

## Valutazione dell'esposizione al mercurio nelle popolazioni residenti in prossimità dell'area industriale della Rada di Augusta (Siracusa)

Evaluation of mercury exposure in populations living near the industrial Augusta Bay (Sicily Region, Southern Italy)

Maria Bonsignore,<sup>1</sup> Nunzia Andolfi,<sup>2</sup> Enza Maria Quinci,<sup>1</sup> Anselmo Madeddu,<sup>2</sup> Francesco Tisano,<sup>2</sup> Vincenzo Ingallinella,<sup>2</sup> Maria Castorina,<sup>2</sup> Mario Sprovieri<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto per l'ambiente marino costiero, Consiglio nazionale delle ricerche, Campobello di Mazara (TP)

<sup>2</sup> Laboratorio di sanità pubblica, Azienda sanitaria provinciale di Siracusa

**Corrispondenza:** Mario Sprovieri; mario.sprovieri@iamc.cnr.it

### RIASSUNTO

**OBIETTIVI:** valutare e quantificare l'esposizione umana al mercurio (Hg) ed esplorare i fattori chiave che influenzano la contaminazione nelle popolazioni residenti in prossimità della Rada di Augusta, un'area a elevato rischio ambientale a causa degli effetti degli sversamenti incontrollati di Hg da parte di uno dei più grandi impianti cloro-soda d'Europa.

**DISEGNO:** un campione di residenti nei comuni di Augusta, Priolo e Melilli (Sicilia orientale) è stato selezionato per lo studio di biomonitoraggio umano. Un questionario dettagliato è stato somministrato a ogni partecipante per raccogliere informazioni anagrafiche sulle abitudini di vita e alimentari. I livelli di Hg in sangue e capelli, usati come traccianti di esposizione a metilmercurio, sono stati messi in relazione al consumo di pesce locale. Il contenuto di Hg nelle urine è stato utilizzato per esplorare eventuali esposizioni atmosferiche a Hg inorganico.

Una regressione lineare multivariata è stata applicata con l'obiettivo di esplorare i fattori che influenzano l'esposizione umana al Hg. L'approccio tossicocinetico è stato impiegato al fine di calcolare la dose settimanale provvisoria tollerabile (*provisional tolerable weekly intake*, PTWI) e di predire le concentrazioni di Hg attese nel sangue degli individui con una dieta alimentare basata esclusivamente su pesce locale.

**SETTING E PARTECIPANTI:** 224 individui residenti nei comuni di Augusta, Melilli e Priolo.

**RISULTATI:** eccessi di Hg sono stati misurati nel sangue e nei capelli del campione considerato. I più alti livelli sono stati rilevati ad Augusta, dove anche il consumo di pesce locale risulta maggiore. I valori di dose settimanale tollerabile provvisoria (PTWI) calcolati eccedono, nella maggior parte dei casi, le raccomandazioni internazionali, specialmente nei residenti ad Augusta.

**CONCLUSIONI:** gli elevati livelli di Hg registrati nei campioni di sangue e capelli derivano, con ogni probabilità, dal consumo di pesce locale. Rispetto ad Augusta, gli individui di Priolo e Melilli subiscono un impatto più limitato. L'esposizione a Hg inorganico può essere considerata trascurabile.

**Parole chiave:** mercurio, biomonitoraggio, tossicità, esposizione

### ABSTRACT

**OBJECTIVES:** to assess and quantify the human exposure to mercury (Hg) and to explore the key factors that influence the distribution and extent of the contamination in individuals living in the proximity of the Augusta Bay (Sicily Region, Southern Italy), a high-risk

area because of the effect of the uncontrolled sewages of Hg from one on the largest European chlor-alkali plants.

**DESIGN:** a human biomonitoring study was performed in a group of individuals living in the municipalities of Augusta, Priolo, and Melilli (Eastern Sicily, Southern Italy). Each participant filled a detailed questionnaire, so information about personal details, lifestyle, and diet was collected. The levels of Hg in the blood and hair samples, used as tracer of methylmercury exposure, were linked to the frequency of local fish consumption. The urinary Hg content was used to explore potential exposure to atmospheric inorganic Hg. Multiple regression analysis was performed to investigate the factors affecting the human exposure to Hg. A toxicokinetic approach was applied to calculate the provisional tolerable weekly intake (PTWI) and to predict the expected Hg concentration in the blood of individuals with exclusive local fish-based diet.

**SETTING AND PARTICIPANTS:** 224 individuals from Augusta, Melilli, and Priolo municipalities.

**RESULTS:** excesses of Hg were measured in the blood and hair of the considered sample. The highest levels were measured in Augusta, where also the consumption of local fish is high. The calculated PTWI exceeded, in most cases, the international recommendations, particularly in residents in Augusta.

**CONCLUSIONS:** the levels of Hg in the blood and hair samples derive, in all likelihood, from the consumption of local fish. Compared to Augusta subjects, those from Priolo and Melilli suffer from a more limited effect. The exposure to inorganic mercury can be considered negligible.

**Keywords:** mercury, biomonitoring, toxicity, exposure

### Cosa si sapeva già

- Lo sversamento dei reflui dell'impianto cloro-soda (incontrollato almeno fino alla fine degli anni Settanta) ha determinato un grave stato di contaminazione da mercurio nell'ambiente marino della Rada di Augusta.
- Allarmanti livelli di mercurio sono stati recentemente misurati sia nell'ambiente abiotico (sedimenti, acqua di mare, atmosfera) sia nel comparto ittico.

### Cosa si aggiunge di nuovo

- Lo studio di biomonitoraggio umano ha rilevato elevati livelli di mercurio nel sangue e nei capelli della popolazione investigata (soprattutto ad Augusta) direttamente riconducibili al consumo di pesce locale.

## INTRODUZIONE

Il distretto petrolchimico di Priolo, delimitato dai comuni di Augusta, Melilli e Priolo (Sicilia orientale), è un'area fortemente a rischio a causa degli sversamenti incontrollati di contaminanti chimici industriali nel recente passato.<sup>1,2</sup> Per questa ragione l'area di Priolo è stata inclusa tra i siti di interesse nazionale per le bonifiche SIN (Legge 426/1998; Decreto del Ministero dell'Ambiente e della tutela del territorio dell'11.01.2013).

A partire dai primi anni Sessanta il significativo processo di industrializzazione che ha interessato l'area ha portato alla creazione di un grosso indotto di strutture produttive costituite da un importante impianto petrolchimico, un cementificio e un impianto cloro-soda con celle a mercurio. Malgrado l'attività del cloro-soda sia stata drasticamente ridotta a partire dal 1978 (per effetto diretto dell'entrata in vigore della Legge Merli) e definitivamente interrotta nel 2005,<sup>3</sup> le enormi quantità di mercurio (Hg) accumulate nell'ambiente, specialmente nei sedimenti marini, hanno determinato un grave degrado ambientale. Allarmanti concentrazioni di Hg sono, infatti, state recentemente misurate nei sedimenti della Rada di Augusta<sup>4-7</sup> e nella fauna ittica.<sup>4,8-10</sup>

Nonostante sia stato vietato l'esercizio della pesca in un ampio tratto di mare antistante la Rada di Augusta (Ordinanza n. 73/07), le firme isotopiche di Hg misurate in sedimenti, pesci e nei capelli di un gruppo di residenti nella città di Augusta hanno chiaramente delineato il processo di trasferimento del contaminante dal comparto marino biotico all'uomo.<sup>11</sup> Pertanto, gli alti tassi di mortalità e le statistiche sulle malformazioni neonatali e sulle malattie tumorali recentemente riportate per la popolazione residente nell'area di Priolo<sup>12-19</sup> richiedono un'approfondita esplorazione sul ruolo che il consumo di pesce locale gioca nella salute dei consumatori.

Con l'obiettivo di stimare e quantificare l'esposizione umana al Hg, questo studio analizza i contenuti del metallo in sangue, capelli e urine in un gruppo di residenti nei comuni di Augusta, Melilli e Priolo e analizza alcuni dei fattori chiave che ne regolano l'esposizione.

L'utilizzo di sangue, capelli e urine come *biomarker* di esposizione deriva dallo specifico comportamento metabolico del Hg nel corpo umano. Una volta assunto per via alimentare, il metilmercurio (MeHg) viene infatti assorbito dalla cellule del sangue mediante l'emoglobina e rapidamente trasferito al cervello e ad altri tessuti, dove viene convertito in mercurio inorganico (IHg).<sup>20,21</sup> La concentrazione di mercurio nel sangue (HgS) può essere, quindi, adoperata come tracciante di esposizione a MeHg e generalmente cresce con la frequenza di consumo di pesce.<sup>22</sup> Anche il contenuto di Hg nei capelli

(HgC) rappresenta un prezioso strumento di indagine nell'esplorazione dell'esposizione al MeHg e, grazie all'elevata stabilità del metallo intrappolato nel cuoio capelluto e alla crescita più o meno costante dei capelli (circa 1 mm/mese),<sup>23,24</sup> questo *biomarker* viene adoperato per l'esplorazione di esposizione a scala di tempo maggiore (da settimane a mesi).<sup>25</sup> Il contenuto di Hg nelle urine (HgU) rappresenta, infine, un eccellente tracciante di esposizione al mercurio inorganico, principalmente nella forma elementare (Hg<sup>0</sup>);<sup>26,27</sup> questo perché, una volta inalati generalmente mediante esposizione atmosferica, i vapori di Hg vengono assorbiti dai polmoni ed eliminati attraverso l'escrezione.<sup>21</sup>

In associazione allo studio di biomonitoraggio umano, un modello tossicocinetico è stato applicato con l'obiettivo di determinare l'effettiva assunzione di Hg mediante la dieta alimentare e di predire le concentrazioni ematiche di Hg attese con un dieta esclusiva di pesce proveniente dalla Rada di Augusta.

## MATERIALI E METODI

### SELEZIONE DEL CAMPIONE

Il disegno di studio è un campionamento a grappolo, effettuato in diversi stadi. Nella prima fase un campione di partenza (n. 800) è stato selezionato con modalità casuale dagli elenchi delle anagrafi comunali di Augusta, Melilli e Priolo (~1% della popolazione totale per ogni comune). A partire da questo, è stato estratto un sottocampione di 400 soggetti, stratificato su base proporzionale rispetto a sesso e classi di età quinquennali comprese tra 20 e 44 anni. Ai 400 soggetti è stato sottoposto un questionario finalizzato all'acquisizione di informazioni quali residenza, età, sesso, indice di massa corporea (BMI), stato di salute, presenza di amalgami dentali, livello di istruzione scolastica, abitudini di vita e frequenza di consumo di pesce e crostacei locali (inteso come pesce acquistato nei mercati rionali e catturato in prossimità dell'area di studio) e non locali (inteso come pesce la cui certificazione indica altra provenienza). Il questionario ha, inoltre, valutato il consumo di pesce locale nei tre giorni precedenti al prelievo. Obesità diagnosticata, importante calo ponderale (>10 kg nell'ultimo anno), patologia tumorale in atto e residenza nell'area di studio da meno di 10 anni sono stati utilizzati come criteri di esclusione al biomonitoraggio e adottati come criteri di eleggibilità. Infine, tra coloro che in base al questionario hanno soddisfatto i criteri di eleggibilità, è stato estratto un campione di 224 individui a cui è stato richiesto il consenso al prelievo. Un totale di 125 residenti ad Augusta, 48 a Melilli e 51 a Priolo è stato sottoposto al prelievo e all'analisi dei campioni biologici (tabella 1).

## CAMPIONAMENTO E ANALISI

Il prelievo dei campioni è stato effettuato dal personale paramedico del Servizio di igiene pubblica di Augusta (Azienda sanitaria provinciale, ASP8) nel periodo compreso tra ottobre 2012 e aprile 2013. I campioni di sangue, raccolti in provette contenenti litio eparinato, sono stati conservati a -20°C fino al momento dell'analisi, così come le prime urine del mattino. Circa 1 g di capelli è stato prelevato dalla regione occipitale del capo mediante forbici in acciaio e conservati a temperatura ambiente ( $T_{\text{ambiente}}$ ) in buste sterili fino al momento dell'analisi, eseguite dal Laboratorio di sanità pubblica dell'ASP8 di Siracusa mediante analizzatore diretto di mercurio (DMA80 atomic absorption spectrophotometer, Milestone, Wesleyan University, Middletown, CT, USA), secondo il metodo US EPA 7473.<sup>28</sup>

L'accuratezza delle analisi è stata determinata su repliche delle matrici certificate NCS ZC 81002b (1,06±0,28 µg/g), Seronorm™ Trace Elements Urine L-2 (39,8±0,8 µg/L) e Seronorm™ Trace Elements Whole Blood L-2 (15,2±0,8 µg/L) e L-3 (31,4±1,7 µg/L), effettuate all'inizio e al termine di ogni corsa analitica (set di 20 campioni). I valori misurati sono risultati all'interno del range ±5% del valore certificato. La riproducibilità analitica è stata verificata analizzando in triplicato circa il 20% del numero totale di campioni. Il coefficiente di variazione è risultato del 2,4%-3,2%.

## MODELLO TOSSICOCINETICO

Il modello tossicocinetico US EPA<sup>29</sup> (vedi equazione 1) è stato utilizzato per calcolare l'assunzione giornaliera di Hg conoscendo i livelli di Hg misurati nel sangue:

$$c = \frac{d \times A \times F \times bw}{b \times V} \quad (1)$$

dove:

*c* è la concentrazione media del metallo nel sangue (µg/L);

*d* è l'assunzione giornaliera (µg/kg/giorno);

*b* è la costante di eliminazione (0,014/giorno);

*V* è il volume di sangue nel corpo umano (5 L);

*A* è la costante di assorbimento (0,95);

*F* è la frazione assorbita dal sangue (0,059)

*bw* è il peso corporeo medio (67 kg).

Il modello è stato, inoltre, impiegato per risalire alle concentrazioni di Hg attese nel sangue di individui con una dieta esclusiva a base di pesce locale. Per questo calcolo è stata adoperata la stima dell'assunzione settimanale precedentemente riportata da Bonsignore et al.<sup>8</sup> determinata a partire dalle concentrazioni di Hg in campioni di pesce raccolti nella stessa area.

## ANALISI STATISTICHE

Descrittori specifici (massimi, minimi, media, mediana, 75° e 25° percentile) sono stati usati per caratterizzare i livelli di Hg in ogni comune. Data la distribuzione non normale dei dati, per verificare differenze tra i livelli di Hg nelle varie matrici e per comune sono stati utilizzati test non parametrici (Kruskal Wallis) e usate le mediane come descrittori principali. Un modello di regressione multivariata è stato applicato per valutare gli effetti di dieta, età, BMI, presenza di amalgami e livello di istruzione scolastica sui livelli di Hg misurati.

I fattori relativi al consumo di pesce sono stati codificati secondo la frequenza di consumo (0: raramente; 1: 1-2 volte a settimana; 2: 3-4 volte a settimana), mentre l'istruzione è stata categorizzata in cinque livelli (1: licenza elementare; 2: scuola media inferiore; 3: scuola media superiore; 4: diploma di laurea; 5: specializzazione post-laurea). I fattori che assumono soltanto un doppio stato (genere, presenza di amalgami) sono stati codificati con codici binari (0/1: donna/uomo; 0/1: assenza/presenza di amalgami). Infine, un modello di regressione lineare è stato applicato alle tre popolazioni investigate per verificare la relazione tra il contenuto di mercurio in sangue e capelli.

Le analisi sono state eseguite con il software statistico R 3.2.1.<sup>30</sup>

## RISULTATI

### CARATTERIZZAZIONE DEL CAMPIONE

Il gruppo investigato è costituito da 224 individui (130 donne e 124 uomini), di età compresa tra i 20 e i 44 anni. Il BMI (range: 17,0-42,2) dei soggetti investigati è, nella maggior parte dei casi (~80%), inferiore a 26, valore a cui non è associato alcun possibile rischio per la salute (tabella 1). In merito al livello di istruzione si rileva una sostanziale differenza tra Augusta e gli altri due comuni. Infatti, mentre ad Augusta il 24% dei soggetti dichiara di aver conseguito il diploma di laurea (livello 4), a Melilli e Priolo le percentuali sono pari al 10% e 8%, rispettivamente. D'altro canto, nel comune di Priolo il 49% degli intervistati dichiara di aver conseguito esclusivamente il diploma di scuola media inferiore (livello 2), mentre nei comuni di Melilli e Augusta le percentuali relative a tale categoria sono notevolmente inferiori (35% e 21%, rispettivamente). La presenza di amalgami dentali è moderatamente elevata, con una percentuale del 70% ad Augusta, 62% a Melilli e 77% a Priolo.

Elevato in tutti e tre i comuni è il consumo di pesce. La maggior parte dei partecipanti allo studio (58%-63%) ha infatti dichiarato di consumare pesce locale una o due volte a settimana e un significativo numero di essi (2%-18%) più di tre volte a settimana (tabella 1). Rispetto a Melilli e

|               | ETÀ    |      | INDICE DI MASSA CORPOREA (MEDIA) | LIVELLO DI ISTRUZIONE* |    |    |    |   | PRESENZA DI AMALGAMI DENTALI (%) |    | FREQUENZA SETTIMANALE DI CONSUMO DI PESCE LOCALE (%) |                   |                   | FREQUENZA SETTIMANALE DI CONSUMO DI CROSTACEI LOCALI (%) |           |     | CONSUMO DI PESCE NEI TRE GIORNI PRECEDENTI AL PRELIEVO (%) |    |    |    |
|---------------|--------|------|----------------------------------|------------------------|----|----|----|---|----------------------------------|----|--|-------------------|-------------------|--|-----------|-----|--|----|----|----|
|               | (ANNI) | (n.) |                                  | %                      |    |    |    |   | Si                               | No | Raramente  | 1-2               | 3-4               | >4   | Raramente | 1-2 | 3-4  | >4 | Si | No |
|               |        | M    | F                                |                        | 1  | 2  | 3  | 4 | 5                                |    |  | Volte a settimana | Volte a settimana | Volte a settimana  |           |     |  |    |    |    |
| Augusta       | 20-24  | 3    | 3                                | 22,4±2,7               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 25-29  | 5    | 12                               | 22,8±3,8               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 30-34  | 11   | 19                               | 25,2±4,3               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 35-39  | 14   | 22                               | 24,7±3,4               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 40-44  | 14   | 22                               | 23,8±3,3               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
| <b>Totale</b> | 47     | 78   |                                  | 1                      | 21 | 53 | 24 | 2 | 70                               | 30 | 22   | 58                | 18                | 2  | 68        | 28  | 3  | 1  | 25 | 75 |
| Melilli       | 20-24  | 4    | 5                                | 24,4±3,8               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 25-29  | 5    | 5                                | 23,8±4,7               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 30-34  | 6    | 5                                | 24,1±3,3               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 35-39  | 3    | 8                                | 23,7±4,0               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 40-44  | 4    | 3                                | 24,0±1,0               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
| <b>Totale</b> | 22     | 26   |                                  | 0                      | 35 | 52 | 10 | 2 | 62                               | 38 | 38   | 58                | 4                 | 0  | 88        | 12  | 0  | 0  | 23 | 77 |
| Priolo        | 20-24  | 4    | 5                                | 26,4±6,8               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 25-29  | 9    | 5                                | 22,9±2,9               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 30-34  | 3    | 4                                | 25,7±3,7               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 35-39  | 5    | 4                                | 25,3±3,4               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
|               | 40-44  | 4    | 8                                | 23,3±2,2               |    |    |    |   |                                  |    |  |                   |                   |  |           |     |  |    |    |    |
| <b>Totale</b> | 25     | 26   |                                  | 0                      | 49 | 43 | 8  | 2 | 77                               | 33 | 28   | 63                | 9                 | 0  | 64        | 34  | 2  | 0  | 18 | 82 |

\*1: diploma elementare / elementary school certificate; 2: scuola media inferiore / junior high graduation; 3: scuola media superiore / high school graduation; 4: diploma di laurea / university degree; 5: specializzazione post-laurea / post-graduate qualification

**Tabella 1.** Elenco dei partecipanti allo studio, per comune, età, genere, livello di istruzione, presenza (%) di amalgami dentali, frequenza di consumo di pesce e crostacei locali e consumo di pesce nei tre giorni precedenti al prelievo.

**Table 1.** Participants in the study, by municipality, age, gender, level of education, presence of dental amalgams (%), frequency of local fish and shellfish consumption in the three municipalities, and consumption of fish during the three days before sampling.

Priolo, i residenti ad Augusta fanno un consumo maggiore di pesce locale e solo un numero limitato di essi (22%) dichiara di consumarne raramente (tabella 1). Il consumo di crostacei è generalmente inferiore e gran parte degli intervistati (64%-88%) dichiara di consumarne solo raramente. Anche il consumo di pesce nei tre giorni precedenti al prelievo è significativo, con un 25% ad Augusta, 23% a Melilli e 18% a Priolo.

#### LIVELLI DI HG NELLE MATRICI BIOLOGICHE

Il livello mediano di Hg nel sangue (HgS) della popolazione investigata (n. 224) è di 4,90 µg/L, con valori molto più elevati ad Augusta (7,30 µg/L) rispetto a Melilli e Priolo (2,90 µg/L e 3,70 µg/L, rispettivamente) (tabella 2). Ad Augusta gli individui che consumano frequentemente pesce locale (n. 25) hanno valori di HgS più che doppi rispetto a quelli che lo fanno raramente (n. 27) (media: 15,68 ±10,01 vs. 6,07±6,42 µg/L) (figura 1a). Le concentrazioni di HgS più elevate sono state misurate nei soggetti augustani che hanno dichiarato di aver consumato pesce locale nei tre giorni precedenti al prelievo (n. 22; media: 18,59±9,49 µg/L).

Il livello mediano di Hg nei capelli (HgC) della popolazione investigata è di 1,47 µg/g, con valori anche in questo caso più alti ad Augusta (mediana 1,90 µg/g) rispetto a Melilli e Priolo (1,24 e 1,00 µg/g, rispettivamente) (tabella

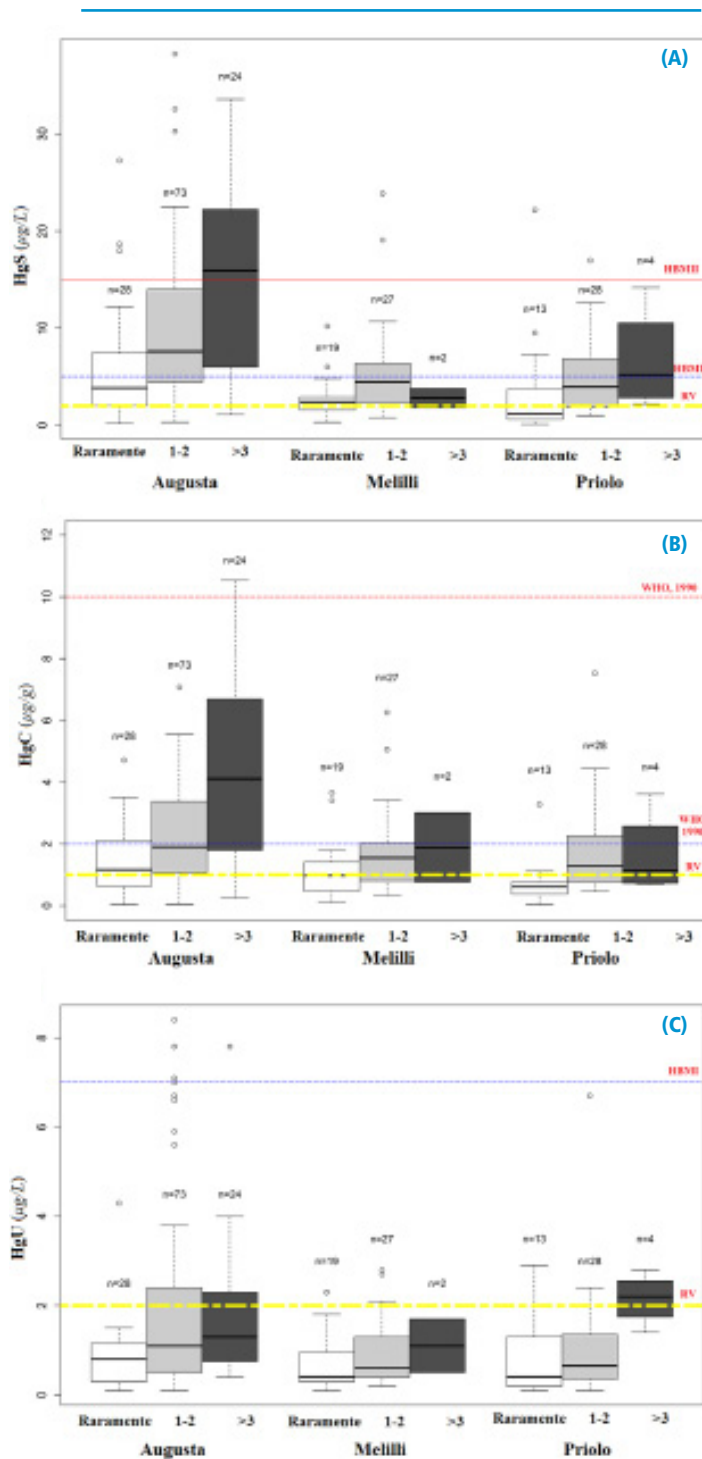
2). Anche in questo caso Augusta mostra le differenze più marcate tra le concentrazioni di HgC dei soggetti che consumano pesce locale raramente (media: 1,49±1,14 µg/L) e quelli che lo fanno più di tre volte a settimana (4,46±2,96 µg/L) (figura 1b).

Il rapporto capelli-sangue del gruppo investigato è di 350:1 µg/g-mgHg/L. I livelli mediani di Hg urinario (HgU) nella popolazione investigata è di 0,80 µg/L, con valori osservati relativamente più elevati ad Augusta (0,95 µg/L) rispetto a Melilli (0,55 µg/L) e Priolo (0,70 µg/L) (tabella 2 e figura 2c).

Una relazione lineare statisticamente significativa è, inoltre, stata verificata tra i contenuti di Hg nel sangue e nei capelli dei tre comuni (Augusta: r: 0,86; p=2,2\*10<sup>-16</sup>; R<sup>2</sup>: 0,73 – Melilli: r: 0,86; p=3,2\*10<sup>-14</sup>; R<sup>2</sup>: 0,74 – Priolo: r: 0,56; p=9,0\*10<sup>-5</sup>; R<sup>2</sup>: 0,31) (figura 2).

Relazioni significative sono state trovate tra il consumo di pesce locale e i livelli di HgS (p=2,09\*10<sup>-3</sup>), HgC (p=0,002) e HgU (p=2,7\*10<sup>-7</sup>), mentre il consumo di crostacei locali sembra influenzare positivamente soltanto i livelli di Hg ematici (p=0,02) (tabella 3).

Significativo è, inoltre, l'effetto del consumo di pesce locale nei tre giorni precedenti al prelievo sui livelli di HgS (p=0,0004). D'altro canto, il consumo di pesce e crostacei non locali non ha alcun effetto sulle concentrazioni del metallo nelle matrici investigate (p>0,05). L'età dei sog-



Le frequenze di consumo di pesce 3-4 volte a settimana e >4 volte a settimana sono state incluse nella categoria >3 / Frequencies of local fish consumption 3-4 and >4 times a week have been included in the category >3  
**HBMI**: la concentrazione al di sotto della quale non esistono rischi avversi per la salute umana / concentration below which there is no risk of adverse health effects  
**HBMI**: concentrazione al di sopra della quale esistono rischi avversi per la salute umana / concentration above which there are increased risks of adverse health effects

**Figura 1.** Concentrazioni di mercurio in sangue (HgS) (A), capelli (HgC) (B) e urine (HgU) (C) in relazione al consumo settimanale di pesce locale: valori di riferimento per la popolazione italiana (RV), di HBMI, di HBMI, valore normale di concentrazione di Hg nei capelli fissato dall'OMS.<sup>24</sup>

**Figure 1.** Concentration of Hg in blood (HgS) (A), hair (HgC) (B), and urine (HgU) (C) in relation to the weekly consumption of local fish. Reference values (RV), HBMI, HBMI, and other regulation thresholds.

|                | MEDIA | MEDIANA | 25° PERCENTILE | 75° PERCENTILE | MIN. | MAX.  |
|----------------|-------|---------|----------------|----------------|------|-------|
| <b>Augusta</b> |       |         |                |                |      |       |
| HgS (µg/L)     | 10,10 | 7,30    | 3,80           | 15,30          | 0,20 | 39,70 |
| HgU (µg/L)     | 1,67  | 0,95    | 0,50           | 2,10           | 0,10 | 8,40  |
| HgC (µg/g)     | 2,61  | 1,90    | 1,08           | 3,44           | 0,04 | 10,50 |
| <b>Melilli</b> |       |         |                |                |      |       |
| HgS (µg/L)     | 4,34  | 2,90    | 1,85           | 5,25           | 0,30 | 23,90 |
| HgU (µg/L)     | 1,35  | 0,55    | 0,38           | 1,23           | 0,10 | 2,80  |
| HgC (µg/g)     | 1,56  | 1,24    | 0,70           | 1,83           | 0,10 | 6,26  |
| <b>Priolo</b>  |       |         |                |                |      |       |
| HgS (µg/L)     | 4,77  | 3,70    | 1,55           | 6,85           | 0,10 | 22,20 |
| HgU (µg/L)     | 1,18  | 0,70    | 0,35           | 1,50           | 0,10 | 6,70  |
| HgC (µg/g)     | 1,37  | 1,00    | 0,63           | 1,54           | 0,04 | 7,53  |

**Tabella 2.** Concentrazioni di mercurio in sangue (HgS), urine (HgU) e capelli (HgC) negli individui residenti ad Augusta, Melilli e Priolo.

**Table 2.** Concentration of Hg in blood (HgS), urine (HgU), and hair (HgC) in individuals living in Augusta, Melilli, and Priolo.

getti influenza positivamente i livelli di HgS ( $p=0,0007$ ), mentre il sesso è correlabile soltanto con i valori di HgC ( $p=0,04$ ). Sorprendentemente, il livello di istruzione influenza positivamente il contenuto di HgS ( $p=0,006$ ), HgU ( $p=0,002$ ) e HgC ( $p=0,03$ ). Nessuna relazione significativa è invece stata ritrovata con il BMI e la presenza di amalgami dentali ( $p>0,05$ ) (tabella 3).

**STIMA DELL'ASSUNZIONE SETTIMANALE**

La stima dell'assunzione settimanale (EWI) di Hg mediante la dieta alimentare a note concentrazioni di Hg nel sangue è stata calcolata applicando il modello tossicocinetico (vedi equazione 1). Sulla base di questo calcolo, l'EWI stimato per i soggetti augustani è compreso tra 0,04 e 5,18 µg di Hg per kg di peso corporeo. I valori risultano inferiori per i residenti a Melilli (range: 0,04-3,12 µg di Hg per kg di peso corporeo) e Priolo (range: 0,01-2,22 µg di Hg per kg di peso corporeo).

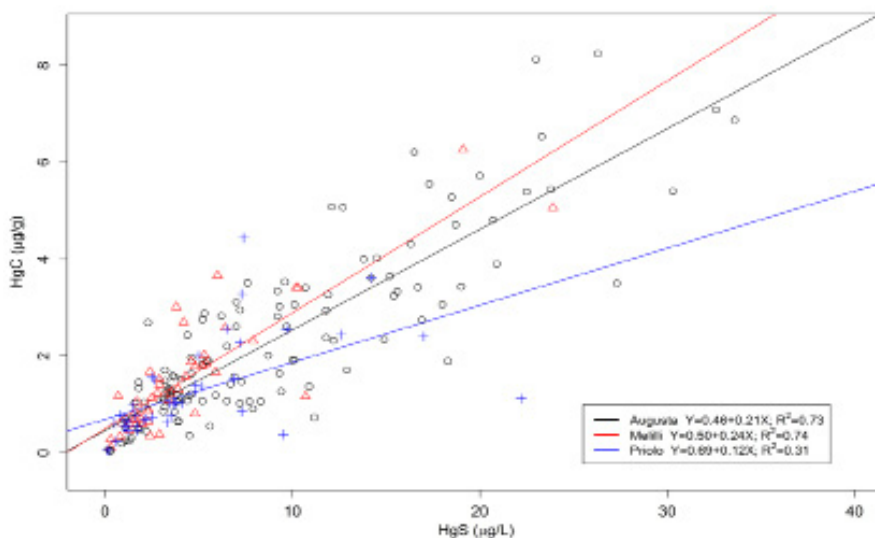
**DISCUSSIONE**

Sebbene il numero di campioni riportato in questo studio sia relativamente abbondante, può essere considerato rappresentativo della popolazione investigata e consente con sufficiente precisione il confronto con i valori di riferimento e con altre popolazioni.

I livelli mediani di Hg nel sangue per l'intera popolazione investigata risultano molto più elevati rispetto al valore di riferimento (RV) della popolazione italiana (2,00-2,40 µg/L)<sup>22,31</sup> e a quello riportato dallo studio PROBE.<sup>32</sup> I livelli di HgS, inoltre, superano nel 50% dei casi il valore di allerta fissato dalla Human Biomonitoring Commission (HBMI: 5 µg/L),<sup>33</sup> che rappresenta la concentrazione al di sotto della quale non sono stati osservati effetti avversi per la salute umana (figura 1a). Nel 16% dei casi i livelli di HgS sono risultati maggiori del valore di azione (HBMI:

**Figura 2.** Relazione tra il contenuto di Hg nel sangue (HgS) e nei capelli (HgC) delle popolazioni investigate.

**Figure 2.** Relationship between the Hg content in blood (HgS) and in hair (HgC) of the investigated population.



15 µg/L), la soglia limite per rischi rilevanti per la salute umana (figura 1a).<sup>33</sup> Differenze statisticamente significative (KW: 19,4; p=0.00006) sono risultate nel contenuto di Hg nel sangue dei residenti nei tre comuni, con valori evidentemente più elevati ad Augusta rispetto agli altri due comuni (tabella 2). Ad Augusta, infatti, i contenuti di Hg nel sangue superano i valori di riferimento nell'85% dei casi e i limiti HBMI e HBMI nel 64% e 26% dei casi. Il livello di HgC dell'intero gruppo investigato supera (>60% dei casi) il RV della popolazione italiana (media: 1,14 µg/g)<sup>17</sup> (figura 1b) e il limite di 1,0 µg/g fissato dall'US EPA.<sup>34,35</sup>

Il 35% dei soggetti ha, inoltre, concentrazioni di HgC superiori al livello normale fissato dall'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) (2 µg/g).<sup>36</sup> La soglia di tolleranza

di 10 µg/g fissata dall'OMS<sup>36</sup> viene invece valicata raramente (figura 3b). Anche in questo caso i valori più alti sono stati misurati ad Augusta, con differenze significative rispetto a Melilli e Priolo (KW: 17,6; p=0,0002). I soggetti augustani mostrano, infatti, contenuti di HgC nell'81% dei casi superiori alla dose di riferimento EPA e nel 47% dei casi maggiori del valore normale fissato dall'OMS. I valori di HgC negli individui di Melilli e Priolo eccedono il RV nel 72% dei casi, la soglia HBMI nel 31% dei casi e il livello HBMI in poche situazioni (4%) (figura 1b). Nessuna evidente anomalia è stata, invece, ritrovata nei valori di Hg urinario, generalmente comparabili o addirittura inferiori al valore di riferimento italiano (0,8-3,5 µg/L).<sup>27,37-40</sup> Il valore di HBMI (7 µg/L)<sup>33</sup> è stato superato soltanto in 5 individui residenti ad Augusta (figura 1c).

| VARIABILI  | SANGUE                      |                       | URINE                       |              | CAPELLI                     |                             |
|--|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|
|  | COEFFICIENTE STANDARDIZZATO | P-VALUE               | COEFFICIENTE STANDARDIZZATO | P-VALUE      | COEFFICIENTE STANDARDIZZATO | P-VALUE                     |
| Età  | <b>0,22</b>                 | <b>0,0007</b>         | -0,13                       | 0,08         | <b>0,14</b>                 | <b>0,04</b>                 |
| Sesso  | 0,07                        | 0,24                  | -0,08                       | 0,22         | <b>0,13</b>                 | <b>0,04</b>                 |
| BMI  | -0,12                       | 0,05                  | -0,03                       | 0,72         | -0,08                       | 0,23                        |
| Livello di istruzione                                  | <b>0,17</b>                 | <b>0,006</b>          | <b>0,21</b>                 | <b>0,002</b> | <b>0,14</b>                 | <b>0,03</b>                 |
| Amalgami dentali                                       | -0,10                       | 0,1                   | -0,04                       | 0,58         | -0,08                       | 0,2                         |
| Pesce (mercato locale)                                 | 0,29                        | 2,09*10 <sup>-5</sup> | <b>0,23</b>                 | <b>0,002</b> | <b>0,37</b>                 | <b>2,74*10<sup>-7</sup></b> |
| Pesce (mercato non locale)                             | 0,02                        | 0,7                   | -0,11                       | 0,14         | 0,04                        | 0,58                        |
| Crostacei (mercato locale)                             | <b>0,16</b>                 | <b>0,02</b>           | 0,12                        | 0,1          | 0,07                        | 0,3                         |
| Crostacei (mercato non locale)                         | 0,01                        | 0,83                  | 0,12                        | 0,1          | 0,06                        | 0,42                        |
| Consumo di pesce nei tre giorni precedenti al prelievo | <b>0,22</b>                 | <b>0,0004</b>         | 0,07                        | 0,28         | 0,1                         | 0,12                        |
| R <sup>2</sup>   | 0,347                       |                       | 0,186                       |              | 0,299                       |                             |

**Tabella 3.** Risultati dell'analisi multivariata. In grassetto, le associazioni significative (p<0,05).

**Table 3.** Output of multiple regression analyses. In bold, significant associations (p<0.05).

I più alti livelli di Hg sono stati documentati nel sangue e nei capelli degli individui che consumano elevate quantità di pesce locale (figura 1). Questo effetto è più evidente per Augusta, dove i soggetti che consumano frequentemente pesce locale hanno contenuti medi di Hg nel sangue più che doppi rispetto a quelli che consumano raramente pesce locale. Analoga è la considerazione per i capelli, dove la differenza risulta addirittura maggiore. Ad Augusta, inoltre, l'effetto del consumo di pesce è chiaramente mostrato dagli allarmanti contenuti di Hg misurati nel sangue degli individui che hanno dichiarato di aver consumato pesce locale nei tre giorni precedenti al prelievo. Questi eccessi hanno messo in luce una forte esposizione al MeHg, normalmente imputabile al consumo di pesce. La relazione lineare significativa trovata tra i contenuti di Hg nel sangue e nei capelli (figura 2) supporta questo risultato, indicando un'analoga risposta di questi due *biomarker* nell'esposizione al mercurio organico.

Mediante la formazione del complesso MeHg-cisteina il cuoio capelluto concentra, infatti, il MeHg in maniera proporzionale a quello contenuto nel sangue,<sup>41</sup> in un rapporto di 250:1  $\mu\text{g/g-mgHg/L}$ .<sup>36</sup> Tuttavia, in assenza di esposizione acuta, la concentrazione risulta molto più elevata nei capelli che nel sangue, con un rapporto stimato di 370:1.<sup>23,42</sup> Il rapporto capelli-sangue determinato in questo studio (350:1  $\mu\text{g/g-mgHg/L}$ ) suggerisce che la popolazione investigata soffre di un'esposizione cronica anziché acuta. D'altro canto, nessuna rilevante esposizione a mercurio inorganico è stata riscontrata relativamente al contenuto urinario di Hg, che risulta generalmente nella norma.

La misura del contenuto di HgU è ampiamente utilizzata per la valutazione dell'esposizione a Hg inorganico (soprattutto Hg<sup>0</sup>), che avviene principalmente per esposizione atmosferica.<sup>43</sup> L'assenza di anomalie nelle concentrazioni di HgU concorda con i moderati livelli di Hg atmosferico misurati nella città di Augusta in uno studio precedente ( $1,1 \pm 0,3 \mu\text{g/m}^{-3}$ ).<sup>44</sup>

L'analisi multivariata è stata effettuata con l'obiettivo di verificare il contributo di specifici fattori sui livelli di Hg nei *biomarker* investigati. L'applicazione del test statistico ha confermato che l'ingestione di pesce locale gioca un ruolo primario nell'influenzare i contenuti di Hg in tutte le matrici. In aggiunta, il consumo di pesce locale nei tre giorni precedenti al prelievo influenza in maniera decisiva il contenuto ematico di Hg, mentre nessuna relazione è stata trovata rispetto al pesce non locale e ai crostacei non locali ( $p > 0,1$ ). Un aumento della concentrazione di Hg con l'età può essere, inoltre, interpretato con il maggiore consumo di pesce all'aumentare dell'età.<sup>45</sup>

Un effetto significativo è stato rilevato anche tra il livello di istruzione e la concentrazione del metallo in tutte le matrici,

in accordo con quanto osservato in diversi studi.<sup>46-48</sup> Tuttavia, contrariamente alle aspettative, la relazione è risultata positiva. Un elevato livello scolastico è, infatti, generalmente associato a una maggiore consapevolezza e sensibilità relativamente ai problemi ambientali e alla salute umana. D'altro canto, un alto livello di istruzione è anche ricollegabile a un maggiore benessere socioeconomico. Di conseguenza, la relazione positiva osservata può essere ragionevolmente interpretata come l'effetto di migliori condizioni economiche che favoriscono il consumo di pesce.<sup>46,47</sup>

Anche l'età sembra condizionare positivamente i livelli di Hg nel sangue ma, sebbene questa relazione sia già stata osservata in studi pregressi,<sup>45,49-51</sup> le ragioni di questo effetto non sono del tutto chiare e non possono essere spiegate esclusivamente dalla dieta alimentare. Il sesso è risultato significativamente correlato al contenuto di Hg nei capelli, ma non a quello del sangue. Variazioni metaboliche intraspecifiche, come i differenti tassi di assorbimento e di escrezione tra i due sessi, potrebbero spiegare le differenze osservate.<sup>52,53</sup> Nessuna correlazione significativa è stata infine trovata con il BMI e la presenza di amalgami.

I valori di R<sup>2</sup> per le variabili analizzate sono risultati relativamente bassi (tabella 3), suggerendo che soltanto una parte delle variazioni misurate può essere spiegata direttamente dai fattori considerati. Infatti, quantificare il contributo di specifici fattori sui livelli di un contaminante nelle matrici biologiche è un intento estremamente arduo, complicato dalla non linearità dei meccanismi coinvolti nell'assorbimento metabolico dei metalli.<sup>54</sup> Diete specifiche possono avere effetti distinti in termini di limitazione dell'assorbimento e del bioaccumulo<sup>54,55</sup> e l'interazione tra le diverse componenti alimentari gioca un ruolo chiave nel determinare la concentrazione di Hg nei vari tessuti. Queste connessioni sono estremamente difficili da modellizzare, soprattutto con un numero limitato di fattori.

#### VALUTAZIONE DEL RISCHIO

Recentemente Bonsignore et al.<sup>11</sup> hanno individuato, mediante tracciatura isotopica, i meccanismi di trasferimento di Hg dai sedimenti della Rada di Augusta al comparto ittico e, di conseguenza, ai consumatori. L'applicazione di un modello tossicocinetico ha offerto l'opportunità di investigare l'effettiva assunzione di Hg attraverso la dieta alimentare a concentrazioni note di Hg nel sangue. Sulla base di questo calcolo, la stima dell'assunzione settimanale (EWI) calcolata per i soggetti augustani eccede nel 63% dei casi il valore di dose settimanale tollerabile (PTWI) di 0,7  $\mu\text{g/kg}$  di peso corporeo indicato dalla US EPA<sup>56</sup> e nel 33% dei casi il PTWI fissato dalla FAO/OMS<sup>57</sup> (1,6  $\mu\text{g/kg}$  di peso corporeo), ovvero il valore di sicurezza per la popolazione umana nel corso della vita.

I valori di EWI calcolati per Melilli e Priolo oltrepassano le raccomandazioni US EPA<sup>56</sup> nel 36%-44% dei casi e la soglia FAO/WHO<sup>57</sup> circa nel 4% dei casi.

Gli eccessi di EWI e di PTWI stimati sulla base del contenuto di Hg ematico mettono in luce una reale esposizione a Hg per effetto del consumo di pesce, specialmente nei residenti ad Augusta. Recentemente Bonsignore et al.<sup>8</sup> hanno calcolato il quoziente di rischio (THQ) e l'EWI per i pesci catturati all'interno dell'area interdotta alla pesca nella Rada di Augusta e nella zona più prossima ad essa, dimostrando che una dieta a base di pesce proveniente dall'area interdotta rappresenta un serio rischio per la salute umana e suggerendo cautela anche nel consumo di pesce catturato in prossimità della zona di interdizione. Usando i valori di EWI calcolati in questo studio pregresso, se un individuo consumasse esclusivamente pesce catturato dentro la Rada (*range* di concentrazione di Hg: 0,25-2,64 µg/g; EWI: 1,06-11,0 µg Hg/kg peso corporeo/giorno) dovrebbe avere una concentrazione di Hg ematico pari a circa 28 µg/L, che risulta essere molto più elevata di quella misurata nei soggetti di questo studio.

D'altro canto, qualora un individuo consumasse esclusivamente pesce catturato all'esterno dell'area interdotta (*range* di Hg: 0,05-0,93 µg/g; EWI: 0,22-2,91 µg Hg/kg peso corporeo/giorno) dovrebbe avere nel proprio fluido sanguigno una concentrazione di Hg di circa 6 µg/L, valore inferiore a quello misurato negli individui residenti ad Augusta, ma paragonabile a quello dei soggetti residenti a Priolo e Melilli.

Sebbene questo studio non consenta di discriminare tra le aree di cattura, i risultati ottenuti non permettono di escludere il consumo di pesce proveniente dall'area interdotta alla Rada di Augusta. Il contenuto ematico di Hg dovrebbe, infatti, essere inferiore se i soggetti considerati consumassero esclusivamente pesce catturato all'esterno dell'area interdotta.

## CONCLUSIONI

I livelli di Hg misurati nel sangue e nei capelli dei soggetti residenti ad Augusta indicano con chiarezza che il consumo di pesce locale rappresenta un importante veicolo di contaminazione umana, soprattutto per i residenti ad Augusta, mentre Melilli e Priolo risentono in maniera più limitata dell'esposizione. Sebbene uno specifico tratto di mare antistante alla Rada di Augusta sia stato interdotta alla pesca, il consumo di pesce proveniente dalla parte interna alla rada non può essere escluso. La forte relazione tra i livelli di Hg misurati nei campioni biologici e la frequenza di consumo di pesce locale richiedono appropriate azioni sociopolitiche atte a limitare quanto più possibile l'esposizione mediante il consumo di pesce attraverso rigorosi controlli dell'area interdotta al fine di una più efficiente salvaguardia della salute delle popolazioni locali.

**Conflitti di interesse dichiarati:** xxx xxx.

## BIBLIOGRAFIA

- Martuzzi M, Mitis F, Biggeri A, Terracini B, Bertolini R. Ambiente e stato di salute nella popolazione delle aree ad alto rischio di crisi ambientale in Italia. *Epidemiol Prev* 2002;26(6) Suppl:1-53.
- Cori L, Cocchi M, Comba P. Indagini epidemiologiche nei siti di interesse nazionale per le bonifiche delle regioni italiane previste dai Fondi strutturali dell'Unione Europea. *Rapporti ISTISAN 05/1*; 2005. Disponibile all'indirizzo: <http://www.iss.it/binary/epam/cont/RI0105.1151662926.pdf>
- Colombo F, Frignani M, Bellucci L. *Origine storica della contaminazione dei sedimenti della Rada di Augusta*. 2005.
- Istituto centrale per la ricerca scientifica e tecnologica applicata al mare (ICRAM). *Progetto preliminare di bonifica dei fondali della rada di Augusta nel sito di interesse nazionale di Priolo – Elaborazione definitiva*. Bol-Pr-SI-PR-Rada di Augusta 2008, 03.22.
- Bellucci LG, Giuliani S, Romano S, Albertazzi S, Mugnai C, Frignani M. An integrated approach to the assessment of pollutant delivery chronologies to impacted areas: Hg in the Augusta Bay (Italy). *Environ Sci Technol* 2012;46(4):2040-46.
- Sprovieri M, Oliveri E, Di Leonardo R et al. The key role played by the Augusta basin (Southern Italy) in the mercury contamination of the Mediterranean sea. *J Environ Monit* 2011;13(6):1753-60.
- Orecchio S, Polizzotto G. Fractionation of mercury in sediments during draining of Augusta (Italy) coastal area by modified Tessier method. *Microchemical Journal* 2013;110:452-57.
- Bonsignore M, Salvagio Manta D, Oliveri E et al. Mercury in fishes from Augusta Bay (southern Italy): risk assessment and health implication. *Food Chem Toxicol* 2013;56:184-94.
- Tomasello B, Copat C, Pulvirenti V et al. Biochemical and bioaccumulation approaches for investigating marine pollution using Mediterranean rainbow wrasse, *Coris julis* (Linnaeus 1798). *Ecotoxicol Environ Saf* 2012;86:168-75.
- Ausili A, Gabellini M, Cammarata G et al. Ecotoxicological and human health risk in a petrochemical district of southern Italy. *Mar Environ Res* 2008;66(1):215-17.
- Bonsignore M, Tamburrino S, Oliveri E et al. Tracing mercury pathways in Augusta Bay (southern Italy) by total concentration and isotope determination. *Environ Pollut* 2015;205:178-85.
- Bianchi F, Bianca S, Linzalone N, Madeddu A. Sorveglianza delle malformazioni congenite in Italia: un approfondimento nella Provincia di Siracusa. *Epidemiol Prev* 2004;28(2):87-93.
- Bianchi F, Bianca S, Dardanoni G, Linzalone N, Pierini A. Congenital malformations in newborns residing in the municipality of Gela (Sicily, Italy). *Epidemiol Prev* 2006;30(1):19-26.
- Fano V, Cernigliaro A, Scondotto S et al. *Stato di salute nella popolazione delle aree a rischio ambientale e nei siti di interesse nazionale della Sicilia. Analisi della mortalità (aa 1995-2000) e dei ricoveri ospedalieri (aa 2001-2003)*. 2005. Disponibile all'indirizzo: [http://www.epicentro.iss.it/temi/ambiente/rapporto\\_sicilia.pdf](http://www.epicentro.iss.it/temi/ambiente/rapporto_sicilia.pdf)
- Madeddu A, Contrino L, Tisano F, Sciacca S. *La salute di Aretusa e i padroni del tempo. Atlante della mortalità per tumori e per le patologie cronico degenerative in provincia di Siracusa nel quinquennio 1995-1999*. Siracusa, Arti Grafiche Fratantonio, 2001.
- Madeddu A, Contrino L, Tisano F, Sciacca S. *La peste, gli untori e l'immaginario. Atlante della mortalità per tumori e per le patologie cronico degenerative in provincia di Siracusa dal 1995. Il volume. Aggiornamento triennio 2000-2002*. Siracusa, Arti Grafiche Fratantonio, 2003.



17. Madeddu A, Bianchi F, Comba P, Gilli G, Sciacca S. *Monitoraggio di Hg, HCB e PCBs in latte e capelli di un campione di madri di Augusta*. Documento inedito agli atti della Procura della Repubblica di Siracusa, 2004.
18. Pirastu R, Iavarone I, Pasetto R, Zona A, Comba P (eds). SENTIERI - Studio epidemiologico nazionale dei territori e degli insediamenti esposti a rischio da inquinamento: risultati. *Epidemiol Prev* 2011;35(5-6) Suppl 4:1-204.
19. Pirastu R, Comba P, Conti, S et al (eds). SENTIERI - Studio epidemiologico nazionale dei territori e degli insediamenti esposti a rischio da inquinamento: mortalità, incidenza oncologica e ricoveri ospedalieri. *Epidemiol Prev* 2014;38(2) Suppl 1:1-170.
20. Clarkson TW, Magos L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol* 2006;36(8):609-62.
21. Guzzi G, La Porta CAM. Molecular mechanisms triggered by mercury. *Toxicology* 2008;244(1):1-12.
22. Wilhelm M, Ewers U, Schulz C. Revised and new reference values for some trace elements in blood and urine for human biomonitoring in environmental medicine. *Int J Hyg Environ Health* 2004;207(1):69-73.
23. Phelps RW, Clarkson TW, Kershaw TG, Wheatley B. Interrelationships of blood and hair mercury concentrations in a North American population exposed to methylmercury. *Arch Environ Health* 1980;35(3):161-68.
24. World Health Organization, International programme on chemical safety. *Methylmercury*. Environmental health criteria 101. Geneva, WHO, 1990. Disponibile all'indirizzo: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/38082>
25. JECFA. Summary and Conclusions of the 61st Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives (JECFA), JECFA/61/SC. Rome 2003.
26. World Health Organization. Expert committee on food additives Sixty-first meeting Rome, 10-19 June 2003.
27. Barregard L, Horvat M, Mazzolai B et al. Urinary mercury in people living near point sources of mercury emissions. *Sci Total Environ* 2006;368(1):326-34.
28. Environmental Protection Agency. *Method 7473: Mercury in solids and solutions by thermal 420 decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry*. US EPA (2007).
29. U.S. Environmental Protection Agency. Integrated risk information system. Methylmercury (MeHg) (CASRN 22967-92-6). US EPA 2001. Disponibile all'indirizzo: <http://www.epa.gov/iris/subst/0073.htm>
30. R Development Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, R Foundation for Statistical Computing, 2011.
31. Miklavic A, Casetta A, Snoj Tratnik J et al. Mercury, arsenic and selenium exposure levels in relation to fish consumption in the Mediterranean area. *Environmental Research* 2013;120:7-17.
32. Alimonti A, Bocca B, Mattei D, Pino A. *Programme for biomonitoring the Italian population exposure (PROBE): internal dose of metals*. Roma, Istituto Superiore di Sanità, 2011.
33. Human Biomonitoring. Stoffmonographie Quecksilber – referenz – und humanbiomonitoring-werte (HBM), Empfehlung des Instituts für Wasser-, Boden- und Lufthygiene des Umweltbundesamtes, Kommission "Human- Biomonitoring" des Umweltbundesamtes. Bundesgesundheits- forsch. *Gesundheits-schutz* 1999;42(6):511-21.
34. US EPA. Water Quality Criterion for the Protection of Human Health: Methylmercury. <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/methylmercury/document.html>
35. US EPA, 2010. *Guidance for Implementing the January 2001 Methylmercury Water Quality Criterion*. EPA 823-R-10-001. US Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC. National Research Council (NRC), 2000. *Committee on the Toxicological Effects of Methyl Mercury*. National Academies Press, Washington, DC.
36. World Health Organization. International programme on chemical safety. Environmental health criteria 101:methylmercury.
37. Minoia C, Sabbioni E, Apostoli P et al. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European Community. I. A study of elements in urine, blood and serum of Italian subjects. *Sci Total Environ* 1990;95:89-105.
38. Apostoli P, Cortesi I, Mangili A et al. Assessment of reference values for mercury in urine: the results of an Italian polycentric study. *Sci Total Environ* 2002;289(1-3):13-24.
39. Soleo L, Elia G, Russo A et al. Valori di riferimento del mercurio urinario nella popolazione italiana. *G Ital Med Lav Erg* 2003;25(1):107-13.
40. Società Italiana Valori di Riferimento. *Terza lista dei valori di riferimento per elementi, composti organici e loro metaboliti*. Edizione 2011 con integrazioni sul sito web: [www.valoridiriferimento.it](http://www.valoridiriferimento.it)
41. Magos L, Clarkson TW. The assessment of the contribution of hair to methylmercury excretion. *Toxicol Lett* 2008;182(1-3):48-49.
42. Shrestha KP, Fornerino I. Hair mercury content among residents of Cumana, Venezuela. *Sci Total Environ* 1987;63:77-81.
43. Barregard L. Biological monitoring of exposure to mercury vapour. *Scand J Work Environ Health* 1993;19 Suppl 1:45-49.
44. Bagnato E, Sproveri M, Barra M et al. The sea-air exchange of mercury (Hg) in the marine boundary layer of the Augusta basin (southern Italy): concentrations and evasion flux. *Chemosphere* 2013;93(9):2024-32.
45. Jenssen MT, Brantsæter AL, Haugen M et al. Dietary mercury exposure in a population with a wide range of fish consumption – self-capture of fish and regional differences are important determinants of mercury in blood. *Sci Total Environ* 2012;439:220-29.
46. Gundacker C, Komarnicki G, Zödl B, Forster C, Schuster E, Wittmann K. Whole blood mercury and selenium concentrations in a selected Austrian population: does gender matter? *Sci Total Environ* 2006;372(1):76-86.
47. Hightower JM, Moore D. Mercury levels in high-end consumers of fish. *Environ Health Perspect* 2003;111(4):604-08.
48. Kosatsky T, Przybysz R, Armstrong B. Mercury exposure in Montrealers who eat St. Lawrence River sportfish. *Environ Res* 2000;84(1):36-43.
49. Wennberg M, Lundh T, Bergdahl IA et al. Time trends in burdens of cadmium, lead, and mercury in the population of northern Sweden. *Environ Res* 2006;100(3):330-38.
50. Schulz C, Conrad A, Becker K, Kolossa-Gehring M, Seiwert M, Seifert B. Twenty years of the German Environmental Survey (GerES): human biomonitoring – temporal and spatial (West Germany/East Germany) differences in population exposure. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210(3-4):271-97.
51. Caldwell KL, Mortensen ME, Jones RL, Caudill SP, Osterloh JD. Total blood mercury concentrations in the U.S. population: 1999-2006. *Int J Hyg Environ Health* 2009;212(6):588-98.
52. Canuel R, de Grosbois SB, Atikessé L et al. New evidence on variations of human body burden of methylmercury from fish consumption. *Environ Health Perspect* 2006;114(2):302-06.
53. Mergler D, Anderson HA, Chan LH et al. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *Ambio* 2007;36(1):3-11.
54. Golding J, Steer CD, Hibbeln JR, Emmett PM, Lowery T, Jones R. Dietary predictors of maternal prenatal blood mercury levels in the ALSPAC birth cohort study. *Environ Health Perspect* 2013;121(10):1214-18.
55. Passos CJ, Mergler D, Gaspar E et al. Eating tropical fruit reduces mercury exposure from fish consumption in the Brazilian Amazon. *Environ Res* 2003;93(2):123-30.
56. US EPA. Origin of the 1 meal/week noncommercial fish consumption rate in national advisory for mercury. Office of Water, National Fish and Wildlife Contamination Program, 2004. Disponibile all'indirizzo: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/fish-advice-1-meal-per-week.pdf>
57. World Health Organization. *Summary and Conclusions of the Sixty Seventh Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 20-29 June 2006*. Geneva, WHO, 2006. <http://apps.who.int>