

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI
DI
FIRENZE**

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA IN
OSTETRICIA
(ABILITANTE ALLA PROFESSIONE SANITARIA DI
OSTETRICA/O)

**ESPOSIZIONE DEL FETO IN UTERO AGLI
INQUINANTI AMBIENTALI UTILIZZATI NEL
FLOROVIVAISMO NELLA PROVINCIA DI
PISTOIA**

Relatore Prof. Luciano Savino

Tesi di laurea di Laura Daddio

A.A. 2007/2008

INDICE

1. PREMESSE E SCOPI DELLA TESI.....	2
2. INTRODUZIONE	
2.1- La barriera placentare.....	4
2.1.1- Cenni di morfologia placentare.....	4
2.1.2 - La circolazione placentare.....	5
2.1.3 - Meccanismi fondamentali del passaggio trans- placentare.....	6
2.2- Dati della letteratura.....	12
2.3- Caratteristiche ambientali della provincia di Pistoia.....	18
2.4- Presentazione della ricerca.....	25
3. MATERIALI E METODI	
3.1- Casistica.....	30
3.1- Metodo.....	32
4. RISULTATI	
4.1- Sostanze ritrovate nei campioni esaminati.....	42
4.2- Correlazione con i dati emersi dai questionari.....	44
5. DISCUSSIONE	
5.1- Commento dei nostri dati.....	49
5.2- Confronto con i dati della letteratura.....	51
6. CONCLUSIONI RIASSUNTIVE.....	53
BIBLIOGRAFIA.....	56
ALLEGATI.....	58

1. PREMESSE E SCOPI DELLA TESI

Le materie ausiliarie impiegate in agricoltura rappresentano una delle principali fonti di inquinamento ambientale. Molti degli antiparassitari e dei diserbanti si sono rivelati estremamente tossici per l'uomo che può venirne a contatto durante la produzione, l'utilizzazione nelle colture o addirittura nel quotidiano consumo dei prodotti alimentari.

I danni sull'uomo riguardano principalmente il sistema nervoso centrale e il metabolismo ormonale (EDWARDS C.A., 1993).

Alcune sostanze hanno poi dimostrato effetti mutageni e cancerogeni nell'animale da esperimento mentre nell'uomo, a livelli sub-tossici, sono stati evidenziati danni citogenetici (BOLOGNESI C., ed. Coll, 2002), alterazioni cromosomiche, (SHAHAM J., ed. Coll, 2001; LANDER B.F., ed. Coll, 2000), riduzione della fertilità (PETRELLI G. e FIGA-TALAMANCA I., 2001; ABELL A., ed. Coll, 2000), modificazioni del comportamento (BAZYLEWICZ B., ed. Coll, 1999).

Molti dei pesticidi impiegati in agricoltura hanno, dunque, effetti neurotossici e poiché l'esposizione precoce a neurotossine può essere responsabile di malattie neurologiche e di ritardo mentale, è interessante valutare l'esposizione del feto in utero a tali sostanze.

In particolare è di grande interesse farlo nell'ambito della provincia di Pistoia, in cui è molto diffusa l'attività florovivaistica.

Alcune sostanze, infatti, che sono oggetto di continua attenzione da parte del Centro di Medicina del Lavoro dell'Azienda USL 3 e che vengono studiate nel sangue, nelle urine, sulla cute e sugli abiti dei lavoratori e dei loro familiari, potrebbero attraversare la barriera placentare ed esporre il prodotto del concepimento a possibili effetti teratogeni o tossici.

L'idea da cui nasce la nostra ricerca, dunque, è quella di valutare, attraverso il loro dosaggio nel meconio, l'esposizione del feto in utero ad alcuni degli inquinanti ambientali impiegati più massicciamente in agricoltura nella provincia di Pistoia.

La presenza, infatti, di sostanze inquinanti nel meconio (prime feci del neonato) testimonia che, durante la gravidanza, è avvenuto un passaggio transplacentare delle sostanze in oggetto.

I livelli delle sostanze testate nel meconio vengono poi messi in relazione alla tipologia del luogo di residenza e di attività lavorativa svolta dai vari componenti della famiglia e all'eventuale presenza di morbidità neonatale e malformazioni per scoprire se esiste o meno una correlazione tra livelli più alti di inquinanti ambientali nel meconio, possibilità per la madre di entrare maggiormente in contatto con tali sostanze (possibilità data dalla vicinanza dell'abitazione ai vivai o da un'attività lavorativa esercitata in ambito florovivaistico) e outcome neonatale avverso.

2. INTRODUZIONE

2.1 - LA "BARRIERA PLACENTARE"

2.1.1 - CENNI DI MORFOLOGIA PLACENTARE

La placenta è un annesso embriofetale, ovvero una di quelle strutture del prodotto del concepimento che non fanno parte del corpo dell'embrione o del feto.

La placenta umana è un organo altamente differenziato con varie funzioni: dalla respirazione e nutrizione del feto alla complessa attività endocrina, indispensabile soprattutto nelle prime fasi della gravidanza.

A termine di gestazione la placenta presenta forma discoide, con spessore che varia da 0,5 cm alla periferia del disco a 2-4 cm al centro. Il suo diametro maggiore è di 16-20 cm, con un peso compreso fra i 500 e i 600 gr (circa 1/6 del peso del bambino).

Per le sue caratteristiche funzionali e strutturali la placenta umana viene definita *emocoriale* in quanto vi è contatto diretto fra il sangue materno e la componente placentare di origine fetale (corion); in particolare il sangue fetale è separato da quello materno mediante una membrana formata da alcuni strati di tessuto di origine fetale:

- *L'endotelio dei capillari fetali* situati all'interno dei villi coriali
- *Il connettivo stromale del villo*

- L'*epitelio coriale del villo*, costituito da citotrofoblasto e sinciziotrofoblasto, quest'ultimo direttamente bagnato dal sangue materno.

Sono proprio questi quattro strati (sinciziotrofoblasto, citotrofoblasto, stroma del villo e endotelio capillare) che costituiscono la cosiddetta "barriera placentare", indispensabile per lo stabilirsi di rapporti funzionali fra sangue fetale e sangue materno e per garantire al contempo la separatezza delle due circolazioni.

2.1.2- LA CIRCOLAZIONE PLACENTARE

Nella placenta si osservano due diverse tipologie di arterie deciduali:

- Le arterie spirali. Presentano decorso spiraliforme; esse, giunte nello spazio intervilloso, si interrompono come se fossero spezzate, per cui il sangue materno viene emesso a zampillo e circola liberamente fra i villi stessi.
- Le arterie basali. Costituiscono quella parte di arterie deciduali che non subisce modificazioni importanti nel processo di decidualizzazione; rimangono di piccole dimensioni ed hanno la sola funzione di nutrire la mucosa uterina durante tutta la gestazione.

Lo spazio intervilloso è lo spazio compreso fra la lamina basale della decidua e la lamina coriale; esso contiene i villi e nel suo spessore circola liberamente il sangue materno destinato agli scambi feto-placentari.

Il volume dello spazio intervilloso a termine di gravidanza è stato stimato da 175 a 250 ml, pari cioè a circa un terzo del volume della placenta.

Gli scambi a livello placentare avvengono secondo la seguente modalità: il sangue fetale, a bassa concentrazione di ossigeno, viene pompato dal cuore fetale verso la placenta lungo le arterie ombelicali e trasportato dalle varie branche delle arterie stesse verso i capillari dei villi coriali; il sangue materno, invece, affluisce tramite le arterie spiraliformi alla decidua, a livello degli spazi vascolari che circondano i villi. Non vi è, dunque, come già si è detto, alcuna mescolanza tra il sangue fetale contenuto nei villi coriali e quello di origine materna contenuto negli spazi intervillosi.

2.1.3- MECCANISMI FONDAMENTALI DEL PASSAGGIO TRANSPLACENTARE

La “barriera placentare” fin qui illustrata è tale, in realtà, solo da un punto di vista isto-morfologico. In effetti essa consente il trasferimento nei due sensi di numerose sostanze ed in molti casi interviene attivamente con meccanismi di permeabilità selettiva.

Varie possono essere le modalità con cui sostanze ed elementi presenti a livello della circolazione materna possono raggiungere il feto attraverso la placenta. Ecco di seguito una breve descrizione di questi meccanismi.

- **Diffusione semplice.** È un processo regolato da leggi fisiche, in cui la barriera placentare si comporta in modo passivo. Essa è il meccanismo del passaggio transplacentare della maggior parte delle sostanze di peso molecolare inferiore a 500 dalton come acqua, elettroliti (K, Na, Cl), urea, acido urico, creatina, creatinina e dei gas respiratori, ossigeno e anidride carbonica. Il movimento passivo di questi elementi attraverso la barriera placentare avviene secondo gradiente di concentrazione, vale a dire che le sostanze migrano dal comparto a maggiore concentrazione (soluzione ipertonica) verso quello a concentrazione minore (soluzione ipotonica).

La diffusione semplice è, infatti, regolata dalla Legge di Flick espressa dalla formula:

$$Q / t = K * A (C_m - C_f) / D$$

Dove:

«Q» è la quantità di sostanza trasferita nel tempo t;
dunque «Q/t» è la quantità di sostanza trasferita nell'unità di tempo;

«K» è la costante di diffusione della sostanza;

«A» è la superficie funzionale di scambio;

«C_m» è la concentrazione della sostanza nel sangue materno;

«C_f» è la concentrazione della sostanza nel sangue fetale;

«D» è lo spessore della barriera placentare.

La costante di diffusione della sostanza (K) dipende da molti fattori; in particolare, essa è direttamente proporzionale al grado di liposolubilità ed inversamente proporzionale al peso molecolare e al grado di ionizzazione della sostanza stessa. La superficie di scambio (A) dipende dal rapporto e dalle caratteristiche dei due flussi ematici materno e fetale e dall'estensione anatomica dei villi integri. Lo spessore della barriera (D) dipende dalle

caratteristiche morfologiche dei vari strati che la compongono.

Va infine tenuto presente che nel caso dei gas respiratori, al posto della concentrazione (C_m e C_f) nella Legge di Flick, si utilizzano i valori della loro pressione parziale.

- Diffusione facilitata. È una forma speciale di passaggio transplacentare in cui l'equilibrio ai due lati della barriera viene raggiunto in un tempo molto più breve di quello previsto dalla Legge di Flick. Questo dipende dalle caratteristiche strutturali delle molecole coinvolte e dall'intervento di alcune specifiche molecole trasportatrici. Anche in questo caso la barriera placentare si comporta in modo passivo e non è consentito il trasporto contro gradiente di concentrazione. Glucosio e levoistidina sono due esempi di sostanze con diffusione facilitata.

- Trasporto attivo. È una forma di passaggio transplacentare che comporta, a seconda dei casi, l'intervento di enzimi, la combinazione temporanea con molecole che fanno parte delle strutture di membrana placentare e soprattutto il consumo di energia. Le sostanze possono essere trasferite inalterate, parzialmente modificate o addirittura possono passare solo i prodotti della loro degradazione enzimatica verificatesi all'interno della membrana placentare. Esempi di sostanze per le quali è

presumibile il trasporto transplacentare attivo sono il ferro, il calcio, le vitamine e molti amminoacidi. Il trasporto attivo è alla base della selettività della barriera placentare nei riguardi di diverse sostanze e consente in molti casi anche il passaggio di molecole contro il rispettivo gradiente di concentrazione.

- Pinocitosi. È un processo per il quale minutissime gocce di fluidi o grosse molecole vengono inglobate da invaginazioni della membrana cellulare dell'epitelio dei villi e poi incorporate nella cellula medesima. È verosimile che parte delle proteine trasferite dalla madre al feto superi la placenta con un meccanismo di pinocitosi. In particolare, la pinocitosi fa parte dei meccanismi di trasporto attivo e selettivo delle immunoglobuline G (gli anticorpi che passano in quantità maggiore) dalla madre al feto.
- Passaggio attraverso soluzioni di continuo della membrana. Meccanismo di trasporto molto importante in quanto consente il trasferimento di globuli rossi dal feto alla madre.

A conclusione di questa descrizione schematica sulle modalità di trasporto delle varie molecole attraverso la placenta, bisogna aggiungere che le conoscenze in questo campo non sono ancora molto estese.

Ad esempio si sa che molte sostanze utilizzano più di una modalità di trasferimento.

Per altre sostanze, poi, si può presumere la possibilità che, dopo aver superato la barriera placentare, queste passino nel liquido amniotico per diffusione dai vasi della superficie fetale della placenta e del funicolo, in intimo contatto con esso; ovviamente avviene un passaggio anche in senso inverso. Giunte nel liquido amniotico, le sostanze in questione possono raggiungere il feto attraverso il tratto gastro-intestinale (poiché il feto deglutisce liquido amniotico), l'apparato respiratorio (il feto, infatti, inala piccole quantità di liquido), o la cute fetale. Di questa modalità di scambio materno-fetale, che possiamo definire transplacentare-transamniotica (per distinguerla da quella classica transplacentare-transematica, in cui le sostanze che superano la placenta raggiungono il feto tramite la circolazione sanguigna feto-placentare), non sono noti molti dettagli; tuttavia si presume che si tratti di un fenomeno di dimensioni molto modeste rispetto agli scambi descritti in precedenza; inoltre si ritiene che questa modalità di scambio venga sfruttata quasi esclusivamente dalle piccole molecole che possono superare le pareti dei vasi, il connettivo intorno ad essi e la membrana amniotica con un meccanismo di diffusione semplice.

Una quantità difficilmente valutabile, ma verosimilmente piccola, di sostanze, vengono poi scambiate direttamente fra compartimento materno e compartimento amniotico per

diffusione attraverso le membrane amniocoriali, indipendentemente, dunque, dalla placenta. È il caso dei cosiddetti scambi paraplacentari, che interessano soprattutto piccole molecole e che avvengono con il meccanismo della diffusione semplice.

Riassumendo possiamo dire che gli scambi di sostanze fra madre e feto sono tanto più facili quanto più è basso il peso molecolare della sostanza che viene scambiata; inoltre la direzione e la velocità di diffusione dipendono dal gradiente di concentrazione fra i due compartimenti in modo tale che le molecole passano da quello a concentrazione più alta verso quello a concentrazione più bassa con velocità tanto maggiore quanto più ampia è la differenza fra le due concentrazioni.

2.2- DATI DELLA LETTERATURA SULL'ESPOSIZIONE DEL FETO ALL'INQUINAMENTO

-Principali studi condotti fino ad oggi-

Varie sono state, negli ultimi anni, le metodiche di approccio rispetto a questa materia di studio. Dalla letteratura emerge, in particolare, che diverse sono state soprattutto le matrici su cui si sono ricercate le sostanze inquinanti: sangue cordonale, meconio, capelli, latte materno.

Nelle prossime pagine illustreremo gli studi più significativi.

- ❖ *Associazione tra esposizione della madre a pesticidi organoclorurati e crescita fetale e durata della gestazione in una popolazione agricola. FENSTER L. e altri. Richmond, California, USA. Aprile 2006.*

Lo studio afferma che negli Stati Uniti, fino agli anni Settanta, i composti organoclorurati venivano massicciamente utilizzati come insetticidi nel settore dell'agricoltura. Dopo la scoperta della loro tossicità negli animali, della loro persistenza nell'ambiente e del potenziale distruttivo sul sistema endocrino, il loro utilizzo è stato severamente ristretto. Nonostante queste evidenze, però, ad oggi esistono informazioni contrastanti sulla tossicità per il feto dei composti organoclorurati. Questa ricerca è stata condotta su un campione di 385 neonati e sulle loro madri, residenti in una zona della California altamente interessata dall'agricoltura; è stato messo a confronto il livello sierico materno di presenza di composti organoclorurati con la

durata della gravidanza e peso e lunghezza del bambino alla nascita. Nei risultati non si è osservata una significativa associazione tra alti livelli di composti organoclorurati nel sangue materno e parti pretermine o basso peso alla nascita nel neonato.

❖ *Effetti di diossina e PCB sulla salute del bambino.*

LUNDQVIST C. e altri. Arnhem, Paesi Bassi. Ottobre 2006.

Lo studio premette che diossina e PCB sono inquinanti ambientali altamente persistenti e tossici, derivanti prevalentemente dall'incenerimento e dalla contaminazione alimentare. Essi sono, dunque, largamente presenti in natura e nel nostro cibo quotidiano (compreso il latte materno), cosicché praticamente tutti i bambini ne sono esposti a livelli degni di segnalazione. Il risultato dello studio è che la tossicità di diossina e PCB si può ben riscontrare alla base di patologie endocrine e del sistema cognitivo, della riduzione del Q.I., in alcune modificazioni del comportamento; nel neonato sono attribuibili a tale contaminazione certe conseguenze quali ridotto peso alla nascita e aumentate anomalie congenite.

- ❖ *Persistenza degli inquinanti organici nel latte materno nei paesi asiatici. TANABE S. e altri. Matsuyama, Giappone. Marzo 2007.*

In questo studio viene analizzato il latte materno raccolto in alcune zone del continente asiatico come Giappone, Cina, Indonesia, Filippine, Vietnam, India, Malaysia fra il 1999 e il 2003. Tali analisi hanno dimostrato la presenza, in questa matrice, di inquinanti ambientali, PCB, diclorodifeniltricloroetano e suoi metaboliti, composti clorurati.

- ❖ *Contaminazione materna con PCB e outcome riproduttivo nella popolazione australiana. KHANJANI N., SIM M.R. Melbourne, Australia. Marzo 2007.*

È stato preso un campione di 200 madri nel latte delle quali si è valutata l'esposizione materna a PCB e gli effetti di questi inquinanti sulla loro prole. Da questo studio non sono state rilevate significative associazioni tra avvenuta contaminazione materna da PCB e basso peso alla nascita nel neonato o piccoli per età gestazionale (S.G.A.) o aborto o parto prematuro. Questi risultati suggeriscono, dunque, che una contaminazione cronica e contenuta del feto e del neonato con PCB non è causa nell'uomo di danni per la riproduzione.

- ❖ *Esposizione in utero ad inquinanti organici rilevati sul sangue funicolare e sul meconio in tre diverse località cinesi della provincia di Zhejiang. ZHAO G. e altri. Wuhan, Cina. Maggio 2007.*

Sono stati misurati i livelli di PCB e dei composti organoclorurati nel sangue funicolare e nel meconio in tre località: Luqiao, città con alta concentrazione di attività in cui si utilizzano massicciamente PCB; Pingqiao e Lin'an, cittadine nelle quali non sono presenti attività importanti in cui si faccia uso delle sostanze in questione. Il risultato è stato che i campioni di sangue funicolare e di meconio prelevati a Luqiao presentavano livelli molto più alti di PCB rispetto a quelli provenienti dalle altre due località.

- ❖ *Accumulo di composti organoclorurati sia in utero che dopo la nascita in bambini con condizioni ambientali diverse. CARRIZO D. e altri. Barcellona, Spagna. Giugno 2007.*

Lo studio è stato effettuato su due gruppi di bambini; il primo composto da soggetti nati fra il 1997 e il '98 nell'Isola di Minorca; il secondo con bimbi nati fra il '97 e il '99 a Ribera d'Ebre, una zona della Catalogna con alta concentrazione di insediamenti agricoli e industriali. Le matrici di studio utilizzate sono state il sangue funicolare (alla nascita) e un prelievo venoso effettuato successivamente all'età di quattro anni. Le concentrazioni ematiche dei composti organoclorurati sono

state poi messe a confronto con le caratteristiche delle fonti di inquinamento locale. L'esposizione cronica all'esaclorobenzene presente nell'aria a Ribera d'Ebre ha portato i soggetti a dimostrare un'alta concentrazione in utero che è poi andata ad aumentare nei primi quattro anni di vita; similamente, nel gruppo di Minorca, sono state rilevate notevoli concentrazioni di PCB (policlorobifenili) in utero e ancora più alte nel prelievo di quattro anni dopo. Lo studio conclude che l'esposizione cronica all'inquinamento locale da composti organoclorurati comporta conseguenze dirette sui bambini che vivono nella zona esposta; segni di questa influenza sono gli alti livelli di presenza di tali sostanze riscontrati nei campioni raccolti sia alla nascita che a quattro anni di età.

❖ *Effetti dell'esposizione prenatale a tossine sulla salute mentale di bambini e adolescenti. WILLIAMS J.H., ROSS L., Aberdeen, Scozia. Giugno 2007.*

Il presente studio si basa su una revisione sistematica della letteratura esistente su questo argomento. Dalla revisione emerge che le più importanti conseguenze sullo sviluppo neurologico sono date da sostanze come: piombo, PCB, mercurio, cocaina, alcool, marijuana, sigarette, farmaci anti-depressivi. In particolare piombo e PCB hanno effetti generali sullo sviluppo cerebrale, mentre marijuana e alcool sembrano avere effetti a lungo termine soprattutto sulla capacità di attenzione.

❖ *Tossicità dei pesticidi e sviluppo cerebrale. ESKENAZI B. e altri. Berkeley, California, USA. Febbraio 2008.*

Studio recentissimo, in cui si è studiata una popolazione residente in ambiente fortemente utilizzato per la produzione agricola. Si è cercata una correlazione fra livelli sierici materni di alcuni pesticidi e sviluppo cerebrale del bambino. Come nello studio precedente, i risultati hanno dimostrato un'associazione negativa fra alta esposizione materna ai pesticidi e sviluppo mentale nel bambino a 6, 12 e 24 mesi.

Prendendo visione di quanto ad oggi esiste in letteratura, si può concludere che le sostanze esaminate nei vari studi hanno la proprietà, accertata da più lavori scientifici, di attraversare la barriera placentare. La presenza di tali sostanze, infatti, si rileva sia nella matrice di origine materna (qualunque essa sia: latte, siero, urina) che in quella feto-neonatale (sia essa meconio, sangue funicolare o siero).

Varie contraddizioni emergono, però, sui loro effetti feto-neonatali sia a breve termine (durata della gravidanza e condizioni neonatali quali peso alla nascita, lunghezza) che a lungo termine (sviluppo cerebrale e delle capacità cognitive, Q.I., disordini endocrini...). Sembra, infatti, che piombo e PCB abbiano ripercussioni negative sullo sviluppo cerebrale, così come marijuana e alcool ne avrebbero sulla capacità di attenzione; per quanto riguarda altri pesticidi, invece, gli studi

condotti finora hanno dimostrato che, pur attraversando la placenta, essi non generano effetti negativi nel prodotto del concepimento né alla nascita né nei primi anni di vita.

2.3- CARATTERISTICHE AMBIENTALI DELLA PROVINCIA DI PISTOIA

La provincia di Pistoia, ormai da anni sede privilegiata dell'attività vivaistica, è leader in Europa nella produzione di piante ornamentali, in particolare da esterno.

Questo primato è dato sia dalla superficie complessiva dei terreni che occupa, sia dalla vastità dell'assortimento dimensionale e varietale: a Pistoia, infatti, si può trovare dalla giovane pianta all'esemplare adulto di moltissime specie e varietà.

Questa caratteristica della città, per cui Pistoia è conosciuta in tutto il mondo, ha origini lontane. Nel XVIII secolo, infatti, i contadini pistoiesi già si occupavano, oltre che delle coltivazioni tradizionali, dei giardini dei signori della città, caratterizzandoli con piante note, ma anche e soprattutto di origine esotica.

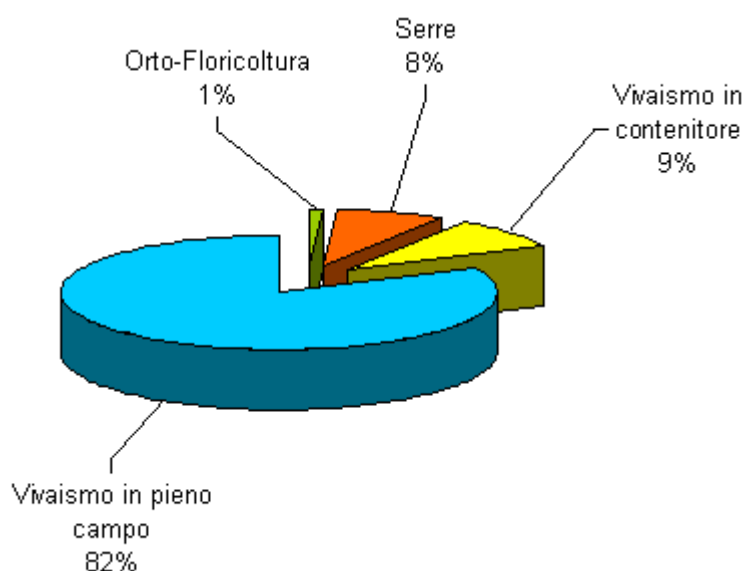
Alla fine dell'800, poi, quando Firenze divenne capitale del Regno d'Italia, si rese necessario - tanto per abbellire ancora di più la città quanto per dotarla di aree verdi capaci di soddisfare la popolazione in continuo aumento - incrementare la coltivazione di piante ornamentali per rifornire la neo capitale.

In seguito il buon clima, la cui versatilità lo rendeva e lo rende ancora oggi adatto allo sviluppo di una tipologia di piante provenienti dalle regioni più diverse, ed il terreno altamente fertile, hanno contribuito alla crescita progressiva ed inesorabile di questa attività: a fianco di produzioni tipiche che traggono origine dai giardini delle ville rinascimentali toscane come

agrumi in vaso, frutti e piante topiate, iniziano a sorgere nuove coltivazioni di piante esotiche provenienti da paesi lontani e che qui riuscivano a trovare il luogo adatto per crescere e svilupparsi.

Il fattore climatico, dunque, unito al fatto che la quasi totalità delle piante viene commercializzata per via gomma e che Pistoia è ottimamente inserita nella rete autostradale A11-A1, ha contribuito nei secoli allo sviluppo di questa attività la quale è oggi concentrata nella valle dell'Ombrone pistoiese ed interessa oltre 5.200 ettari e quasi 1.500 aziende.

Culture specialistiche	Superficie m²	Superficie ha	%
Orto-Floricoltura	572.686,24	57,27	1,09
Serre	4.206.721,77	420,67	7,98
Vivaismo in contenitore	4.577.510,15	457,75	8,68
Vivaismo in pieno campo	43.380.801,15	4.338,08	82,26
Totale Complessivo	52.737.719,31	5.273,77	100,00



Nel corso di un'indagine effettuata dall'Azienda USL 3 di Pistoia nel 1996, furono stimate all'interno della provincia pistoiese 800 aziende floricole con S.A.U. (superficie agricola utilizzata) di 350 ha e 1800 aziende vivaistiche con S.A.U. di 4300 ha. Nel 2003 un'indagine ARSIA (agenzia regionale per lo sviluppo e l'innovazione del settore agricolo forestale) ha stimato, nello stesso territorio, 1400 aziende vivaistiche con S.A.U. di 5000 ha.

Il recentissimo studio "Monitoraggio impieghi sostanze chimiche 2005-2006" condotto dall'Azienda USL 3 di Pistoia, ha rilevato gli impieghi effettivi dei prodotti fitosanitari tramite l'acquisizione delle copie dei registri dei trattamenti relativi all'anno 2006.

I registri contenenti informazioni complete - e quindi i soli considerati al fine della rielaborazione dei dati - risultano 150 tra aziende vivaistiche (102) e floricole (48).

Per essere meglio monitorati, i prodotti fitosanitari sono stati suddivisi per classe funzionale: diserbanti, fungicidi, insetticidi/acaricidi.

Tale indagine ha permesso di individuare, fra i prodotti fitosanitari impiegati, 52 principi attivi appartenenti a 11 classi chimiche, alcuni dei quali così rilevanti da essere citati nel "10th Report of Carcinogenes" del U.S. Department of Health and Human Services del dicembre 2002.

Riporto di seguito le tabelle che indicano le sostanze attive, con relativa percentuale d'impiego d'impiego, presenti in ogni classe funzionale di prodotto fitosanitario impiegato dalle aziende vivaistiche (tabelle 1, 2, 3) e floricole (tabelle 4, 5, 6).

Tabella 1: DISERBANTI (aziende vivaistiche)

SOSTANZA ATTIVA	%
Glifosate	38,89
Pendimetalin	31,91
Oxadiazon	22,22
Oxifluorfen	2,83
Glufosinate ammonio	2,65
altri	1,5

Tabella 2: INSETTICIDI-ACARICIDI (aziende vivaistiche)

SOSTANZA ATTIVA	%
Metomil	28,07
Olio minerale	26,46
Metidation	6,95
Azinfos-metile	6,47
Aldicarb	4,61
Imidacloprid	4,3
Clorpirifos metile	3,35
Dimetoato	2,95
Diclorvos	2,3
altri	14,54

Tabella 3: FUNGICIDI (aziende vivaistiche)

SOSTANZA ATTIVA	%
Solfato di rame	43,17
Ossicloruro di rame	10,29
Metalaxil	8,21
Tiofanato metile	7,34
Mancozeb	4,47
Fosetil alluminio	3,7
Ditianon	3,47
Zolfo	2,31
altri	17,08

Tabella 4: DISERBANTI (aziende floricole)

SOSTANZA ATTIVA	%
Glifosate	34,29
Oxadiazon	31,85
Alaclor + Terbutilazina	?
Paraquat	0,10
Pendimetalin	24,51
Glufosinate ammonio	5,17
MCPA	1,36
altri	2,73

Tabella 5: INSETTICIDI-ACARICIDI (aziende floricole)

SOSTANZA ATTIVA	%
Endosulfan	5,72
Metomil	10,01
Diclorvos	/
Metiocarb	2,58
Azociclotin	/
Metamidofos	/
Paration	/
Monocrotofos	/
Abamectina	7,38
Dimetoato	1,70
Azinfos metile	18,43
Ciromazina	/
Olio minerale	15,19
Metidation	3,09
Propargite	2,70
Imidacloprid	2,49
Alfametrina	0,04
Clofentezine	0,25
Deltametrina	0,78
Diazinone	0,74
Ometoato	/
Buprofezin	1,13
altri	24,42

Tabella 6: FUNGICIDI (aziende floricole)

SOSTANZA ATTIVA	%
Propineb	11,58
Mancozeb	12,84
Iprodione	33,76
Captano	0,69
Metiram	2,60
Carbendazim	2,20
Vinclozolin	0,05
Tiram	1,54
Zineb	/
Zolfo	10,96
Triforine	/
Rame	14,71
Clorotalonil	30,46
Dodemorf	0,14
Procimidone	2,66
Tolclofos metile	20,31
Bupirimate	0,05
Tiofanato metile	13,64
Benomil	/
Ossicarbossina	/
altri	35,08

2.4- PRESENTAZIONE DELLA RICERCA

La presente ricerca nasce proprio nel contesto pistoiese dove, come abbiamo illustrato nel paragrafo precedente, l'utilizzo di sostanze potenzialmente tossiche e teratogene è particolarmente esteso e massiccio. A partire da questa peculiarità della zona abbiamo, dunque, pensato che fosse di notevole interesse andare a valutare il grado di esposizione del feto a queste sostanze durante la gravidanza per poter concludere se vi è o meno una correlazione fra maggior esposizione materna e maggior esposizione fetale e fra questi due fattori e condizioni sfavorevoli del bambino alla nascita.

Per raggiungere questo risultato abbiamo avuto bisogno della collaborazione di molti professionisti e di diverse strutture.

Innanzitutto ci siamo mossi per ottenere il consenso del Comitato Etico Locale dell'Az. USL 3 per avere l'autorizzazione a condurre le indagini necessarie. Dopo un primo responso negativo del febbraio 2008, in cui i membri del Comitato chiedevano alcuni chiarimenti agli sperimentatori, abbiamo ottenuto il consenso a procedere con la ricerca a luglio 2008.

Nel frattempo ci siamo messi in contatto con il Dott. Aldo Fedi, responsabile del Centro di Medicina del Lavoro della Azienda USL 3, il quale ha lavorato sulla determinazione delle zone di residenza, catalogandole in "a rischio" e "non a rischio" in base alla vicinanza ai vivai: rientrano nella categoria "zona a rischio" le abitazioni distanti un massimo di 300 metri in linea d'aria dall'area più vicina adibita a vivaio.

Nello stesso periodo abbiamo preso contatti con il Laboratorio Analisi dell'Az. USL 3, in particolare con il Direttore, Dott. Riccardo Lari, al quale abbiamo parlato del nostro progetto di ricerca e delle sostanze che volevamo indagare nella matrice fetale. In accordo con il Dott. Lari è stato deciso di rivolgersi al Laboratorio di Sanità Pubblica – Tossicologia Occupazionale di San Salvi, Firenze, dove di routine vengono ricercate, in varie matrici biologiche e non, proprio quelle sostanze inquinanti di nostro interesse per lo studio in oggetto.

A questo punto, stabilite le preziose collaborazioni, ci siamo riuniti varie volte insieme con Dott. Fedi, Dott. Lari, Dott. Bavazzano (biologo, Direttore del Laboratorio di San Salvi), Dott. Andrea Perico (chimico dello stesso Laboratorio) per mettere a punto la procedura per le indagini da effettuare al fine dello studio.

La nostra idea iniziale era di utilizzare come matrice di studio il sangue funicolare, potendo esso essere facilmente raccolto alla fine del parto e prima del secondamento dalla stessa ostetrica che assiste il parto, al livello del moncone placentare del funicolo reciso.

Considerando, però, le caratteristiche farmacocinetiche e farmacodinamiche delle sostanze oggetto dell'indagine, veniva fuori un dato molto importante: il sangue avrebbe contenuto soltanto le sostanze con cui la madre è venuta in contatto nelle ultime 72-96 ore prima del parto; sapendo, per esperienza clinica, che molte mamme iniziano il loro ricovero nel reparto di

Ostetricia alcuni giorni prima dell'inizio del travaglio (questo avviene per la presenza di patologie materne in cui diviene estremamente importante per la salute sia materna che fetale poter tenere il soggetto sotto stretto controllo), dosando le nostre sostanze nel sangue cordonale avremmo avuto molti falsi negativi. Il sangue, insomma, è una matrice biologica che rivela soltanto i dati indicativi dell'esposizione acuta, quella delle ultime ore prima del prelievo.

Significativo di un'esposizione cronica è, invece, il meconio. Le prime feci del neonato, infatti, iniziano ad essere prodotte intorno alla 16^a settimana di gravidanza, quando il canale intestinale inizia a riempirsi di un liquido verdastro, e vengono emesse solo dopo la nascita (salvo i casi di sofferenza fetale acuta o cronica in cui piccole quantità di meconio vengono rilasciate dall'intestino fetale rispettivamente durante il travaglio o nel corso della gravidanza).

Questo significa che il meconio porta con sé "la storia" di tutta la gravidanza e che il non rilevare qui la presenza di una data sostanza ci autorizza ad escludere che effettivamente questa sostanza sia entrata in contatto con la madre durante la gravidanza o che essa attraversi la barriera placentare.

A questo punto, ottenuto nel frattempo il parere favorevole del Comitato Etico Locale a procedere allo studio, il Laboratorio Analisi di Tossicologia Occupazionale ha iniziato a lavorare con la matrice scelta impegnandosi nel mettere a punto il metodo per esaminarlo.

Nel frattempo, essendo stato deciso che la matrice da esaminare sarebbe stata il meconio, abbiamo cercato accordi con l'U.O. Pediatria affinché le infermiere del Nido ci dessero la loro disponibilità a raccogliere il meconio nel momento del cambio del primo pannolino e a metterlo nelle apposite provette fornite dal Laboratorio di Tossicologia Occupazionale. Con il consenso del Dott. Botti (facente le veci di Primario dell'U.O. Pediatria) e della coordinatrice infermieristica dell'Area Materno-Infantile Luisella Chieli, sono state informate le infermiere del Nido sulla modalità di prelevamento e conservazione dei campioni di meconio.

Eseguiti vari tentativi di ricerca delle sostanze in oggetto sulla matrice biologica prescelta, i laboratoristi ci hanno comunicato che si poteva procedere all'invio dei campioni soggetti dello studio.

Dopo avere, dunque, somministrato alle mamme un questionario per la raccolta dei dati relativi al domicilio e all'outcome neonatale ed un modulo di consenso informato per partecipare alla ricerca, si è potuto iniziare a raccogliere il meconio; i campioni sono stati via via consegnati al Laboratorio di Tossicologia Occupazionale per essere esaminati, mentre il Centro di Medicina del Lavoro classificava ogni domicilio in "zona a rischio" o "zona non a rischio".

Dopo circa un mese siamo stati finalmente in grado di tirare le somme di questo lavoro potendo mettere in relazione i

risultati dei campioni esaminati con i dati emersi dai questionari somministrati alle mamme.

3. MATERIALI E METODI

3.1- CASISTICA

La popolazione presa in esame per lo studio in oggetto è stata selezionata all'interno del Presidio Ospedaliero di Pistoia, secondo l'unico criterio di aver espletato il parto all'interno di tale struttura in un periodo compreso fra settembre e ottobre 2008. Ad ogni donna che rispondeva a questo criterio è stato proposto di partecipare allo studio, illustrato personalmente da me in qualità di sperimentatore.

Quasi tutte hanno aderito, firmando il modulo "Informativa alla paziente" (vedi Allegato 1), una sorta di consenso informato, preparato appositamente per il nostro studio e convalidato dal Comitato Etico Locale. In questo modulo si illustrano per scritto le premesse e gli scopi della ricerca, le qualifiche di sperimentatori e collaboratori, la modalità di raccolta del campione di meconio, le sostanze specifiche in esso misurate; nella stessa informativa si specifica anche che i campioni raccolti sarebbero stati utilizzati soltanto per la ricerca di queste sostanze (e non per altri tipi di indagine), che i dati personali della paziente sarebbero stati protetti dalla Legge sulla Tutela della Privacy e che esiste, comunque, un responsabile dei dati forniti dalla paziente.

Una volta ottenuto il consenso della mamma a partecipare allo studio, ho potuto procedere alla somministrazione di un questionario, anch'esso vagliato dal Comitato Etico, consistente in una "Scheda di raccolta dati" (vedi Allegato 2),

assolutamente anonima: il nome della madre, infatti, non compare, così come quello del bambino, sostituiti entrambe da un codice numerico.

In questa scheda, redatta in base a esigenze conoscitive specifiche di questa indagine, si sono raccolte notizie di diversa natura: informazioni sul domicilio della madre negli ultimi 18 mesi prima del parto e sul settore lavorativo sia della mamma che degli altri componenti della famiglia prima e durante la gravidanza; infine alcune notizie sul parto (modalità e epoca gestazionale) e sulle condizioni neonatali alla nascita (peso, Indice di Apgar, segnalazioni particolari laddove sono state fatte dal pediatra).

Nel frattempo le infermiere del Nido hanno raccolto e conservato in frigorifero il meconio dei bimbi le cui madri avevano accettato di partecipare allo studio, identificando il campione prelevato con lo stesso codice numerico assegnato alla "Scheda raccolta dati" della mamma.

A questo punto io ho iniziato a consegnare i suddetti campioni al Laboratorio Analisi di Tossicologia Occupazionale; qui sono stati esaminati e catalogati in base ai risultati che emergevano, risultati che venivano naturalmente espressi accompagnati da quello stesso codice presente sul questionario e sulla provetta contenente meconio.

Nello stesso momento ho fatto pervenire al Centro di Medicina del Lavoro dell'Az. USL 3 una tabella che metteva in relazione il codice assegnato alla madre con l'indirizzo preciso

del domicilio. Così i nostri collaboratori, in particolare Angela Veraldi, biologa del Centro di Riferimento Regionale Prevenzione Igiene e Sicurezza nel Florovivaismo, hanno potuto determinare, in base ai dati in loro possesso circa la specifica localizzazione dell'attività vivaistica a Pistoia, se quella mamma ha trascorso gli ultimi 18 mesi precedenti la gravidanza in una zona a rischio inquinamento ambientale o meno. Questo dato è stato poi comunicato a me in modo che potessi riportarlo sui singoli questionari identificati con i codici assegnati alle gestanti.

A questo punto abbiamo avuto in mano tutti i dati necessari per effettuare una comparazione fra questi e trarre le nostre conclusioni.

3.2- METODO

Generalmente l'esposizione prenatale agli inquinanti ambientali viene misurata estraendo i pesticidi o i loro metaboliti da matrici quali liquido amniotico, sangue e urine. Queste metodiche presentano, però, diversi svantaggi; per quanto riguarda il liquido amniotico, la sua raccolta è altamente invasiva e sempre associata ad un certo rischio per la gravidanza. Il prelievo di sangue è anch'esso invasivo, eccetto nel caso in cui esso provenga dal moncone placentare del funicolo reciso dopo la nascita; in più, la maggior parte dei pesticidi è altamente lipofila, per cui il loro dosaggio su sangue cordonale, liquido amniotico e urina può dar luogo ad una valutazione sottostimata dell'esposizione stessa. La raccolta dell'urina, infine, risulta nel neonato piuttosto difficoltosa senza considerare che pesticidi e loro metaboliti risultano essere transitori nel sangue e nell'urina, riflettendo soltanto i dati di un'esposizione recente piuttosto che una cronica.

Alla luce di queste evidenze, dunque, il meconio si presenta come la matrice ideale per la misurazione dell'esposizione prenatale alle sostanze di nostro interesse per varie motivazioni: la facilità di raccolta, la non invasività del prelievo e la capacità di essere significativo di un'ampia finestra di esposizione fetale.

Il meconio può dunque essere raccolto dal primo al terzo giorno dopo la nascita e fornisce risultati analiticamente positivi

per un'ampia varietà di sostanze lecite e illecite, additivi alimentari e metalli pesanti.

Nonostante questo, solo pochi studi nel mondo hanno esaminato il grado di esposizione fetale ai pesticidi attraverso la loro analisi sul meconio. Questo perché la metodica di estrazione di tali sostanze a partire da questa matrice non è semplice.

I laboratoristi del Laboratorio di Tossicologia Occupazionale di San Salvi (Firenze) hanno, infatti, svolto un importante lavoro di ricerca in letteratura prima di poter iniziare a fare le prove delle relative applicazioni pratiche; solo dopo questo studio molto complesso, che ha richiesto l'impegno di alcuni mesi, siamo approdati alla messa a punto finale della metodica di estrazione delle sostanze stabilite dalla matrice meconio.

Il principale studio presente in letteratura cui si è fatto riferimento, "Detection of several classes of pesticides and metabolites in meconium by Gas Chromatography-Mass Spectrometry" (dicembre 2005), illustra la tecnica dell'estrazione delle sostanze in oggetto dal meconio e la loro determinazione quali-quantitativa in gas cromatografia – spettrometria di massa (GC/MS).

Le sostanze che sono state ricercate sono: Terbutilazina (diserbante utilizzato nel settore floricolo), Clorotalonil, Proci-midone (fungicidi utilizzati nel settore floricolo), Metalaxil (fungicida utilizzato nel settore vivaistico), Oxadiazon, Pendi-metalin (diserbanti utilizzati nel settore vivaistico).

Preparazione del campione: 0,5 g di meconio vengono sospesi in 5 ml di una miscela estraente costituita da tampone fosfato 0,1 M a pH 7 e alcol metilico (in rapporto 25:75). La miscela viene tenuta sotto agitazione per alcuni minuti e quindi centrifugata a 4000 rpm per 15'. Un'aliquota (2 ml) del sovrana-tante viene trasferita su colonnina SPE (tipo C18 500 mg/3 ml) per la purificazione ed estrazione. I principi attivi vengono estratti con 3 ml di alcol metilico e l'estratto viene portato a secco sotto soffio di azoto. Il residuo viene ripreso con 100 µl di alcol metilico e destinato all'analisi in GC/MS.

Strumentazione: sistema GC/MS della ditta Thermo costituito da gascromatografo Trace 2000 dotato di autocampionatore AS 2000 e spettrometro di massa a trappola ionica Polaris Q.

Per il riconoscimento delle sostanze ricercate si fa riferimento a tempi di ritenzione e agli ioni target riportati nella seguente tabella.

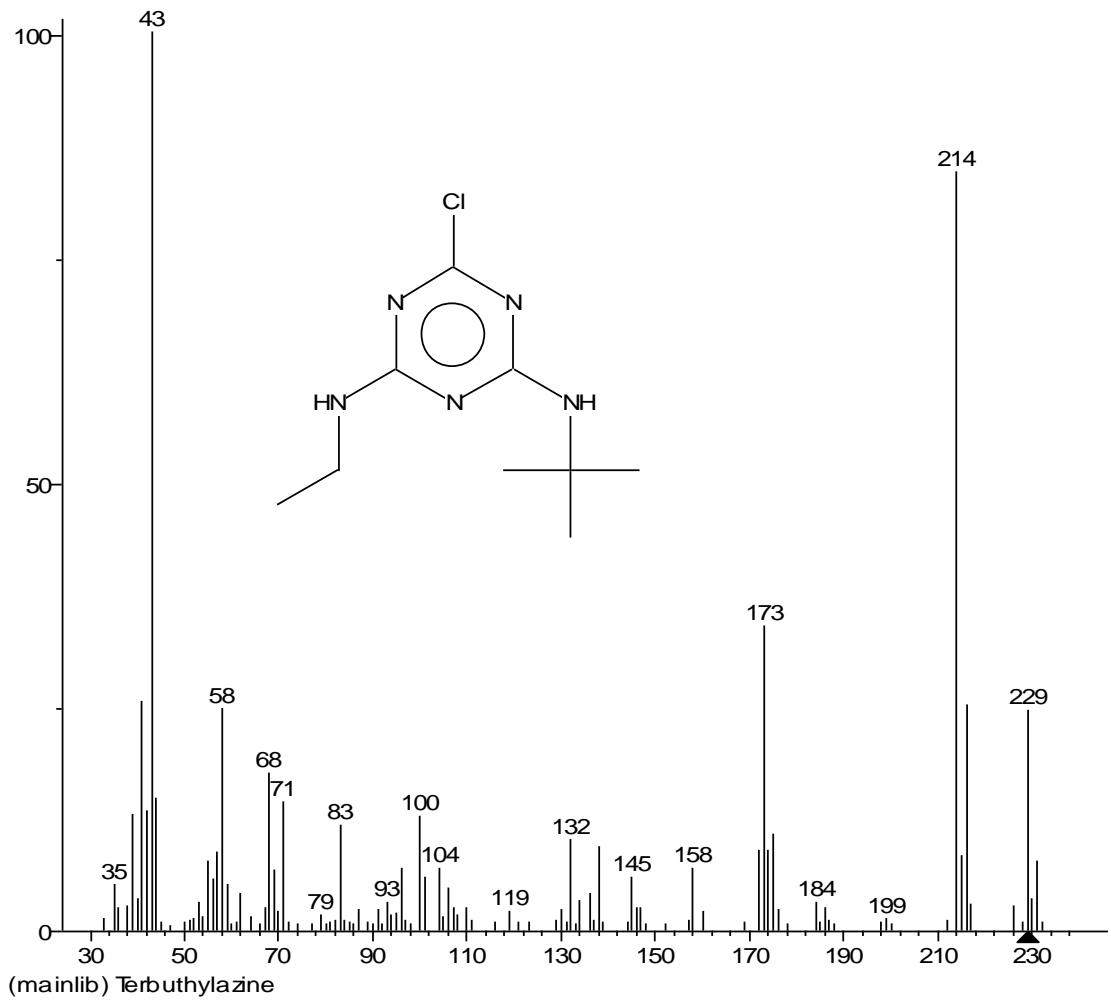
Tabella 7

Principio attivo	Tempo di ritenzione (RT)	Ione target
Terbutilazina	12,2 min.	m/z = 214
Clortalonil	12,5 min.	m/z = 266
Metalaxil	13,8 min.	m/z = 206
Pendimetalin	16,1min.	m/z = 252
Procimidone	16,8 min.	m/z = 283
Oxadiazon	18,3 min.	m/z = 175

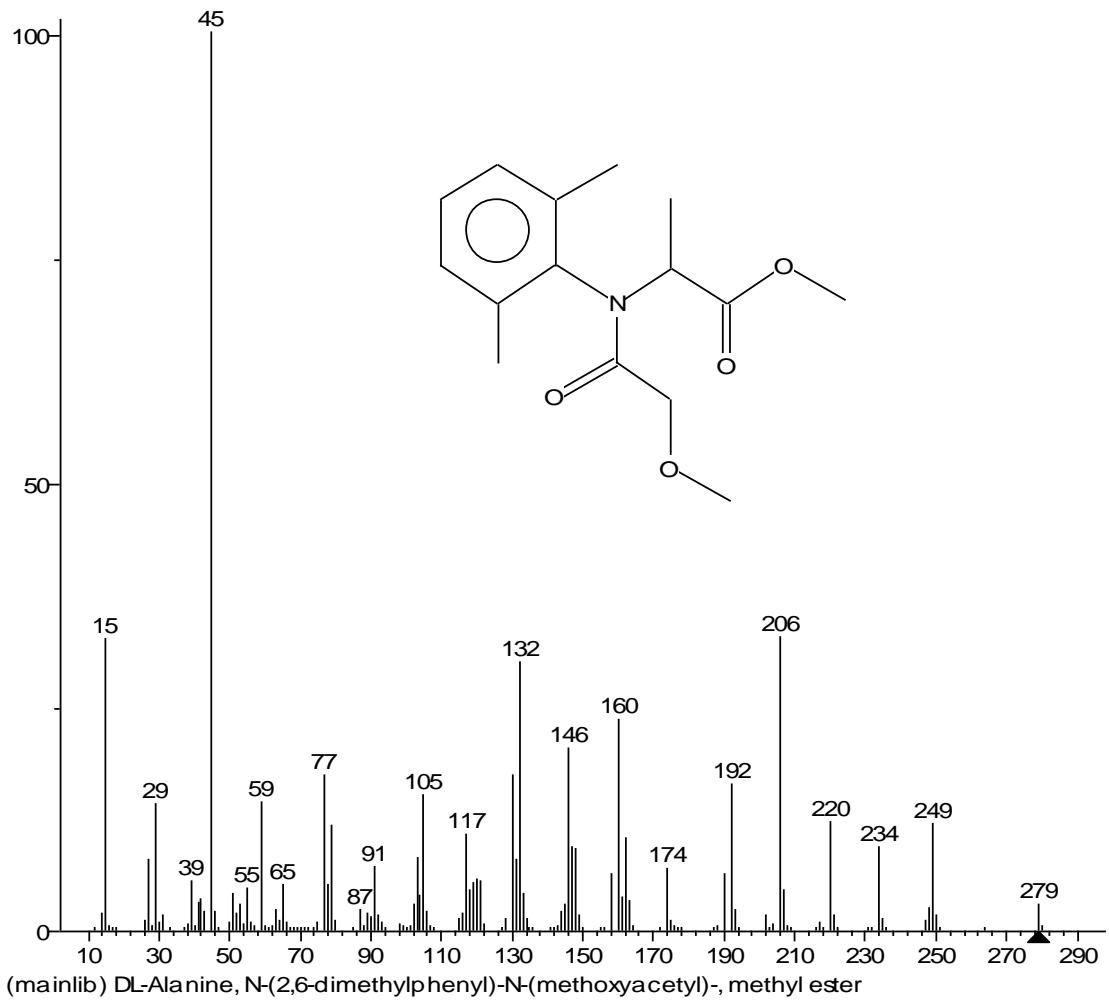
La presenza del principio attivo nel meconio viene stabilita sulla base dei seguenti criteri:

- 1) presenza di un picco con lo stesso RT misurato per la sostanza ricavato da un campione di meconio addizionato alla concentrazione di 0,2 µg/g.
- 2) concordanza > 70% con lo spettro riportato nella libreria NIST (National Institute of Standards and Technology) e ricercato attraverso l'apposito software dello strumento.

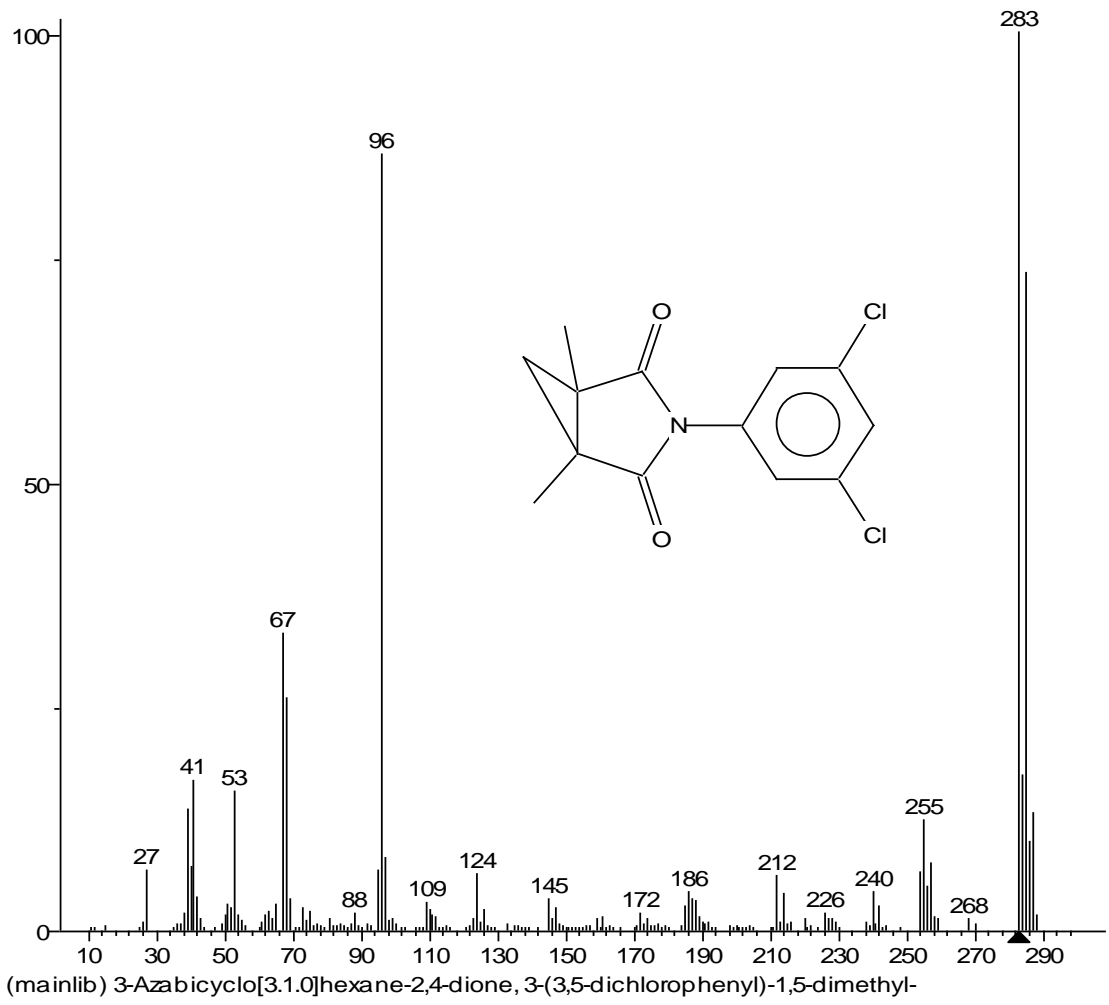
Con i criteri sopra descritti il limite di rivelabilità per tutti principi attivi ricercati è stato valutato di 0,01 µg/g di meconio. Pertanto il termine "campione positivo" significa che il principio attivo risulta in concentrazione superiore rispetto a tale limite.



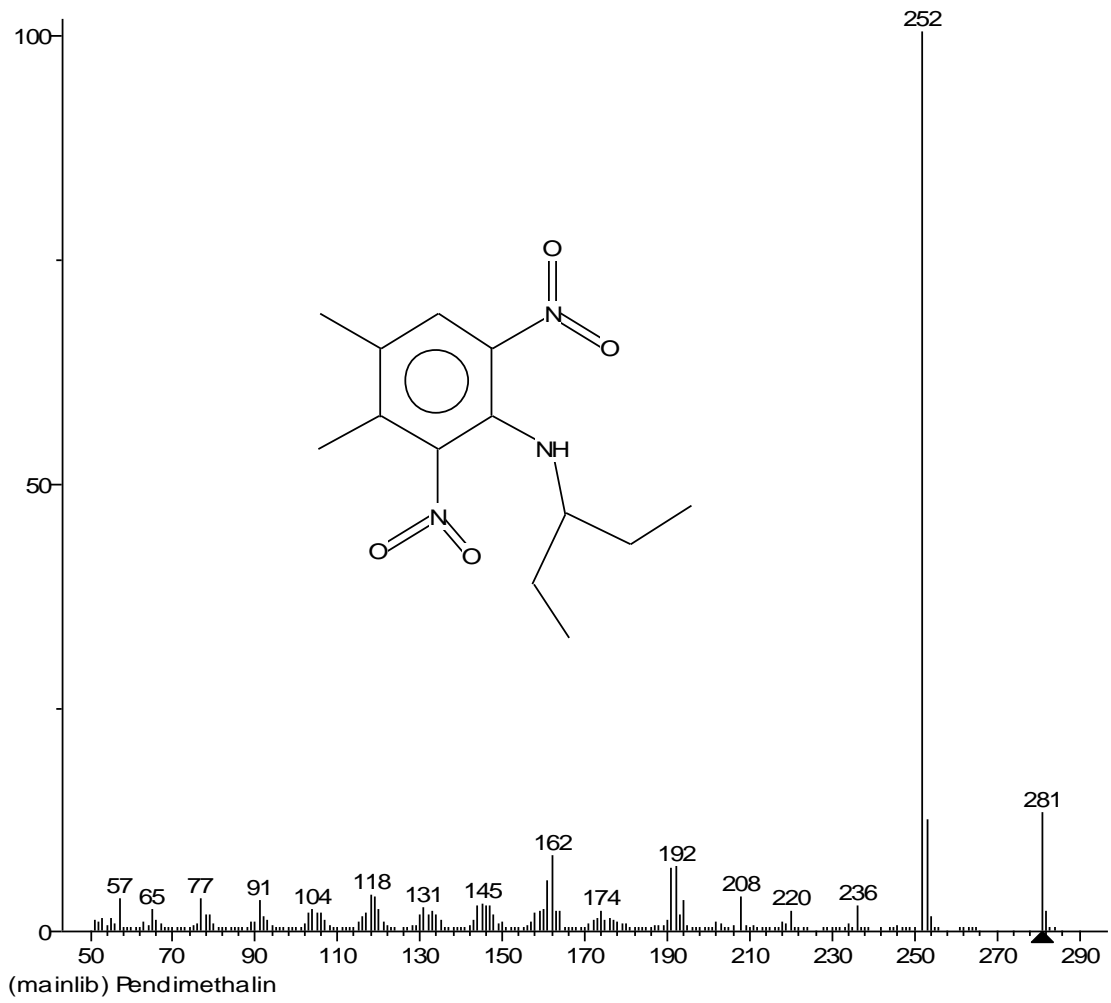
Terbutilazina



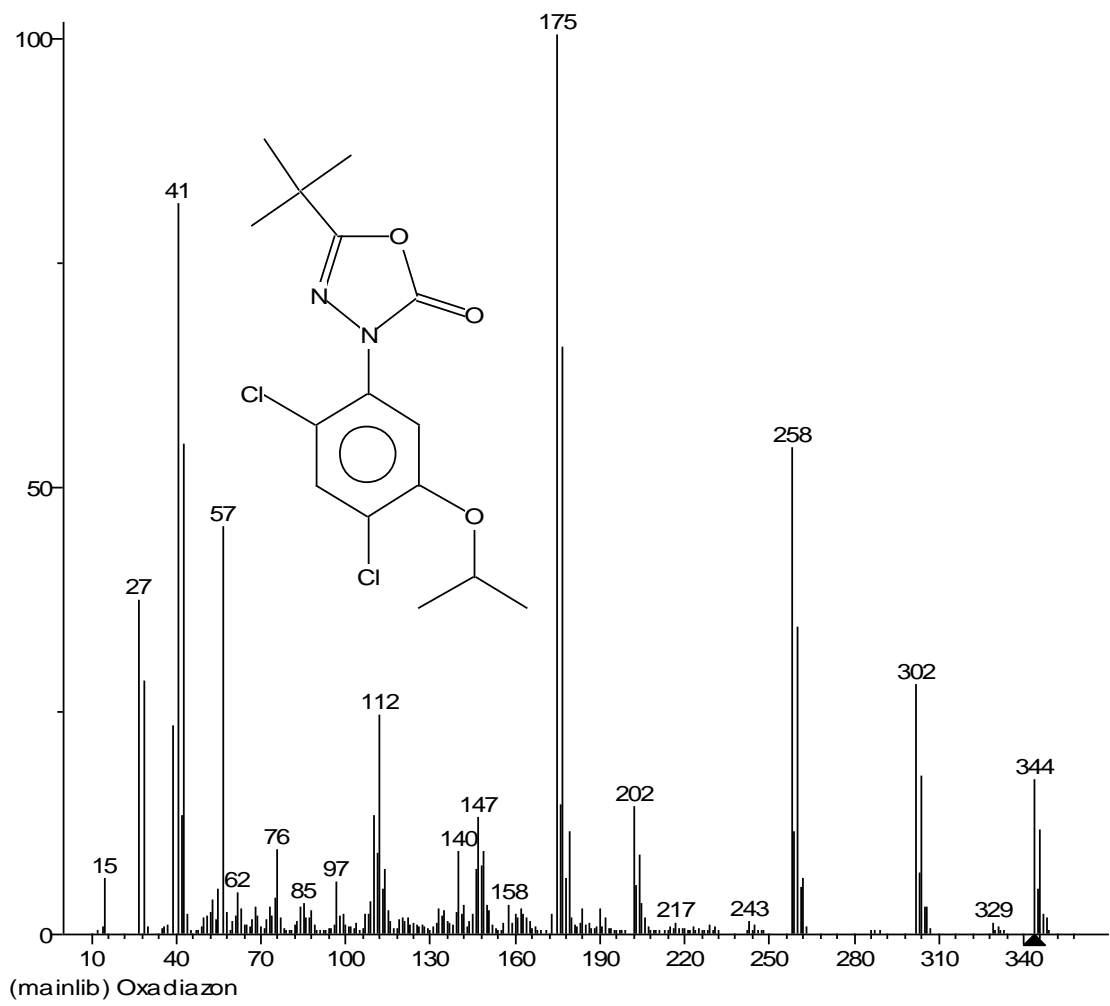
Metalaxil



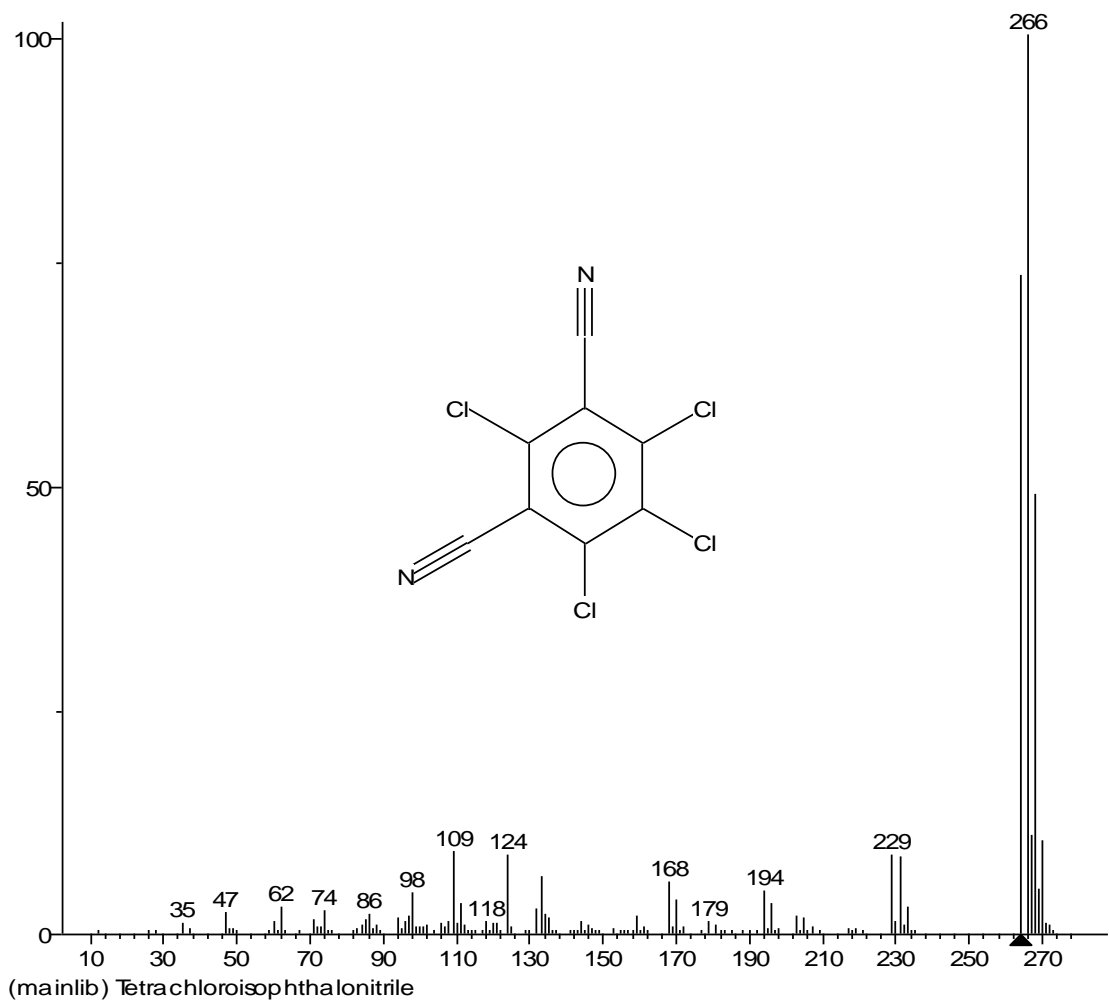
Procimidone



Pendimethalin



Oxadiazon



Clortalonil

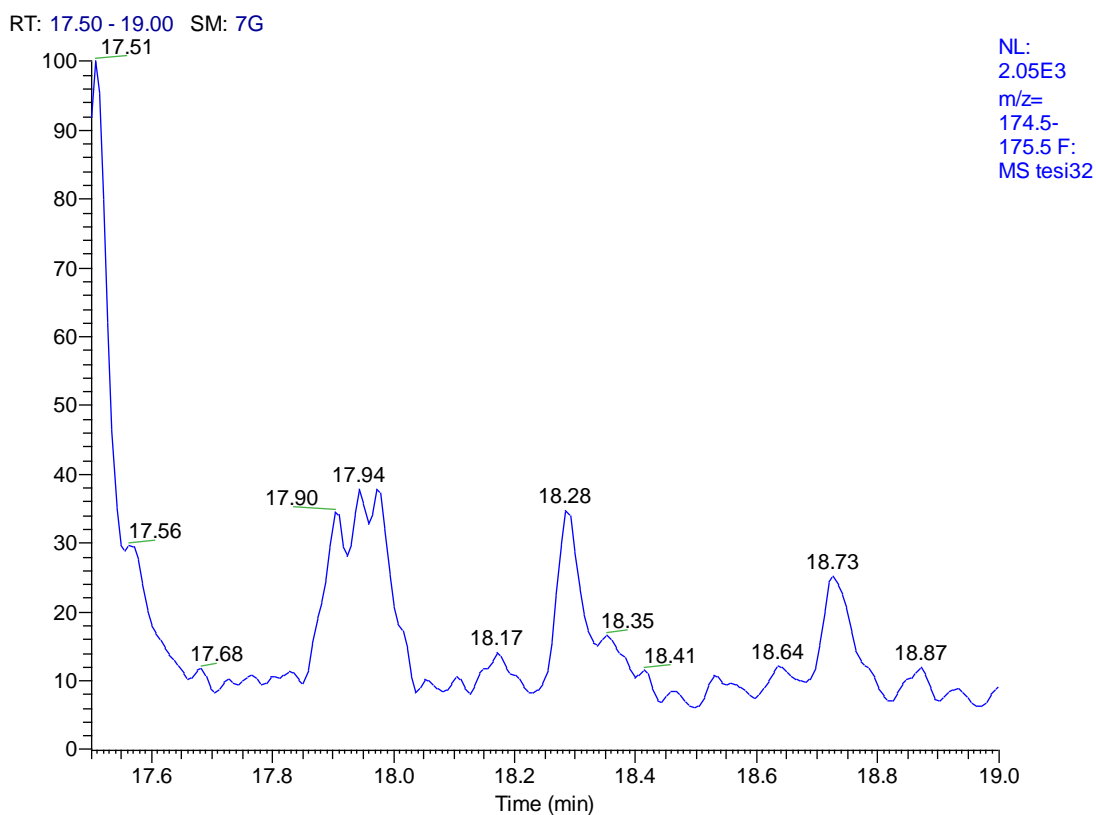
4. RISULTATI

4.1- SOSTANZE RITROVATE NEI CAMPIONI ESAMINATI

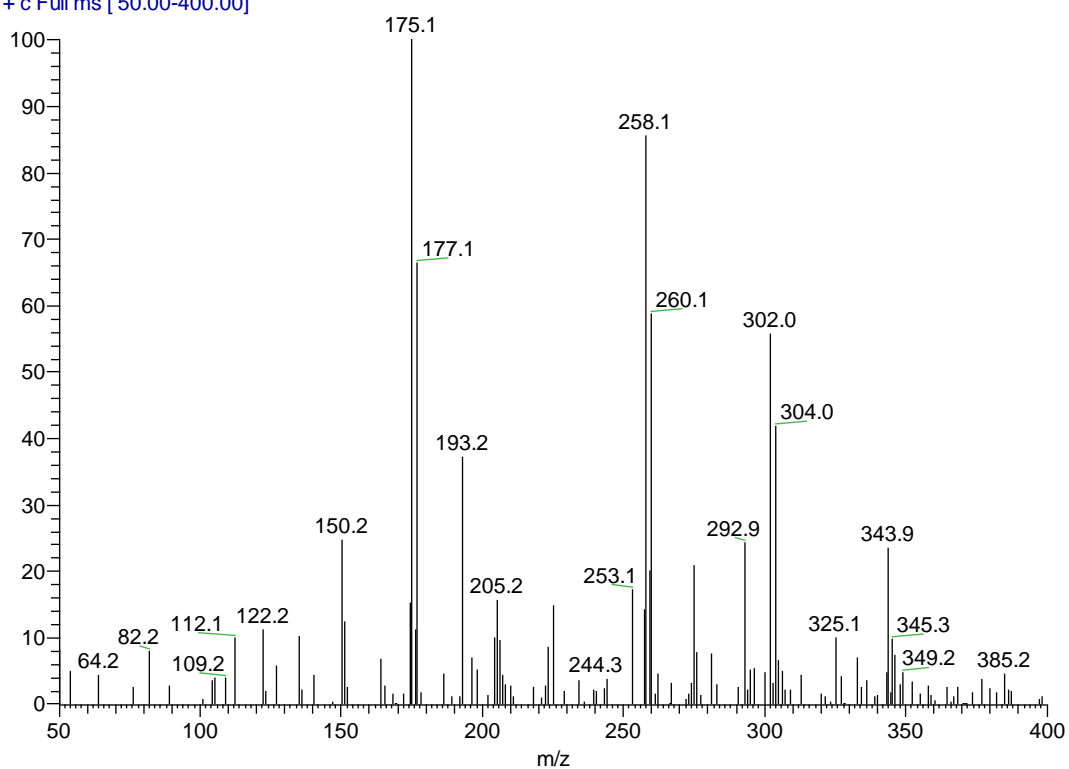
Nei 50 campioni esaminati secondo la tecnica illustrata nel paragrafo precedente, uno è risultato positivo al diserbante Oxadiazon.

L'Oxadiazon si ritrova in questo campione in una quantità pari a 0,03 µg/g, pertanto, secondo i criteri di positività stabiliti, tale campione viene classificato come positivo.

Viene qui di seguito riportata la spettrometria di massa del campione positivo trovato.



tesi32 #1082-1085 RT: 18.28-18.30 AV: 4 SB: 57 18.05-18.22 , 18.37-18.61 NL: 5.00E2
T: + c Full ms [50.00-400.00]



4.2- CORRELAZIONE CON I DATI EMERSI DAI QUESTIONARI

Il campione positivo appartiene alla categoria che il Centro di Medicina del Lavoro della nostra azienda ha catalogato come “zona a rischio”.

Il criterio che definisce la “zona a rischio”, lo ricordo, è una distanza in linea d’aria inferiore a 300 metri rispetto all’area di coltivazione vivaistica.

Riporto qui di seguito la tabella che mette in relazione i numeri delle 50 provette esaminate con la determinazione del rischio ambientale e il risultato della ricerca degli inquinanti su di esse effettuate.

Tabella 8

CODICE GESTANTE	TIPOLOGIA DELLA ZONA DI RESIDENZA	RISULTATO DELLE ANALISI
1	A RISCHIO	Negativo
2	A RISCHIO	Negativo
3	NON A RISCHIO	Negativo
4	A RISCHIO	Negativo
5	A RISCHIO	Negativo
6	A RISCHIO	Negativo
7	A RISCHIO	Negativo
8	A RISCHIO	Negativo
9	NON A RISCHIO	Negativo

10	A RISCHIO	Negativo
11	A RISCHIO	Negativo
12	A RISCHIO	Positivo per OXADIAZON
13	A RISCHIO	Negativo
14	A RISCHIO	Negativo
15	NON A RISCHIO	Negativo
16	A RISCHIO	Negativo
17	A RISCHIO	Negativo
18	A RISCHIO	Negativo
19	A RISCHIO	Negativo
20	A RISCHIO	Negativo
21	A RISCHIO	Negativo
22	A RISCHIO	Negativo
23	A RISCHIO	Negativo
24	A RISCHIO	Negativo
25	NON A RISCHIO	Negativo
26	A RISCHIO	Negativo
27	A RISCHIO	Negativo
28	NON A RISCHIO	Negativo
29	A RISCHIO	Negativo
30	A RISCHIO	Negativo
31	A RISCHIO	Negativo
32	NON A RISCHIO	Negativo
33	A RISCHIO	Negativo

34	A RISCHIO	Negativo
35	NON A RISCHIO	Negativo
36	NON A RISCHIO	Negativo
37	NON A RISCHIO	Negativo
38	A RISCHIO	Negativo
39	NON A RISCHIO	Negativo
40	NON A RISCHIO	Negativo
41	A RISCHIO	Negativo
42	A RISCHIO	Negativo
43	NON A RISCHIO	Negativo
44	NON A RISCHIO	Negativo
45	A RISCHIO	Negativo
46	NON A RISCHIO	Negativo
47	A RISCHIO	Negativo
48	A RISCHIO	Negativo
49	NON A RISCHIO	Negativo
50	A RISCHIO	Negativo

Mettendo in correlazione i risultati delle analisi effettuate sul meconio con il dato delle residenze emerso dal questionario, si osserva che l'unico campione risultato positivo per il diserbante Oxadiazon proviene dal meconio di un neonato sviluppato in utero in una zona a rischio inquinamento ambientale.

Per quanto riguarda gli altri dati raccolti nei questionari somministrati alle mamme partecipanti allo studio, è emerso che:

- l'outcome neonatale è stato sempre buono
- il 16% dei genitori risulta impiegato nel settore del florovivaismo, come dimostra la seguente tabella.

Tabella 9

CODICE PAZIENTE	GENITORE IMPIEGATO NEL SETTORE FLOROVIVAISTICO
10	PADRE
13	PADRE
28	PADRE
38	PADRE
39	MADRE
42	PADRE
44	PADRE
48	PADRE

Come si vede, la provetta risultata positiva al diserbante utilizzato nel settore vivaistico Oxadaizon non proviene da un bimbo i cui genitori risultano impiegati nel florovivaismo.

L'elaborazione dei dati emersi dai questionari e il successivo confronto con i risultati degli esami di laboratorio sul meconio ci permettono di trarre alcune conclusioni.

Innanzitutto sicuramente l'Oxadiazon è in grado di attraversare la barriera placentare, poiché è stato ritrovato in un campione; poi possiamo supporre che la madre ne sia venuta in contatto tramite la permanenza durante la gravidanza nel luogo in cui sorge la sua abitazione, visto che essa dista meno di 300 metri da un'area destinata all'attività vivaistica. Al momento del parto, comunque, l'outcome neonatale è stato buono: gravidanza a termine, parto spontaneo, neonato normopeso, punteggio di Apgar 9 al primo minuto di vita e 10 al quinto.

5. DISCUSSIONE

5.1- COMMENTO DEI NOSTRI DATI

Dalla Tabella numero 8 emergono alcuni dati che riteniamo opportuno commentare.

Per prima cosa si vede che, osservando la sola colonna delle zone di residenza, 35 di esse appartengono alla categoria “a rischio”. Questo significa che il 70% delle abitazioni da noi prese in considerazione per la presente ricerca dista meno di 300 metri da una delle tante zone destinate alla coltivazione florovivaistica.

Tale dato è del resto in pieno accordo con quanto si è detto circa le caratteristiche ambientali della provincia di Pistoia e del suo stretto rapporto con il vivaismo, tanto che essa accoglie nel suo territorio oltre 5200 ettari di terreno destinato a questo settore, di cui più dell’80% adibito a “vivaismo in pieno campo”.

In particolare, dall’analisi più approfondita delle zone di residenza (che in questa tesi non compaiono per motivi di Privacy delle mamme e dei loro piccoli), si vede che di questi 35 indirizzi, la maggior parte corrisponde ad alcuni comuni specifici: Quarrata (9 abitazioni), Agliana (7 abitazioni), Serravalle Pistoiese (6 abitazioni); i restanti appartengono ad altre zone della pianura pistoiese come Montale, Bottegone, Casalguidi, Chiazzano.

Per quel che riguarda il 30% delle abitazioni definite come appartenenti a zone “non a rischio”, osservando le corrispondenze dei loro 15 indirizzi, vediamo che essi si trovano per lo più nel centro storico della città e nelle zone immediatamente limitrofe, oppure nella collina pistoiese (Le Grazie).

Possiamo poi concludere che il fatto di lavorare nel settore del florovivaismo non comporta necessariamente una conseguente esposizione del feto in utero alle sostanze qui utilizzate. Questo dato emerge, infatti, dalla comparazione fra la Tabella 8 e la Tabella 9: il risultato della ricerca degli inquinanti sul meconio nelle provette numero 10, 13, 28, 38, 39, 42, 44 e 48 (relative ai genitori impiegati nel vivaismo) è stato negativo.

Altra conclusione che possiamo trarre è che la positività del campione per la presenza di inquinanti ambientali utilizzati nel settore del florovivaismo è indipendente, oltre che dall'attività lavorativa di uno dei due genitori, dall'esito neonatale al momento del parto: nessuno fra questi 50 neonati ha presentato anomalie da segnalare.

5.2- PARAGONE FRA I NOSTRI DATI E QUELLI DELLA LETTERATURA

Premettendo che lo studio di questa tesi si basa su un numero di casi limitato, dobbiamo riconoscere che i nostri risultati appaiono allineati rispetto alla ricerca analoga sulla quale ci siamo basati per l'analisi nel meconio degli inquinanti ambientali in oggetto.

Lo studio cui ci riferiamo è stato effettuato nelle Filippine sul meconio raccolto nell'ambito di una popolazione di 166 neonati. La ricerca, pubblicata in rete il 3 dicembre 2005, era indirizzata ad alcuni inquinanti ambientali di uso esterno (diserbanti, insetticidi, fungicidi...) e ad uno specifico utilizzato in ambito domestico (Propoxur).

Il Propoxur, principio attivo del più comune insetticida utilizzato nelle case e negli ambienti chiusi in generale, è risultato presente in una percentuale del 32,53%, ovvero in circa 54 campioni.

Gli inquinanti ambientali per uso esterno, paragonabili dunque a quelli ricercati nel nostro studio, sono stati rilevati con una presenza variabile dallo 0% (percentuale propria di quelle sostanze che evidentemente non attraversano la barriera placentare) all' 1,81%, passando per lo 0,60% e l'1,20%. Facendo una media, dunque, si può parlare di una percentuale di positività del meconio agli inquinanti ambientali dosati di circa 1,2%.

Tornando ai risultati del nostro studio, nel quale sono stati ricercati alcuni degli inquinanti ambientali maggiormente utilizzati nel vivaismo nella provincia di Pistoia, possiamo dire che aver trovato un solo campione positivo all'interno dei 50 esaminati ci colloca in una posizione allineata rispetto all'1,2% rilevato nello studio analogo effettuato nelle Filippine.

6. CONCLUSIONI RIASSUNTIVE

Varie sono le considerazioni da fare a conclusione di questo lavoro, tanto da sembrare, più che una conclusione, l'inizio della prosecuzione dello stesso.

Parlo di un inizio perché il presente studio è il primo in Italia nel quale si è utilizzata la matrice meconio per la ricerca di sostanze quali diserbanti, insetticidi, acaricidi e fungicidi. Da qui anche la difficoltà e lo sforzo iniziali nel cominciare la ricerca, poiché essa si basava su una metodica analitica che il Laboratorio Analisi di San Salvi ha dovuto metter su a partire dalla sola letteratura.

È necessario, poi, sottolineare l'esiguità numerica del campione preso in esame: aspettandoci una percentuale di positività intorno all'1,2% è chiaro che una popolazione di 50 neonati non ci assicura un risultato significativo di grandi numeri.

Visti gli sforzi per mettere a punto la metodica di estrazione delle varie sostanze dal meconio ed il numero limitato su cui questa metodica del tutto nuova è stata applicata, dunque, sarebbe molto interessante proseguire la ricerca partendo da questo risultato ottenuto ad oggi. Così potremmo valutare se la percentuale da noi ottenuta viene rispettata anche su più ampia scala e se, oltre all'Oxadiazon, è possibile reperire nel meconio altri principi attivi utilizzati in dosi ugualmente massicce nella nostra provincia.

Proseguendo lo studio si potrebbe, poi, includere nel campione neonati di donne residenti nella zona della Valdinievole, la maggior parte delle quali, per esigenze geografiche, decide di espletare il parto all'Ospedale di Pescia e che per questo non è stato possibile considerare al momento della raccolta del meconio e della somministrazione del questionario. Anche la zona del Distretto Valdinievole, infatti, come sappiamo dai dati fornitici dalla Medicina del Lavoro, è fortemente interessata dal fenomeno del vivaismo, dunque i loro abitanti costituirebbero per noi una porzione di campione importante da valutare.

Detto tutto questo è doverosa un'ultima considerazione. La premessa di questa ricerca, lo ricordo, è quella di valutare l'esposizione del feto in utero ad alcuni degli inquinanti più frequentemente utilizzati nel settore florovivaistico. I risultati ottenuti confermano che un certo grado di questa esposizione è presente e rilevabile dal momento che un campione dei 50 da noi considerati si è dimostrato positivo all'esame effettuato.

Il nostro studio si ferma dunque qui, senza indagare gli esiti neurologici sul neonato che tale positività potrebbe comportare e che peraltro gli studi presenti in letteratura smentiscono.

Un'ulteriore idea che può, quindi, concludere questo lavoro è quella di considerare il presente studio come la prima parte di un progetto più ampio il cui obiettivo sia la

valutazione dello sviluppo neurologico di questi stessi bambini in età scolare per rilevare in quest'epoca eventuali differenze fra quelli in cui durante la vita prenatale si è verificato un passaggio transplacentare di detti inquinanti e quelli in cui, al contrario, non c'è stata esposizione in utero.

Bibliografia

- 1- PESCETTO G., DE CECCO L., PECORARI D., RAGNI N., *Ginecologia e Ostetricia*, Società Editrice Universo, Roma 2001
- 2- GUANA M., CAPPADONA R., DI PAOLO A.M., PELLEGRINI M.G., PIGA M.D., VICARIO M., *La disciplina ostetrica – teoria, pratica e organizzazione della professione*, Mc Graw-Hill, Milano 2006
- 3- BENNETT V.R., BROWN L.K., *Manuale dell'ostetrica di Myles*, Edi-Ermes
- 4- VALLE A., BOTTINO S., MEREGALLI V., ZANINI A., *Manuale di sala parto*, Edi-Ermes, Milano 2006
- 5- BELLETTI G., SCARAMUZZI S., MARESCOTTI A., PACCIANI A., *Il sistema vivaistico nella provincia di Pistoia: organizzazione, problematiche e fabbisogni*, Pistoia 2008
- 6- <http://vestireilpaesaggio.provincia.pistoia.it> (ultimo accesso: settembre 2008)
- 7- <http://www.usl3.toscana.it/flovitur/documenti/6a1a.pdf> (ultimo accesso: settembre 2008)
- 8- ENRIQUE M., OSTREA JR., VICTOR MORALES, ETIENNE NGOUMGNA et al, *Prevalence of Fetal Exposure to Environmental Toxins as Determined by Meconium Analysis*, Maggio 2002
- 9- BIELAWSKI D., OSTREA E., POSECION N., CORRION M., SEAGRAVES J., *Detection of Several Classes of Pesticides and*

Metabolites in Meconium by Gas Chromatography – Mass Spectrometry, Dicembre 2005

- 10- ENRIQUE M., OSTREA JR., BIELAWSKI D., et al, *A comparison of infant hair, cord blood and meconium analysis to detect fetal exposure to environmental pesticides*, Ottobre 2007
- 11- www.nist.gov (ultimo accesso: ottobre 2008)

Allegati

Allegato 1: Informativa alla paziente

Allegato 2: Scheda raccolta dati - Questionario somministrato
alle mamme

INFORMATIVA ALLA PAZIENTE

Gentile paziente,

Desideriamo informarla riguardo alla ricerca che l'Università degli Studi di Firenze, nei soggetti del Prof. Luciano Savino (Direttore della U.O. Ostetricia e Ginecologia del P.O. di Pistoia, Az. USL 3 e Vice presidente del CdL in Ostetricia, Università degli Studi di Firenze, sede decentrata di Pistoia) e di Laura Daddio (laureanda del Corso di Laurea in Ostetricia, Università degli Studi di Firenze, sede decentrata di Pistoia) sta conducendo circa il seguente argomento: **valutazione dell'esposizione del feto in utero ad inquinanti ambientali utilizzati su larga scala nel settore del florovivaismo, mediante il loro dosaggio sul meconio.**

Considerata la massiccia presenza di vivai nel territorio della provincia di Pistoia e visto che alcuni dei pesticidi impiegati nel settore del florovivaismo presentano effetti neurotossici, è interessante valutare il grado di esposizione del feto in utero a tali sostanze dal momento che alcune di esse (che sono oggetto di attenzione da parte del Centro di Medicina del Lavoro dell'Az. USL 3) potrebbero attraversare la barriera placentare ed esporre il bambino a possibili effetti teratogeni e neurotossici.

Scopo di questa ricerca è, quindi, valutare l'esposizione del feto nel corso della gravidanza ad alcuni di quei diserbanti, fungicidi, insetticidi e acaricidi ampiamente impiegati in agricoltura nella provincia di Pistoia (ovvero: Terbutilazina, Clortalonil, Metalaxil, Procimidone, Oxadiazon, Pendimetalin) attraverso il loro dosaggio sul meconio.

Il riscontro della loro eventuale presenza nel meconio delle prime 24 ore significa che la madre nel corso della gravidanza è venuta in contatto con queste sostanze, che queste sostanze hanno attraversato la placenta e che sono così venute ad interagire con il bambino.

Il risultato dell'esame sarà poi messo in relazione alle informazioni che le verranno richieste, in particolare: il suo domicilio nei 18 mesi precedenti al parto

(catalogato in “zona a rischio inquinamento ambientale” o “zona non a rischio” secondo i dati in possesso del Centro di Medicina del Lavoro dell’Az. USL 3) e le occupazioni dei componenti della famiglia del neonato (in ambito florovivaistico o in contesto diverso).

Il prelievo del campione di meconio sarà eseguito dall’infermiera del nido durante il cambio del primo pannolino, quando verrà prelevato il meconio necessario per lo screening neonatale delle malattie metaboliche effettuato regolarmente a tutti i neonati.

Subito dopo, questo campione sarà fatto pervenire al Laboratorio Analisi dell’Az. USL 3 di Pistoia.

Qui verrà reso idoneo alla conservazione in attesa dell’invio al Centro di Tossicologia Occupazionale di San Salvi (Firenze) dove avverrà, con l’ausilio di specifici e sofisticati dispositivi, la ricerca delle sostanze di cui sopra.

Precisiamo che sul campione non verranno condotte indagini genetiche né di qualunque altra natura che esuli da quella descritta in questa informativa.

I dati raccolti saranno protetti dalla Legge sulla tutela della Privacy, rimarranno di unica e sola proprietà dell’Az. USL 3 e verranno pubblicati dalla struttura sanitaria sottoforma di statistica assolutamente anonima.

Responsabile dei dati da lei forniti sono gli sperimentatori, nelle persone del Prof. Luciano Savino e della laureanda Laura Daddio.

Lo studio qui descritto ha ottenuto il parere favorevole del Comitato Etico Locale in data luglio 2008.

Pertanto, gli sperimentatori dello studio: Prof. Luciano Savino e Laura Daddio insieme ai collaboratori allo studio:

Dr Riccardo Lari (Direttore del Laboratorio Analisi, Az. USL 3 di Pistoia)

Dr Alfredo Gironi (chimico del Laboratorio Analisi, Az. USL 3 di Pistoia)

Dr Aldo Fedi (Responsabile del Centro di Medicina del Lavoro, Az. USL 3 di Pistoia)

Dr Paolo Bavazzano (Responsabile del Laboratorio di Sanità Pubblica – Tossicologia Occupazionale di San Salvi, Firenze)

Le chiedono di voler gentilmente aderire allo studio sopra descritto.

Io sottoscritta
dichiaro di essere stata informata in modo chiaro ed esauriente dallo
sperimentatore
circa lo studio cui acconsento di partecipare.

Pistoia, li

La paziente

Lo sperimentatore

.....

.....

SCHEMA RACCOLTA DATI

Codice gestante

Domicilio negli ultimi 18 mesi:

- zona a rischio inquinamento ambientale
- zona non a rischio

Occupazione attuale dei vari componenti della famiglia:

- nel settore del florovivaismo
- in altro settore:

Occupazione precedente dei vari componenti della famiglia:

- nel settore del florovivaismo
- in altro settore:

Occupazione della madre prima della gravidanza:

- nel settore del florovivaismo
- in altro settore:

Occupazione della madre fino alla^ settimana di gestazione:

- nel settore del florovivaismo
- in altro settore:

Anamnesi positiva per una possibile esposizione ad altri tipi di inquinanti:

- NO
- SI':

Gravidanza e parto:

.....gravida, ...para
 Parto vaginale V.E. T.C.
 a termine pretermine posttermine
 Data:/...../.....; ora:,
 Peso del neonato: gr
 I.A.I°;V°;X°
 Segnalazioni particolari:

Ai sensi dell'art. 26 del D. Lgsv. Numero 196 del 30/06/2003 "Codice in materia di protezione dei dati personali",

***Io sottoscritta
acconsento al trattamento dei dati da me forniti soltanto da parte degli sperimentatori (Prof. Savino, laureanda Laura Daddio) e dei loro collaboratori (Dott. Fedi, Dott. Lari, Dott. Gironi, Dott. Bavazzano),
al solo fine di ricerca statistica.***

Pistoia, li Firma

Ringraziamenti

Ringraziamenti

Molti sono i professionisti che devo ringraziare per aver contribuito alla realizzazione di questo lavoro.

Prima di tutti il Prof. Savino, cui devo l'idea dello studio e le prime basi per poterlo intraprendere.

Ruolo imprescindibile per la realizzazione pratica del progetto ha avuto la struttura fiorentina "Laboratorio di Sanità Pubblica - Tossicologia Occupazionale" di San Salvi.

Un ringraziamento davvero sentito va, quindi, al Direttore del laboratorio Dott. Paolo Bavazzano, che ha accolto con interesse il nostro progetto, e ai professionisti che hanno dedicato molto tempo ed energie nell'applicazione della nuova tecnica, mai utilizzata in Italia, dell'esame nel meconio delle sostanze oggetto dello studio: Andrea Perico, dottore in Chimica, e Alessio Colzi, tecnico di laboratorio, che hanno prima cercato in letteratura un metodo valido per reperire tali sostanze, poi esaminato fisicamente le provette di meconio che io ho via via portato a San Salvi.

Ad essi va un ringraziamento veramente importante perché senza il loro grande impegno, entusiasmo e dedizione non avrei certamente potuto realizzare questo progetto!

Ringrazio il Dott. Aldo Fedi, Responsabile del Centro di Medicina del Lavoro dell'Az. USL3, che ha fornito il materiale ottenuto tramite le interviste ai vivaisti, e Angela Veraldi, biologa del Centro di Riferimento Regionale Prevenzione Igiene e Sicurezza nel Florovivaismo che, interviste alla mano, ha catalogato le zone di residenza delle donne che io, compilati i questionari, ho via via inviato a sua conoscenza.

Un grazie doveroso e sincero va al Dott. Alessandro Errigo, medico ginecologo della nostra Azienda, che mi ha aiutata nel tenere i rapporti con il Comitato Etico Locale dell'Az. USL 3. Questo ente ha, infatti, chiesto vari chiarimenti prima di deliberare il suo consenso a procedere allo studio e di considerare legalmente validi i modelli di "Questionario" e "Informativa alla paziente" che noi proponevamo ogni volta. Lo ringrazio perché anche lui ha creduto insieme a noi in questo lavoro e senza i suoi consigli e supporto probabilmente non sarei riuscita a procedere.

Infine ringrazio tutta l'U.O. Pediatria dell'Ospedale di Pistoia, in particolare le infermiere del Nido, che per un intero mese, contestualmente al prelievo effettuato per il Meyer, hanno raccolto e conservato il meconio per il nostro studio.

... Al di là di tutte le persone che hanno contribuito alla realizzazione della mia tesi, vorrei spendere qualche parola per le tante altre che in questi tre anni sono state importanti per la mia formazione pratica, teorica ed etica della professione di ostetrica.

Prime fra tutti un abbraccio grande va alle ostetriche della Sala Parto di Pistoia, in particolare a quelle che io chiamo "le mie maestre", Nicoletta e Irene, che in questi anni sono riuscite, dedicandomi tanto impegno e professionalità, ad insegnarmi tutto quello che so fare, capire, sentire e osservare nell'ambito del travaglio e del parto. Le ringrazio tanto perché il loro contributo e modello sarà sempre per me un importante punto di riferimento, anche fra molti anni, quando sarò un'ostetrica più sicura delle proprie competenze e con più esperienza.

L'abbraccio va, anzi, a tutto il turno: alle infermiere del Nido, Cristina e Carla, e a Patrizia, l'infermiera del reparto di Ostetricia, per questi anni di lavoro tutte insieme.

Colgo questa occasione per ringraziare tutti i docenti che, durante il percorso di studi, ci hanno trasmesso non solo nozioni e conoscenze teoriche, indubbiamente preziosi, ma anche entusiasmo per il loro lavoro e la voglia di svolgerlo soprattutto nell'interesse delle mamme e dei loro bimbi, quasi fosse una missione che ognuno di noi professionista della Sanità sente dentro. Insieme a loro ringrazio tutti quei medici che in questi anni, attraverso lezioni teoriche di clinica, ma anche con la pratica ospedaliera durante il tirocinio, hanno saputo e voluto insegnarci con interesse e pazienza ciò che è di competenza dell'ostetrica.

Un grazie sentito e carico d'affetto va alle mie compagne di corso, che in questi anni mi hanno aiutata nei momenti in cui sono stata più insicura e scoraggiata e con alcune delle quali, oltre ad una bella amicizia, sono nati numerosi momenti di confronto, di scambio e di condivisione professionali. Un abbraccio grande lo riservo in particolare a Caterina, mia compagna di studio per eccellenza -dalla tanto temuta Biochimica fino al recente Esame di Stato!- a Sara, che in diverse occasioni mi ha aiutata, con la maieutica tipica dell'ostetrica, a ritrovare la fiducia in me stessa e a Martina, per la quale semplicemente non ci sono parole.

A tutte loro auguro buona strada.

Concludo ringraziando mio fratello ed i miei genitori perché mi sono stati vicino in questi anni (e non solo!), perché hanno sempre sostenuto i miei progetti anche quando non erano d'accordo e perché, con la massima discrezione, ci sono sempre stati.

A tutti, questi miei ringraziamenti!

Laura