>Dott.ssa Paola Sartori</i>	<i>Dirigente Medico - ULSS n.22</i>

POLVERI ULTRAFINI ED EFFETTI SULLA SALUTE

GLI EFFETTI SANITARI DELL'ESPOSIZIONE AL PARTICOLATO

Dalla rassegna storica della letteratura emerge un ampio consenso sul ruolo causale dell'inquinamento atmosferico nei centri urbani nei confronti di diversi effetti sulla salute.

L'Ufficio Europeo dell'Organizzazione Mondiale della Sanità ha recentemente affermato che l'impatto, in termini di effetti sanitari avversi, attribuibile all'inquinamento atmosferico da particolato (con particolare riferimento a PM₁₀ e PM_{2.5}) costituisce una delle principali preoccupazioni in termini di interazioni ambiente-salute¹. Gli aspetti relativi ai diversi effetti sanitari a breve e lungo termine attribuibili a tale inquinamento sono stati esaminati in dettaglio in un precedente documento dello scrivente Centro². I più recenti studi³ e rassegne⁴ sull'argomento rafforzano ulteriormente l'evidenza di numerosi effetti avversi associati all'inquinamento atmosferico, in termini di riduzione dell'aspettativa di vita, di incremento della mortalità per cardiopatia ischemica ed altre patologie cardiovascolari e polmonari, di aumento dei ricoveri ospedalieri per le stesse patologie ed altro.

Gli effetti sanitari sono stati stimati, nei diversi studi condotti, utilizzando appropriati indicatori-surrogato del mix di inquinanti presenti nell'aria. Gli inquinanti di maggiore interesse sanitario sono il particolato, nelle sue diverse frazioni (PM₁₀, PM_{2.5}, etc.), gli ossidi di azoto e di zolfo, il benzene e gli idrocarburi policiclici aromatici.

Un indicatore fra i più utilizzati, quale surrogato della misurazione del complesso mix di particelle e gas che generano l'inquinamento atmosferico nei centri urbani, è il PM₁₀. L'obbligo di monitoraggio del PM₁₀, quale indicatore della presenza di particolato atmosferico, è sancito dal DM 2 aprile 2002, n. 60: "Recepimento della direttiva 1999/30/CE del Consiglio del 22 aprile 1999 concernente i valori limite di qualità dell'aria

ambiente per il biossido di zolfo, il biossido di azoto, gli ossidi di azoto, le particelle e il piombo...”.

Tuttavia le più recenti indicazioni della letteratura scientifica sull’argomento tendono a definire come più appropriate misurazioni atte a rilevare frazioni granulometriche inferiori, variamente denominate (polveri fini ed ultrafini, queste ultime denominate anche polveri ultrasottili, nanopolveri, etc..)

In analoga direzione si sta conseguentemente orientando anche la legislazione comunitaria, intervenuta sull’argomento con decisione della Commissione CE del 16 gennaio 2003 avente per oggetto la definizione di un metodo di riferimento provvisorio per il campionamento e la misurazione delle PM_{2.5} in applicazione della direttiva 1999/30/CE. Sebbene il PM₁₀ sia ancora la misurazione più diffusamente riportata ed anche l’indicatore di rilievo per la maggior parte dei dati epidemiologici, le Linee Guida dell’OMS per la Qualità dell’aria⁵ per il particolato sono oggi per lo più basate su studi che utilizzano come indicatore più appropriato il PM_{2.5}. I valori di PM_{2.5} delle linee guida sono convertiti nei corrispondenti valori di PM₁₀ mediante l’applicazione di un rapporto PM_{2.5}/ PM₁₀ pari a 0.5. Tale rapporto risulta tipico per le aree urbane di un Paese in via di sviluppo, mentre è al limite inferiore dell’intervallo riscontrato nelle aree urbane di un Paese industrializzato (0.5-0.8). Quando si stabiliscono standard locali sulla base di dati effettivamente rilevati, può essere ricavato uno specifico valore per questo rapporto, tale da rispecchiare meglio le condizioni locali.

Molti studi, condotti specialmente negli USA, hanno documentato che è specialmente la frazione fine (PM_{2.5}) ad essere associata con effetti sanitari avversi; sulla base di tali considerazioni l’EPA (Environmental Protection Agency) ha deciso di stabilire valori standard anche per il PM_{2.5}⁶

Analogamente, anche l’OMS ha recentemente aggiornato⁵ i valori-guida per il particolato, proponendo i seguenti valori-obiettivo:

PM _{2.5} :	10 µg/m ³ media annuale 25 µg/m ³ media nelle 24 ore
PM ₁₀ :	20 µg/m ³ media annuale 50 µg/m ³ media nelle 24 ore

ed i seguenti valori intermedi (media annuale):

	PM ₁₀ µg/m ³	PM _{2.5} µg/m ³	Razionale per il livello selezionato *
Obiettivo intermedio 1	70	35	Tali livelli sono associati ad un rischio relativo di mortalità a lungo termine di circa il 15% maggiore rispetto ai valori-obiettivo
Obiettivo intermedio 2	50	25	In aggiunta agli altri benefici sanitari, questi livelli abbassano il rischio di mortalità prematura di circa il 6% (2-11%) rispetto all'obiettivo intermedio 1
Obiettivo intermedio 3	30	15	In aggiunta agli altri benefici sanitari, questi livelli riducono il rischio di mortalità di circa il 6% (2-11%) rispetto all'obiettivo intermedio 2

*Linee guida OMS sulla qualità dell'aria ed obiettivi intermedi per il particolato: concentrazioni medie annuali.*⁵

Considerata la sostanziale variabilità inter-individuale nell'esposizione e nella relativa risposta, oltre che l'assunzione di linearità senza soglia della funzione esposizione-risposta, è unanimemente riconosciuto che nessuno standard o linea guida può garantire una assoluta e totale protezione dell'intera popolazione dagli effetti avversi prodotti dal particolato. È invece possibile comparare diversi scenari di contenimento del rischio e quantificare il rischio residuo associato ad uno specifico valore target. I valori obiettivo proposti rappresentano il limite inferiore del range oltre il quale in letteratura si evidenziano effetti significativi sulla salute e sono espressi come valore medio annuale e valore medio nelle 24 h. Il primo è abitualmente utilizzato con riferimento ad eccessi di rischio in termini di morbosità e mortalità per esposizioni a lungo termine, il secondo per esposizioni di breve durata.

La recente Direttiva Europea relativa alla qualità dell'aria ambiente⁷ prevede che, nelle aree urbane, gli Stati membri riducano mediamente del 20% l'esposizione al PM_{2,5} entro il 2020 rispetto ai valori del 2010, obbligandoli a portare i livelli di esposizione in queste zone al di sotto di 20 µg/m³ nel 2015. A livello dell'intero territorio nazionale, gli Stati membri dovranno rispettare il valore limite di 25 µg di PM_{2,5}/m³, da raggiungere obbligatoriamente entro il 2015 e, se possibile, già nel 2010.

La letteratura è concorde nell'attribuire fondamentale importanza ai metodi di monitoraggio e -conseguentemente- di stima dell'esposizione, ai fini di una corretta valutazione della funzione esposizione-risposta per la caratterizzazione del rischio sanitario correlato agli inquinanti aerodispersi.

La valutazione dell'esposizione all'inquinamento atmosferico utilizzando solo i valori delle concentrazioni medie urbane può condurre ad una sottostima del 'carico' di effetti

* È da preferire l'utilizzo del valore di PM_{2,5}

sanitari avversi attribuibili a concentrazioni più elevate degli inquinanti rilevabili in prossimità delle sorgenti, con particolare riferimento alle strade ad elevata densità di traffico veicolare ed al contributo delle polveri fini ed ultrafini^{8,9,10}. L'esposizione all'inquinamento può variare, anche all'interno di una stessa città, seguendo una distribuzione spaziale con gradienti anche rilevanti.

In uno studio condotto da Jerrett et al.¹¹ nell'area di Los Angeles, gli effetti sanitari cronici rilevati considerando i gradienti intraurbani di esposizione al PM_{2.5} sono risultati consistentemente più elevati rispetto a quanto precedentemente riportato dagli studi che hanno utilizzato il contrasto tra valori di concentrazioni medie in aree urbane diverse. Tale studio ha altresì confermato l'importanza degli effetti 'di contesto' socio-economico, le cui variazioni spesso riproducono i gradienti di cui sopra; è possibile infatti che i residenti in quartieri od aree caratterizzate da livelli socio-economici meno elevati si trovino a vivere più vicino alle sorgenti di inquinamento industriale od a strade ad elevata densità di traffico veicolare.¹² Lo studio ha evidenziato infine una consistente specificità di tali effetti sanitari, risultando più forte l'associazione tra inquinamento atmosferico e mortalità per infarto miocardico rispetto alla mortalità per cause cardiovascolari generali o polmonari, o a tutte le altre cause.

I risultati di questo ed altri studi^{13,14} sottolineano la necessità di un'accurata rappresentazione dei gradienti spaziali (oltreché temporali) di concentrazione degli inquinanti atmosferici anche all'interno delle stesse aree urbane (vedi fig. n. 1) al fine di consentire una stima corretta dell'esposizione.

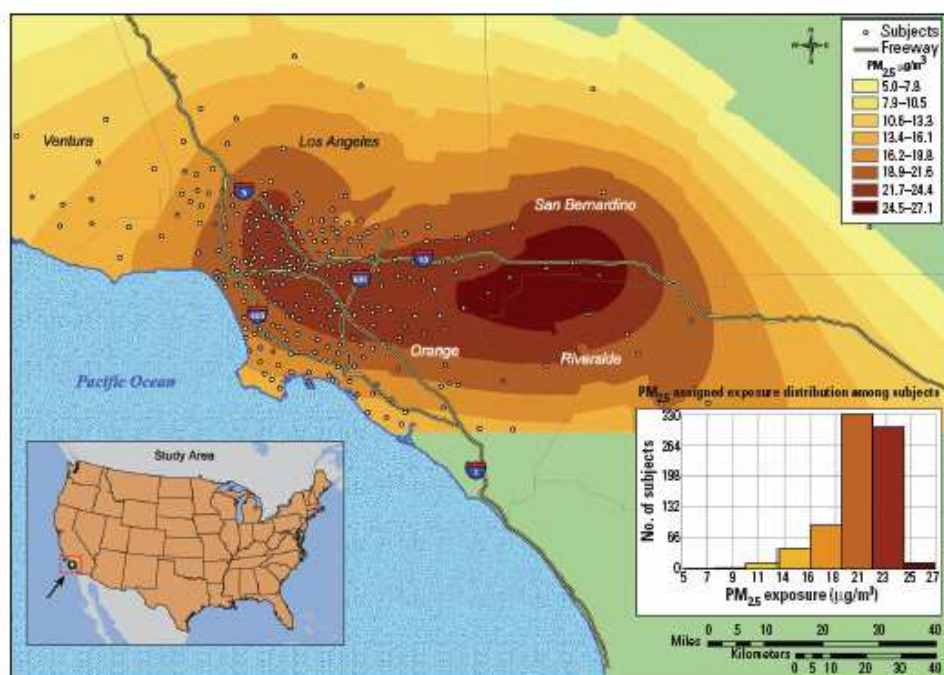


Fig. n. 1: (Fonte: Kunzli - Jerrett M et al¹⁵)

In particolare, l'utilizzo combinato di misure di monitoraggio su scala spaziale appropriata e di tecniche modellistiche che utilizzino misure dirette o surrogate dell'intensità del traffico veicolare e la distanza dalle strade consente di predire in modo soddisfacente i gradienti di esposizione a cui si è fatto riferimento.¹⁶

LE POLVERI ULTRAFINI

Definizione

Il 'particolato' è un inquinante aereo consistente in una miscela di particelle solide e liquide sospese nell'aria. Tali particelle sospese variano in dimensione, composizione ed origine. Le particelle sono spesso classificate in base alle loro proprietà aerodinamiche, poiché tali proprietà:

- regolano la diffusione e la rimozione delle polveri dall'aria;
- governano la loro deposizione nell'albero respiratorio;
- sono associate alla loro composizione chimica ed alle fonti di provenienza.

Tali proprietà sono convenientemente riassunte nel diametro aerodinamico (quello di una sfera di densità unitaria avente le stesse caratteristiche aerodinamiche della particella); le polveri sono quindi abitualmente quantificate (e più precisamente 'pesate', con metodo gravimetrico) in termini di concentrazione di massa ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), con riferimento al loro diametro aerodinamico, comunemente definito, in modo più semplice, "dimensione della particella".

Il particolato presente negli ambienti urbani è comunemente distinto in due gruppi principali: polveri grossolane e polveri fini. Il confine 'dimensionale' tra questi due gruppi generalmente si colloca fra 1 e 2.5 μm . Di fatto, il limite tra le polveri grossolane e quelle fini è di solito convenzionalmente stabilito, per uniformità di misurazione, nel diametro aerodinamico di 2.5 μm .

Le classi dimensionali attualmente più utilizzate sono le seguenti:

- PTS (polveri totali sospese), comprendenti tutto il particolato aerodisperso;
- PM_{10} , con riferimento a polveri di diametro aerodinamico inferiore a 10 μm ;
- $\text{PM}_{2.5}$ (polveri fini), con riferimento a polveri di diametro aerodinamico inferiore a 2.5 μm ;

Il termine polveri ultrafini, più recentemente introdotto, si riferisce a particelle con diametro aerodinamico inferiore a 0.1 μm (100 nm).¹⁷

Le dimensioni delle polveri ultrafini sono paragonabili a quelle delle molecole biologiche, mentre risultano di gran lunga superiori rispetto a quelle degli atomi e

notevolmente inferiori rispetto ai globuli rossi umani o ai macrofagi alveolari umani. (Tab. 1).

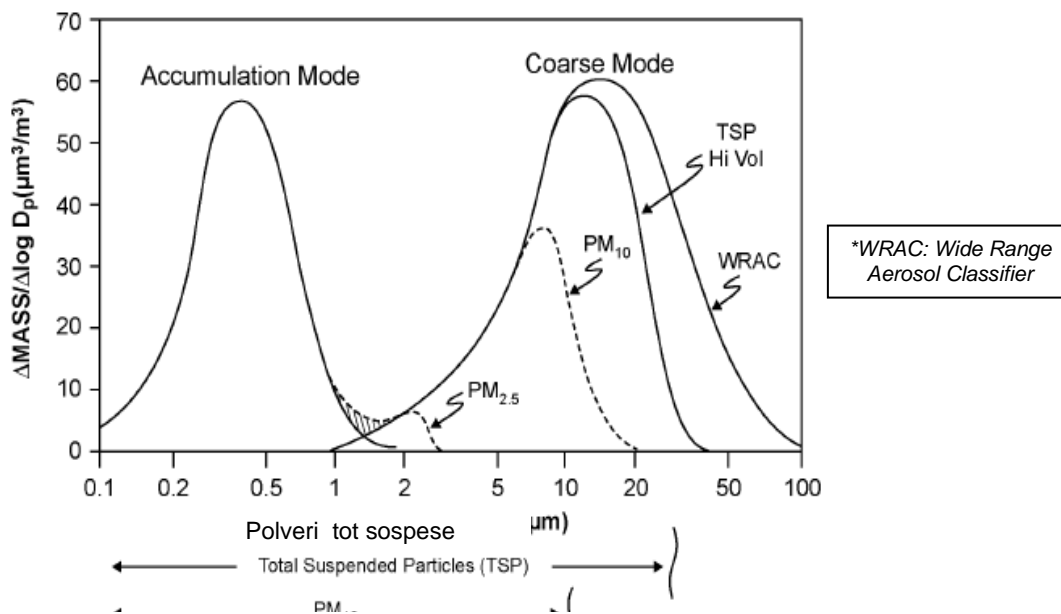
Tab. 1: Dimensioni a confronto

Oggetto	Dimensione/diametro (nm)
Singoli atomi	0.1-0.3
Molecole semplici	0.4-1.0
Molecole grandi biologiche	70-100
DNA	117
Aerosol fine	100-1000
Globuli rossi umani	7000-8000
Macrofagi alveolari umani	21000

Caratteristiche fisiche

La figura 2 mostra la distribuzione schematica del particolato, riferita ai diversi componenti per diametro aerodinamico

Fig. 2: Distribuzione dei diversi componenti del particolato¹⁸



Legenda: Quantificazione del particolato con metodo gravimetrico mediante campionatore WRAC che raccoglie l'intero range di particolato sospeso. Contributo delle polveri, distinte per misura del diametro aerodinamico, alla massa totale del particolato.

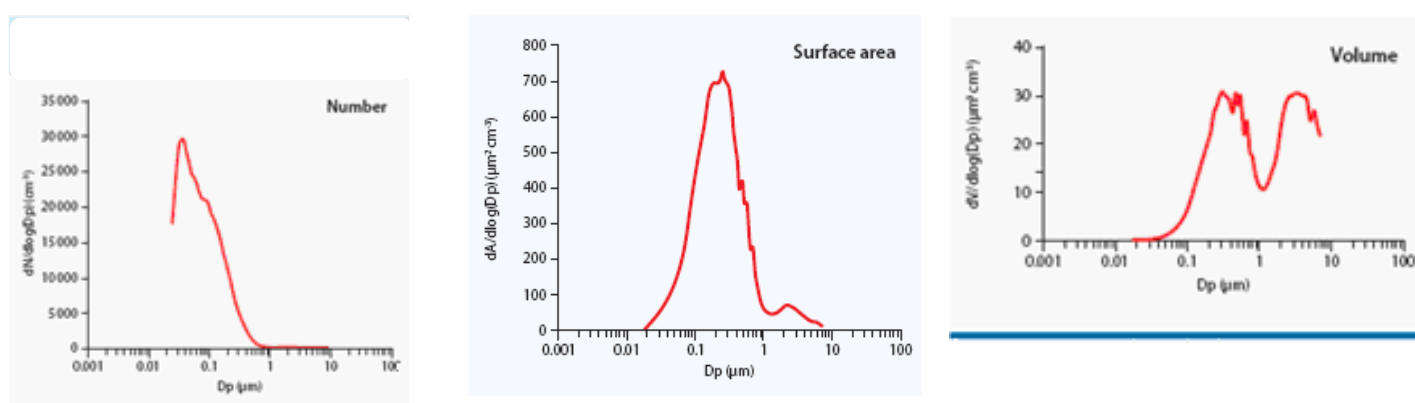
Coarse mode (particolato grossolano): particelle con diametro aerodinamico > 3 μm, prevalentemente formate da processi meccanici quali l'erosione del suolo o di detriti organici.

Accumulation mode: particelle fini, di diametro compreso tra 0.1 μm e 2 μm, prodotte in prevalenza da processi di coagulazione (fusione di particelle ultrafini) o condensazione (condensazione di particelle gassose su nucleo-particelle già formate).

Ponendo l'attenzione sulla componente relativa alle polveri ultrafini, diviene rilevante osservare parametri diversi dal diametro aerodinamico, quali la concentrazione numerica delle particelle e l'area superficiale.

Invero, le polveri ultrasottili contribuiscono solo in minima parte a determinare la massa del PM₁₀ o del PM_{2.5}, quantificata con il metodo gravimetrico (vedi fig. 2), ma costituiscono la componente più importante in termini di numero di particelle e -seppure in grado minore- di area superficiale complessiva (vedi fig. 3).¹⁹

Fig. 3: Distribuzione della dimensione delle polveri a Birmingham, Inghilterra



Un altro aspetto da non trascurare, collegato alle caratteristiche fisiche delle polveri ultrafini, è relativo al fatto che mentre le polveri di maggiori dimensioni si depositano al suolo, per effetto della gravità, nelle immediate vicinanze ed entro tempi brevi, rispetto al punto ed al momento dell'emissione, quelle più fini possono percorrere lunghe distanze e restare sospese nell'aria per ore o giorni dopo l'emissione; peraltro difficilmente mantengono le dimensioni di partenza, in ragione dell'elevata tendenza a coagulare/accumulare.

Fonti di emissione e composizione

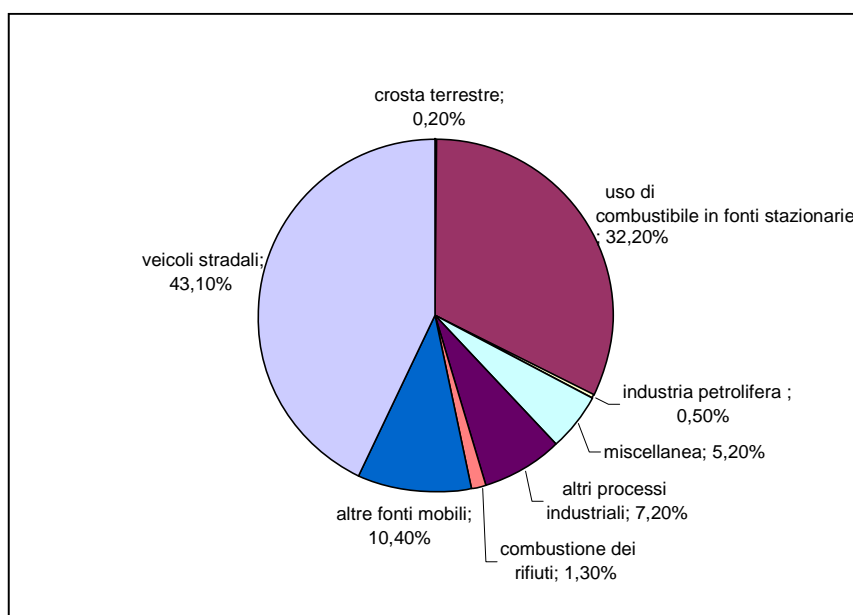
Le polveri ultrafini possono derivare dalle emissioni prodotte dal traffico veicolare, dall'utilizzo di combustibili utilizzati nelle diverse tipologie di impianti per il riscaldamento, oltre che dall'industria petrolifera ed in altri processi industriali, compresi gli impianti di incenerimento e di trattamento dei rifiuti.

La quantificazione delle emissioni da fonti di inquinamento individuali e la generazione di inventari delle sorgenti di emissioni a livello locale, regionale e nazionale, è

importante per sviluppare appropriate strategie di gestione e controllo in relazione alla qualità dell'aria. Un esempio di inventario completo è la stima condotta in Europa nel 1993²⁰ (esclusa l'ex Unione Sovietica), da cui si evince che le principali fonti che contribuivano al PM_{0.1} erano: il trasporto stradale (41%), i processi produttivi (24%) e la produzione di energia (17%). Al contrario, i contributi delle prime due fonti al PM₁₀ erano solo del 17% e 14% rispettivamente.

L'inventario delle sorgenti di emissione costruito per la South Coast Air Basin che circonda Los Angeles ha evidenziato le percentuali di contributo rappresentato in fig. 4.²¹

Fig. 4: Fonti delle polveri ultrafini



Negli ultimi anni un numero crescente di studi ha riportato valori di concentrazione di polveri ultrafini espressi come numero di particelle per centimetro cubo; nella maggior parte dei casi, nei quali è stata riportata la distribuzione della dimensione delle polveri, è stato rilevato che le polveri ultrafini rappresentavano la parte più cospicua in termini di concentrazione numerica.

In un'indagine europea condotta ad Erfurt, in Germania, il numero di particelle contate è risultato costituito per il 73 % dalla componente ultrafine, nonostante le stesse contribuissero solo all'1% della concentrazione di massa.²²

Nello studio multicentrico ULTRA²² i livelli di concentrazione numerica di polveri ultrafini sono risultati compresi tra i 17309 per cm³ ad Amsterdam ed i 21228 per cm³ ad Erfurt. Altri studi riportano valori di fondo compresi tra 10000 e 50000 per cm³ con valori di picco, nelle ore in cui il traffico veicolare è più elevato, fino a 400000 per cm³.²³ Recenti

indagini eseguite in Australia hanno fatto rilevare livelli di concentrazione numerica media di polveri ultrafini per cm^3 oscillanti tra 0.8×10^3 e 5×10^4 , con concentrazioni di punta sino a 1.8×10^5 .

Si sono evidenziati, nelle serie temporali, valori di correlazione bassi o molto bassi (coefficienti di correlazione di Pearson compresi tra -0,15 e 0.62) tra numero di particelle ultrafini e concentrazione di massa di particelle fini. Appare quindi difficile effettuare predizioni del numero di particelle sulla base della conoscenza del valore di concentrazione di massa e/o dedurre un fattore di conversione attendibile.

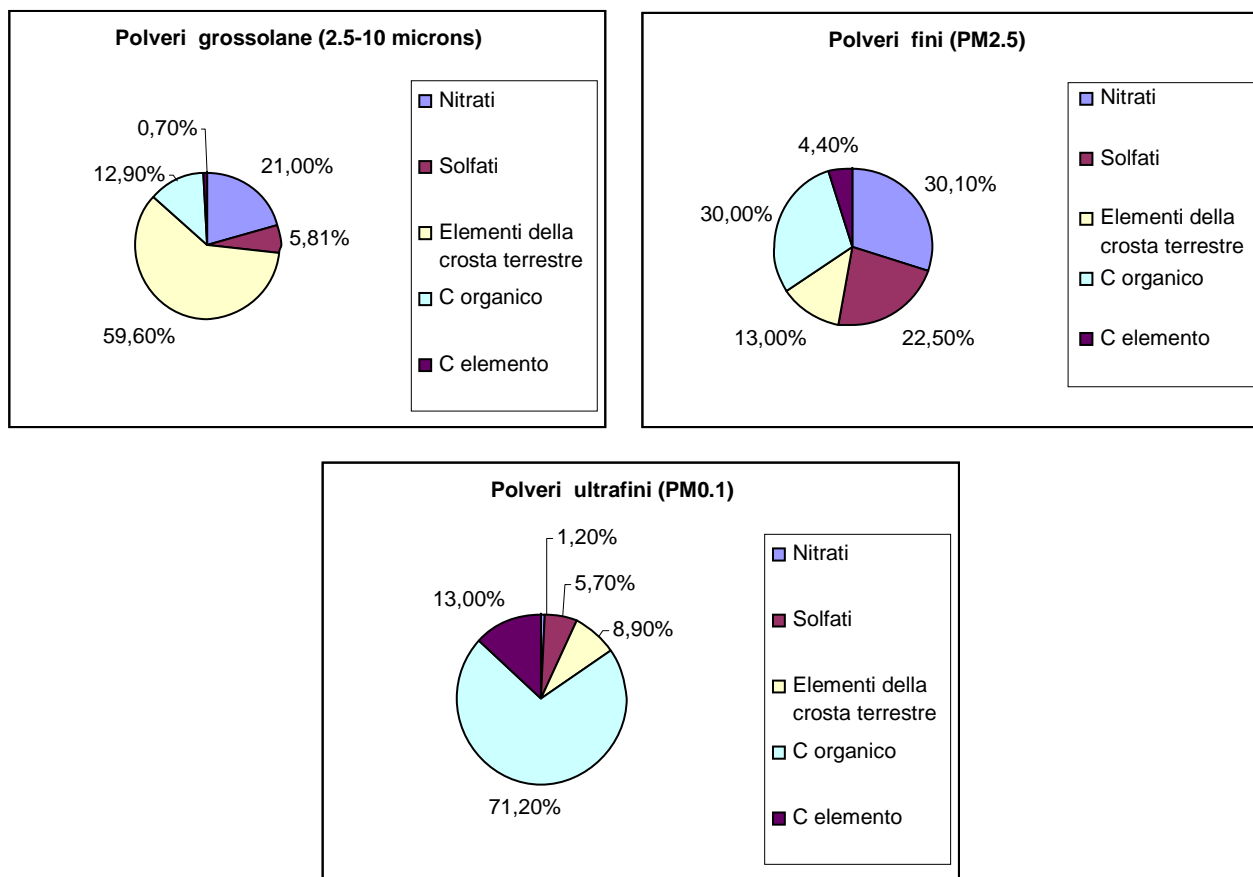
Con riferimento alla composizione chimica delle polveri ultrafini, va innanzitutto rilevato che la stessa è multifattoriale e dipende dalle sorgenti delle polveri stesse così come dai processi successivi alla loro generazione. Le proprietà chimiche più importanti delle polveri includono:

- la composizione in elementi;
- la presenza di ioni inorganici;
- la presenza di composti carboniosi (carbonio organico ed elementare).

In generale, l'interesse nella composizione è correlato ai potenziali effetti sanitari noti di metalli pesanti quali piombo, arsenico, mercurio, cadmio, ecc. e dalla possibilità di utilizzare questi elementi come traccianti della fonte di provenienza delle particelle.

La composizione in elementi cambia notevolmente in funzione della dimensione delle particelle; si nota in particolare l'aumento della presenza di carbonio organico al diminuire delle dimensioni delle particelle (Fig. 5).

Fig. 5: Composizione media del particolato ambientale di differenti dimensioni negli anni 2002-2003 nell'area denominata "EPA Supersite" di Los Angeles.²⁴



IL PARTICOLATO EMESSO DA PROCESSI DI COMBUSTIONE

Le emissioni da fonti di combustione suscitano particolari preoccupazioni in relazione ai rischi ambientali e sanitari, in ragione sia dell'ubiquitarità delle fonti di emissione, sia della complessa composizione del particolato nelle stesse contenuto.

In condizioni ideali, la combustione completa del carbonio dovrebbe dar luogo solamente alla generazione di anidride carbonica ed acqua. Altri prodotti della combustione, compreso il particolato, sono spesso genericamente definiti "prodotti incompleti della combustione".

La grande maggioranza dei processi di combustione è di origine antropogenica ed il relativo particolato, in termini di numero di particelle prodotto, è in gran parte ascrivibile alla categoria ultrafine; la sua composizione chimica è complessa, contenendo numerosi elementi-traccia, presenti nel combustibile, particelle carboniose incombuste, di alcune delle quali sono note le proprietà cancerogene, ecc.

Nella maggior parte dei casi la combustione di un particolare combustibile dà origine non tanto ad uno specifico elemento-traccia, ma ad un intero 'profilo' di elementi.

La tab. 2 riporta alcuni dei più comuni profili di elementi-traccia connessi a specifiche fonti di combustione; a titolo di confronto si ricorda che gli elementi della crosta terrestre comprendono Mg, Ca, Al, K, Sc, Fe e Mn.

Tab. 2: Elementi caratteristici emessi da varie fonti di combustione (da 23, modificata)

Fonte di emissione	Elementi caratteristici emessi
Centrali elettriche a petrolio	V, Ni
Emissioni da veicoli a motore	Br, Ba, Zn, Fe, Pb (in paesi in cui si usa il petrolio)
Incenerimento dei rifiuti	Zn, Sb, Cu, Cd, Hg
Combustione del carbone	Se, As, Cr, Co, Cu, Al
Raffinerie	V
Fonderie di metalli non ferrosi	As, In (fusione del nichel), Cu
Metallurgia del ferro e dell'acciaio	Mn
Produzione di Mn metallo e Mn chimico	Mn
Raffineria del rame	Cu

Poiché la maggior parte degli elementi-traccia è non volatile, strettamente associata alle polveri ultrafini e poco incline alle trasformazioni chimiche, gli stessi tendono ad essere passivamente trasportati in atmosfera, a lunga distanza, rimanendo nella forma in cui sono stati emessi.

I valori di concentrazione degli elementi di cui sopra possono essere estremamente variabili e -da soli- non sono ritenuti traccianti affidabili di provenienza. È però possibile 'tracciare' tali elementi al fine di individuare le loro fonti putative di emissione, combinando i valori delle concentrazioni rilevati con l'utilizzo di appropriati modelli matematici, atti a ricostruire a ritroso le traiettorie percorse dalle particelle.

Per quanto riguarda i composti organici volatili e semi-volatili, è noto che ogni fonte di combustione ne genera grandi quantità. L'esposizione a molti composti organici emessi nell'aria è stata associata a diversi tipi di effetti sanitari. Alcuni degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), tra cui il più studiato è il benzo-a-pirene, sono altamente cancerogeni; essi rappresentano una tipologia di componenti abitualmente contenuti nella frazione organica del particolato.

L'OMS ha pubblicato una rassegna degli effetti sanitari degli IPA.²⁵ Alte concentrazioni di IPA sono state riscontrate nella fuliggine generata dalla combustione del legno e del carbone delle stufe. Gli IPA sono stati ritrovati anche nel particolato emesso dalla

combustione di benzina e diesel. L'abbondanza relativa di specie individuali di IPA può essere diversa per i vari tipi di fuliggine: ciò consente da un lato di utilizzare gli IPA come indicatori dei diversi tipi di combustibile, dall'altro di valutare i diversi effetti sanitari connessi all'esposizione alle emissioni generate dalla combustione degli stessi.

È stato ad esempio riportato che gli idrocarburi (IC) alifatici semivolatili abitualmente presenti nell'aria ambiente sono n-C19, n-C20, n-C24, n-C25, mentre gli IC alifatici associati al particolato sono n-C21, n-C22, n-C29, n-C31²⁶; il 'segnale' dei motori diesel e benzina, in termini di IC alifatici, consiste nella banda dei C15-27 n-alcani (con picco a C20-21), un pattern molto simile a quello degli olii lubrificanti (n-C13-27 con picco a C-19).^{27,28}

Come evidenziato nei paragrafi precedenti, le emissioni prodotte dai processi di combustione sono di gran lunga le maggiori responsabili della produzione di polveri ultrafini (30% ca. per le emissioni da fonti stazionarie e 40% ca. per quelle prodotte dal traffico veicolare).

GLI EFFETTI SANITARI DELL'ESPOSIZIONE ALLE POLVERI ULTRAFINI

Effetti sul tratto respiratorio

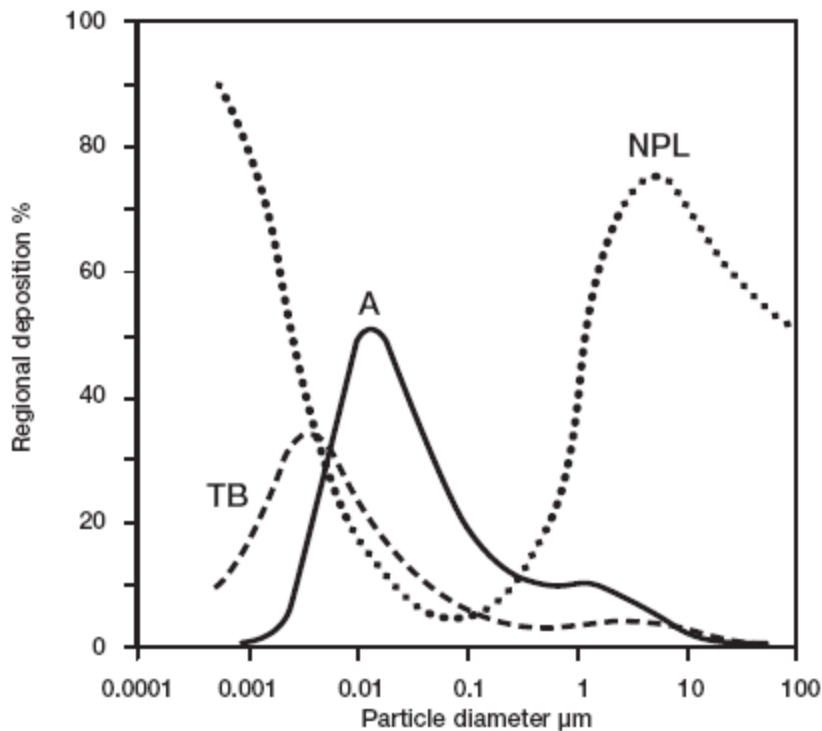
Una delle principali espressioni di tossicità conseguente all'esposizione ripetuta per via inalatoria a polveri ultrafini è riferita al tratto respiratorio.

La sede ed entità di deposizione del particolato nell'albero respiratorio dipendono dalle caratteristiche fisiche delle particelle (forma, dimensioni, densità) e dal pattern di respirazione (respirazione orale/nasale, frequenza respiratoria, volume). Nella fig. 6 sono illustrate le caratteristiche di deposizione delle polveri di diverso diametro aerodinamico nel tratto respiratorio.²⁹

In generale, per particolato di diametro $>1 \mu\text{m}$ predominano i fattori di tipo aerodinamico e la deposizione avviene per sedimentazione (dipendente dalla forza di gravità) o impatto (collisione diretta di una particella con la superficie epiteliale), che a loro volta sono influenzati dalle caratteristiche di forma, densità, misura delle particelle. Al contrario, per particelle con diametro inferiore a 100nm ($0,1 \mu\text{m}$) la deposizione avviene come risultato di movimenti caotici di diffusione delle particelle (moto Browniano) dipendenti soltanto dal coefficiente di diffusione. Infine, per diametro compreso tra $0,1 \mu\text{m}$ e $1 \mu\text{m}$ risultano rilevanti sia fattori di tipo aerodinamico che termodinamico.

Il modello riportato in fig. n.6 evidenzia come la deposizione a livello alveolare riguardi per lo più particelle con diametro dell'ordine dei nanometri (picco di deposizione alveolare per diametro intorno a 20nm), a fronte di un contributo pressoché irrilevante da parte di particelle con diametro dell'ordine dei micron.

Fig 6. Deposizione del particolato a livello del tratto respiratorio superiore e inferiore. (International Commission on Radiological Protection – ICRP – model, 1994).



Fractional deposition (nose breathing)

A = Alveolar
 TB = Tracheo-bronchial
 NPL = Nasal, Pharynx, Larynx

Evidenze tossicologiche sembrano supportare tre ipotesi di meccanismo eziopatologico alla base degli effetti a carico dell'apparato respiratorio:

- processo infiammatorio polmonare;
- aumentata reattività bronchiale ed esacerbazione dell'asma;
- compromissione dei meccanismi di difesa polmonare con aumentata suscettibilità alle infezioni.

Da studi sperimentali su animali sono emerse prove convincenti sul fatto che, per lo stesso materiale, le polveri ultrafini hanno maggiore capacità di indurre tossicità polmonare rispetto alle polveri di maggiori dimensioni, anche con riferimento alla maggior capacità di deposizione delle particelle negli alveoli polmonari e di penetrazione nell'interstizio.

Il fattore chiave implicato in tale aumentata tossicità sembra tuttavia essere l'aumento dell'area superficiale delle particelle, coincidente con la riduzione della loro dimensione; tale ipotesi necessita tuttavia di ulteriori approfondimenti.

In particolare è stata posta l'attenzione sui seguenti fattori coinvolti nel determinare la risposta del tratto respiratorio all'esposizione alle polveri ultrafini:

- l'attività di superficie delle particelle e -nello specifico- la capacità della superficie delle particelle di generare radicali liberi;
- le capacità di aggregazione/disaggregazione delle particelle, principale determinante della concentrazione delle stesse sulla superficie alveolare una volta che il particolato è penetrato nell'albero respiratorio^{29,30};
- la capacità di agire come *carrier* per diverse sostanze chimiche.

Si tratta di fattori che possono essere a loro volta collegati con le dimensioni dell'area di superficie, ma anche con proprietà intrinseche delle specifiche particelle, specialmente nel caso in cui le stesse contengano sostanze chimiche di nota, elevata tossicità (ad es. TiO₂).

Possono peraltro sussistere condizioni dell'ospite, ad esempio nel caso di organismi sensibilizzati o in precario stato di salute, con particolare riguardo a disordini respiratori o dell'apparato cardio-vascolare, che lo predispongono a subire determinati effetti sanitari non riscontrabili in soggetti in buona salute.

Effetti sistemici

Recenti studi hanno dimostrato l'associazione tra i livelli di particolato ambientale (misurati per lo più come PM₁₀ o PM_{2.5}) e l'aumentata mortalità e morbosità cardiovascolare. Sia l'esposizione acuta che cronica sembrano implicate nella patogenesi del danno. Tali effetti apparirebbero indotti in modo diretto dalla diffusione delle particelle nel circolo ematico, e/o in modo indiretto, attraverso l'azione di mediatori neuro-chimici; sono stati suggeriti diversi meccanismi patogenetici, tra cui l'aumento di viscosità del sangue, del 'tono' simpatico e -principalmente- l'aumentata concentrazione di peptidi (ad es. endoteline..) in grado di indurre vasocostrizione, alterazione del ritmo cardiaco, avvio del processo trombotico, ecc.. ; tali fenomeni si manifesterebbero in presenza dei radicali ossidativi liberi trasportati e/o generati dalle particelle ultrafini passate nel torrente circolatorio o traslocate negli organi, con conseguente evocazione della risposta infiammatoria, con meccanismo simile a quello osservato a livello dell'albero respiratorio.

Gli effetti di cui sopra risulterebbero particolarmente dannosi in soggetti con compromissione dell'apparato cardiovascolare per cardiopatia ischemica, alterazioni del ritmo cardiaco, malattia polmonare cronica ostruttiva.

In generale l'informazione disponibile suggerisce una differente diffusione sistemica delle polveri ultrafini in seguito all'esposizione alle stesse per via inalatoria. La capacità di passaggio attraverso l'epitelio alveolare sarebbe dimensione-dipendente, con maggiore capacità di assorbimento delle nanoparticelle. Anche i meccanismi di eliminazione sistemica sarebbero dimensione-dipendenti, con maggiore difficoltà di eliminazione delle nano particelle: in particolare i macrofagi alveolari risultano meno efficienti nella loro eliminazione.

Un'altra ipotesi è che le stesse riescano a passare la barriera capillare ed uscire dal circolo, con conseguente diffusione (traslocazione) sistemica in virtù della loro esigua dimensione. Anche la loro distribuzione e localizzazione all'interno dei diversi organi probabilmente differisce da quella delle particelle di maggiori dimensioni, sebbene non ne siano evidenti le conseguenze in termini di espressione di tossicità.

Anche in questo caso un'ulteriore possibile spiegazione delle differenze osservate nella capacità di traslocazione sistemica di polveri di diverse dimensioni può essere collegata alla specifica composizione chimica delle polveri ultrafini.

SINTESI DEGLI STUDI EPIDEMIOLOGICI DI MORTALITÀ E MORBOSITÀ

Negli studi, a tutt'oggi in numero limitato, nei quali si è provveduto a misurare direttamente la concentrazione delle polveri ultrafini, sono emerse prove che le stesse sono associate, in modo indipendente rispetto alle polveri fini, ad un aumento della mortalità, pur non essendo stato delineato un pattern chiaro di differenze tra polveri fini ed ultrafini. Gli investigatori hanno suggerito una maggior consistenza di effetti a lungo termine per le polveri ultrafini, con particolare riferimento alla mortalità per patologie cardio-vascolari.

Per quanto riguarda la morbosità indotta dalle polveri ultrafini, nello studio ULTRA²², condotto in tre diversi paesi (Amsterdam, Erfurt, Helsinki) negli anni 1998-2000, sono state seguite 131 persone affette da cardiopatia ischemica: ad Helsinki sia le particelle ultrafini che il PM_{2.5} sono risultati associati in modo indipendente ai segni di ischemia miocardica. Tale studio ha peraltro fornito solo gli elementi iniziali per comprendere le modalità con cui le particelle ultrasottili possono influire sulla salute cardiovascolare; altri studi hanno fornito risultati contrastanti, evidenziando alternativamente associazioni più consistenti con il PM_{2.5} o con le polveri ultrafini.

Gli esiti dei principali studi possono essere, nel loro complesso, così sintetizzati:

- gli studi su individui asmatici indicano che, come per le polveri fini, sussiste un'associazione tra la presenza di polveri ultrafini ed effetti avversi per la salute respiratoria della popolazione esposta; gli eventi infiammatori polmonari impiegano alcuni giorni per manifestarsi; è probabile che esista un lag-time tra l'esposizione alle polveri ultrafini e la comparsa di effetti acuti respiratori nella popolazione esposta; gli effetti cumulativi su cinque giorni appaiono più consistenti di quelli evidenziabili nello stesso giorno;
- vi sono indicazioni che gli effetti acuti correlati al numero di particelle ultrafini sulla salute respiratoria siano più consistenti di quelli correlati alla concentrazione di massa delle polveri fini; sono stati evidenziati, quali effetti indipendenti delle polveri ultrafini, al netto cioè degli effetti legati alle polveri fini, una riduzione della funzionalità respiratoria ed un aumento dei sintomi e dell'uso di farmaci respiratori;
- gli effetti acuti delle polveri ultrafini sulla salute respiratoria sono più consistenti sugli asmatici adulti, rispetto a quelli in età pediatrica;
- è stata evidenziata un'associazione tra esposizione alle polveri ultrafini e morbosità cardiovascolare nella popolazione con patologie cardiache croniche.³¹

I risultati degli studi epidemiologici non consentono comunque di identificare i meccanismi tramite i quali le polveri ultrasottili possono produrre effetti sanitari avversi e non esiste a tutt'oggi alcun modello basato su studi in-vitro o su animali in grado di spiegare esaurientemente l'impatto sulla salute delle polveri ultrafini, in ragione della complessità dei meccanismi coinvolti e delle loro interazioni.

La maggior parte dei ricercatori medici concorda, sulla base degli studi tossicologici sperimentali, sul fatto che il meccanismo più probabile sia quello correlato alla maggior capacità di tali particelle di indurre, attraverso proprietà chimiche/reattive di superficie (quest'ultima, come già ricordato, risulta notevolmente più estesa nelle polveri ultrafini), una risposta infiammatoria; la stessa sarebbe mediata dalle citochine ed innescata dal danno ossidativo all'epitelio respiratorio e/o dalla compromissione del sistema di segnali cellulari che regolano la sintesi delle citochine in questione.

CONCLUSIONI ED INDICAZIONI PER STUDI FUTURI SUGLI EFFETTI SANITARI DELLE POLVERI ULTRASOTTILI

Poiché la correlazione tra le polveri ultrasottili (esprese come numero di particelle per cm^3) e le polveri sottili (esprese come concentrazione di massa – $\mu\text{g}/\text{m}^3$) è piuttosto debole, risulta interessante l'effetto statisticamente indipendente osservato nei modelli di regressione multipla. V'è quindi anche un'evidenza epidemiologica, oltre a quella tossicologica, di risposte biologicamente simili -ed indipendenti- all'esposizione a polveri fini ed ultrafini. Tuttavia, dato che sia le polveri fini che le ultrafini spesso originano da fonti comuni e data la diversa dinamica di formazione ed accumulo delle polveri e le differenti relazioni temporali (lag-effects) osservate tra l'esposizione e gli effetti sanitari, è generalmente difficile ricavare inferenze causali consistenti sugli effetti indipendenti delle diverse tipologie di polveri.

Considerate le rilevate variazioni di esposizione nel tempo alle diverse categorie di particelle (ultrafini vs. fini) risulterebbe teoricamente possibile, in studi di serie temporali di adeguate dimensioni, distinguere gli effetti indipendenti di ciascuna componente. Gli ulteriori studi in via di espletamento sull'argomento, in ambiti e scenari diversi, potranno migliorare la comprensione della relazione tra esposizione alle polveri ultrafini e gli esiti sanitari osservati.

Comunque tutti gli studi disponibili dimostrano che i determinanti principali dell'effetto delle particelle ultrafini sono il numero e l'area superficiale e non il peso. Ciò significa che l'utilizzo tradizionale delle misure gravimetriche del particolato è inappropriato ai fini della valutazione degli effetti biologici delle polveri ultrafini.

La dinamica delle polveri ultrafini solleva ulteriori dubbi circa l'adeguatezza di singole stazioni di monitoraggio (per la misurazione dei livelli delle polveri) nel rappresentare adeguatamente i livelli per l'intera area geografica in cui risiede la popolazione. In particolare al variare della distanza tra le fonti -in particolare per quelle mobili come il traffico veicolare- e gli individui (nelle loro abitazioni o sul posto di lavoro) l'esposizione alle polveri ultrasottili può modificarsi in modo rilevante, con riferimento alla sensibilità di tali particelle alle diverse condizioni di stabilità atmosferica (pressione atmosferica, presenza di venti, ecc...) ed alla loro tendenza a condensare e/o aggregarsi, sollevando appunto incertezza circa la rappresentatività di singole stazioni di monitoraggio per la valutazione dell'esposizione.

Come noto, tale valutazione svolge un ruolo chiave nel processo di *risk assessment*: per una corretta caratterizzazione e quantificazione del rischio e dell'impatto

sulla salute di un inquinante è infatti necessario ottenere misure e/o stime rappresentative dell'effettiva concentrazione dello stesso, con descrizione dettagliata dell'intera distribuzione dei valori di concentrazione degli inquinanti nel tempo e nello spazio.³²

Contrariamente inoltre a quanto segnalato in letteratura per le polveri fini, non sussiste a tutt'oggi sufficiente evidenza di correlazione tra i valori di polveri ultrafini misurate da stazioni di monitoraggio e quelli rilevati con misuratori di esposizione personali su campioni di popolazione.

La maggior parte degli studi sulle polveri ultrafini indicano -come detto- nel traffico veicolare la principale fonte delle stesse. Tuttavia, gli scarichi dei veicoli, così come quelli degli impianti di combustione e di numerose altre fonti emmissive, rilasciano una complessa miscela di centinaia di componenti, sia in fase di particolato, sia in fase gassosa.

È quindi necessario che si proceda ad una adeguata caratterizzazione e quantificazione della composizione di tali miscele al fine di poter differenziare gli effetti connessi alle polveri ultrafini dagli effetti di altri componenti delle stesse.

Criticità nella ricerca

Al fine di produrre linee guida appropriate per la valutazione dei rischi sanitari da nanoparticelle è necessario che vengano raccolte ulteriori informazioni e completate conoscenze di basilare importanza. Queste includono:

- conoscenze precise e sistematiche dei diversi livelli di esposizione ambientale ed umana alle polveri ultrafini, anche pregressa, cosa che richiede lo sviluppo di nuove tecniche di misurazione per l'utilizzo di *routine*;
- informazioni dettagliate su meccanismi e cinetica di rilascio delle nanoparticelle da ciascuna delle numerosi fonti di emissione implicate; studio e implementazione di modelli che consentano predizioni sul rilascio delle stesse da tali fonti, sulla base delle informazioni di cui sopra, delle conoscenze delle sostanze utilizzate e delle modalità del loro utilizzo;
- informazioni dettagliate sul destino ambientale, sulla distribuzione e persistenza delle nanoparticelle, nonché sugli effetti delle nanoparticelle sulle diverse specie presenti in ciascuna matrice e comparto ambientali, rappresentativi di differenti vie di esposizione;
- informazioni adeguate sullo stato di salute dei lavoratori coinvolti nella produzione di nanotecnologie e comunque in attività di produzione e processazione di nanoparticelle, trattandosi di persone a potenziale maggiore esposizione alle stesse;

- informazioni sulla possibilità che l'esposizione simultanea a differenti particelle possa esitare in effetti additivi.

Più in generale occorrono ulteriori studi per identificare le regole che governano la tossicologia ed ecotossicologia delle nanoparticelle. Nelle more degli esiti di tali studi non pare peraltro potersi assumere, ai fine della valutazione del rischio, che una nanoparticella di definita composizione chimica abbia sui sistemi biologici effetti paragonabili a quelli della stessa sostanza chimica in altre forme fisiche.

Uno dei principali quesiti a cui la ricerca è chiamata a rispondere è se esistano per gli uomini e l'ambiente modalità definite di esposizione a nanoparticelle adeguatamente caratterizzate. La dose di esposizione dovrà essere definita in termini di numero di particelle (ed eventualmente di area di superficie totale) piuttosto che in termini convenzionali (concentrazione di massa - $\mu\text{g}/\text{m}^3$), avendo riguardo del fatto che un cambiamento nella dimensione/forma e nelle altre proprietà fisico-chimiche di una nanoparticella potrebbe dar luogo a cambiamenti negli effetti avversi attesi.

Gli studi tradizionali di tossicità potrebbero richiedere, quando effettuati su nanoparticelle, alcune modifiche, al fine di simulare scenari di esposizione realistici e di definire *endpoint* che siano direttamente associabili alle nanoparticelle da valutare.³³

Raccomandazioni specifiche della letteratura scientifica per i futuri studi sugli effetti sanitari correlati alla esposizione ambientale alle polveri ultrafini.

Tali raccomandazioni comprendono:

- la realizzazione di campagne di monitoraggio progettate in modo adeguato al fine di conoscere con precisione:
 - la distribuzione dei livelli spaziali e temporali di concentrazione delle polveri ultrafini, determinate con tecniche analitiche appropriate, basate sul conteggio del numero di particelle;
 - la composizione chimica delle polveri ultrafini presenti in atmosfera, al fine di distinguere se e quanta parte degli effetti osservati sia attribuibile alle sostanze chimiche presenti;
 - il contributo determinato da specifiche fonti di emissione;
- la progettazione di disegni di studi epidemiologici e di approcci statistici tali da poter distinguere gli effetti connessi alla dimensione delle particelle di interesse (< 0.1

micron) da altre caratteristiche delle particelle o dalla presenza di miscele complesse di inquinanti;

- la conduzione di studi epidemiologici per periodi di osservazione più lunghi e con dimensioni del campione più ampie, al fine di consentire di distinguere, con adeguata potenza statistica, gli effetti indipendenti delle diverse frazioni; risulta altresì necessario condurre tali studi in ambito multicentrico, esplorando in tal modo gli effetti attribuibili ai differenti valori di concentrazioni delle polveri ultrafini, alla diversa composizione chimica, nonché alle diverse caratteristiche delle fonti locali in differenti aree geografiche, aggiustati per le variabili demografiche e socio-economiche.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Health relevance of particulate matter from various sources - Report on a WHO Workshop Bonn, Germany - 26–27 March 2007.
<http://www.euro.who.int/Document/E90672.pdf>.
- 2 Blengio G, De Noni L, Falcone S, Manservigi S: “La valutazione del rischio sanitario correlato all’inquinamento atmosferico nei centri urbani” - Quaderno n. 1 del Centro Tematico Regionale di Epidemiologia Ambientale – 2004.
- 3 Reduction in Fine Particulate Air Pollution and Mortality Extended Follow-up of the Harvard Six Cities Study - American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine, Vol. 173, 2006.
- 4 WHO - Health risks of particulate matter from long-range transboundary air pollution -2006 SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks).
<http://www.greenfacts.org/glossary/mno/nanoparticle.htm>
- 5 WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide - Global update 2005.
- 6 EPA – US Environmental Protection Agency. 2006 fine particle standards.
<http://www.epa.gov/pmdesignations/>
- 7 DIRETTIVA 2008/50/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 21 maggio 2008 relativa alla qualità dell’aria ambiente e per un’aria più pulita in Europa.
- 8 Buckeridge DL, Glazier R, Harvey BJ, Escobar M, Amrhein C, Frank J: Effect of Motor Vehicle Emissions on Respiratory Health in an Urban Area. Environmental Health Perspectives - Vol.110, n°3, March 2002.
- 9 Hoet PHM, Brüske-Hohlfeld I, Salata OV - Journal of Nanobiotechnology - Review - Nanoparticles – Known and unknown health risks.
- 10 O’Neill MS, Jerrett M, Kawachi I, Levy JI, Cohen AJ, Gouveia N, Wilkinson P, Fletcher T, Cifuentes L, Schwartz J: Health, Wealth, and Air Pollution: Advancing Theory and Methods. Environmental Health Perspectives - Vol 111, n°16 December 2003.
- 11 Jerrett M, Burnett RT, Ma R, Pope III CA, Krewski D, Newbold KB, Thurston G, Shi Y, Finkelstein N, Calle EE, Thun M: Spatial analysis of air pollution and mortality in Los Angeles. Epidemiology, vol 16, n°6, nov 2005.
- 12 Finkelstein MM, Jerrett M, DeLuca P, Finkelstein N, Verma DK, Chapman K, Sears MR: Relation between income, air pollution and mortality: a cohort study. CMAJ - SEPT. 2, 2003; 169(5).
- 13 Briggs DJ, de Hoogh C, Gulliver J, Wills J, Elliott P, Kingham S, Smallbone K: A regression-based method for mapping traffic-related air pollution: application and testing in four contrasting urban environments. Sci Total Environ. 2000 May 15;253(1-3):151-67.
- 14 Gauderman WJ, Avol E, Gilliland F, Vora H, Thomas D, Berhane K, McConnell R, Kuenzli N, Lurmann F, Rappaport E, Margolis H, Bates D, Peters J: The Effect of Air Pollution on Lung Development from 10 to 18 Years of Age. N Engl J Med 351;11 www.nejm.org September 9, 2004.
- 15 Künzli N, Jerrett M, Mack WJ, Beckerman B, LaBree L, Gilliland F, Thomas D, Peters J, Hodis HN. Ambient Air Pollution and Atherosclerosis in Los Angeles. Environmental Health Perspectives - Vol. 113, n°2, February 2005.
- 16 Brauer M, Hoek G, van Vliet P, Meliefste K, Fischer P, Gehring U, Heinrich J, Cyrys J, Bellander T, Lewne M, Brunekreef B: Estimating Long-Term Average Particulate Air Pollution Concentrations: Application of Traffic Indicators and Geographic Information Systems. Epidemiology. 2003 Mar;14(2):228-39.
- 17 Peters A, Wickmann HE, Tuch T, Heinrich J, Heyder J - Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles – Am J Respir Crit Care Med 1997; 155: 1376-1383.
- 18 EPA - Air Quality Criteria for Particulate Matter – Vol I – 2004.
<http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=87903>
- 19 WHO - Health risks of particulate matter from long-range transboundary air pollution – 2006.
- 20 Holman C (1999). Sources of air pollution. In Air Pollution and Health (S. T. Holgate, J. M. Samet, H. S. Koren, and R. L. Maynard, Eds.), pp. 115–148. Academic Press, London.

-
- 21 Peters JM, Avol E, Navidi W, London SJ, Gauderman WJ, Lurmann F, Linn WS, Margolis H, Rappaport E, Gong H, Thomas DC: A study of twelve Southern California Communities with differing levels and types of air pollution. *Am j respir crit care med* 1999;159:760–767.
- 22 De Hartog JJ, Hoek G, Peters A, Timonen KL, Ibalid-Mulli A, Brunekreef B, Heinrich J, Tiittanen P, van Wijnen JH, Kreyling W, Kulmala M, Pekkanen J: Effects of Fine and Ultrafine Particles on Cardiorespiratory Symptoms in Elderly Subjects with Coronary Heart Disease - The ULTRA Study - *American Journal of Epidemiology*, vol. 157 n. 7.
- 23 Oberdörster G: Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. *Int Arch Occup Environ Health* 2001, 74: 1-8.
- 24 The health effects of combustion-generated aerosols - Ian M. Kennedy - Department of Mechanical and Aeronautical Engineering, University of California, Davis, CA 95616, USA 2006 The Combustion Institute. Published by Elsevier Inc.
- 25 WHO. Health effects of transport-related air pollution Edited by: Michal Krzyzanowski, Birgit Kuna-Dibbert and Jürgen Schneider. 2005.
- 26 Colombo JC, Landoni P and Bilos C (1999). "Sources, distribution and variability of airborne particles and hydrocarbons in La Plata area, Argentina." *Environmental Pollution* 104(2): 305-314.
- 27 Simoneit BRT (1985). "Application of molecular marker analysis to vehicular exhaust for source reconciliations." *International Journal of Analytical Chemistry* 22: 203-233.
- 28 Cass GR (1998). "Organic molecular tracers for particulate air pollution sources." *Trends in Analytical Chemistry* 17: 356-366.
- 29 Health effects of particles produced for nanotechnologies – HSE Hazard assessment document EH75/6, Dicembre 2004.
<http://www.nanotechia.co.uk/documents/2Health%20effects%20of%20nanoparticles.pdf>
- 30 Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J: Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles - *Environmental Health Perspectives* – Vol. 113, n. 7, 2005.
- 31 Morawska L, Moore RL, Ristovski ZD: Health Impacts of Ultrafine Particles - Desktop Literature Review and Analysis - Department of the Environment and Heritage –
<http://www.environment.gov.au/atmosphere/airquality/publications/health-impacts/index.html>
- 32 Blengio G, Falcone S, Vangelista R, Menegozzo A: Linee guida per la valutazione del rischio sanitario determinato da fonti di inquinamento ambientale.
- 33 European Commission - Health & Consumer Protection Directorate-general. Scientific committee on emergine And newly identified health risks (SCENIHR). Modified Opinion (after public consultation) on The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. 2006.
http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihhr/docs/scenihhr_o_003b.pdf