

Epidemiologia molecolare dei tumori

Responsabile scientifico

Eugenia Dogliotti (Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

Fattori di rischio nell'insorgenza dell'epitelioma basocellulare (BCC) in una popolazione mediterranea. Lo studio di epidemiologia molecolare sui fattori di rischio nell'insorgenza di BCC, precedente condotto, riguardava un campione di popolazione arruolato all'interno di un più ampio studio epidemiologico caso-controllo. In collaborazione con l'Istituto Dermopatico dell'Immacolata (IDI) di Roma sono stati analizzati i risultati di questa indagine epidemiologica. Dallo studio emerge che l'esposizione solare prolungata in età adolescenziale è un fattore di rischio importante per lo sviluppo di BCC in età adulta. Inoltre, esiste una forte associazione tra storia familiare di cancro della pelle e rischio di BCC, a dimostrazione dell'importanza della predisposizione genetica in questa patologia.

I geni coinvolti nella cancerogenesi della pelle: il gene patched. È stata ultimata l'analisi delle mutazioni nel gene patched in basaliomi di pazienti affetti da Xeroderma Pigmentosum (XP). Il gene patched, che in questi tumori è mutato ad altissima frequenza (90%), mostra le mutazioni attese in base all'esposizione a radiazioni solari (transizioni C>T che sono l'impronta della mutagenesi da luce UV). Questo profilo di mutazioni è diverso rispetto a quello osservato in BCC di soggetti normali che presentano una frequenza di mutazione nel gene patched più bassa (27%) con frequenti delezioni e inserzioni. Questi dati suggeriscono che il difetto nella riparazione del danno da luce UV dei soggetti XP possa contribuire significativamente all'insorgenza precoce e frequente di BCC in questi pazienti. È stata inoltre avviata, in collaborazione con l'IDI, l'analisi delle mutazioni nel gene patched in BCC con insorgenza precoce (età inferiore ai 30 anni) di donatori normali per definire il contributo di mutazioni nel gene patched nella suscettibilità genetica al cancro della pelle.

Inquinamento atmosferico e rischio genotossico

Responsabile scientifico

Riccardo Crebelli (Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

È stata condotta un'indagine sulla esposizione a benzene e ad altri idrocarburi aromatici volatili nei vigili urbani del Comune di Roma. Lo studio ha interessato circa 200 soggetti con varie mansioni. I livelli di esposizione misurati nel personale addetto al controllo della viabilità sono risultati mediamente confrontabili ai livelli medi registrati dalle centraline comunali, sebbene alcuni valori individuali siano risultati considerevolmente più alti, anche in assenza di picchi di inquinamento rilevabili sul territorio.

Indicatori di esposizione interna (benzene ematico e metaboliti urinari del benzene) e di alterazioni citogenetiche hanno mostrato che il fumo di tabacco può rappresentare una causa di esposizione interna a benzene e di danni cromosomici relativamente più importante dell'esposizione a scarichi veicolari, anche in soggetti occupati in aree ad alta densità di traffico. Fattori metabolici con espressione polimorfica sono risultati capaci di modificare parzialmente sia il profilo di esposizione interna sia gli effetti biologici precoci associati all'esposizione ad agenti tossici.

Metodologie per la valutazione della componente salute nell'analisi di rischio connessa alla gestione dei rifiuti

Responsabile scientifico

Loredana Musmeci (Laboratorio di Igiene Ambientale)

Sintesi dell'attività svolta

I risultati più significativi conseguiti nell'anno 2000 sono stati i seguenti:

- individuazione di un set minimo di parametri di controllo da determinare sulle acque profonde e sulle acque di percolazione in prossimità dei siti di discarica, da inserire nella emananda regolamentazione tecnica relativa alle discariche;

- individuazione dei fattori di emissione di aerosol microbici, emessi da impianti di discarica e di compostaggio;
- valutazione dei vari test di eluizione atti a determinare il potenziale rilascio di microinquinanti metallici da varie matrici, quali: fanghi, compost, terreno, ecc.;
- valutazione della qualità chimica e microbiologica del compost prodotto oggi in Italia.

Modelli sperimentali per lo studio della tossicità riproduttiva di sostanze presenti nell'ambiente

Responsabile scientifico

Alberto Mantovani (Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

Nei Paesi industrializzati l'allungamento della vita media richiama il sistema di sanità pubblica a dare sempre maggiore priorità a patologie che colpiscono la qualità della vita. In questo ambito, la salute riproduttiva e la scelta della procreazione meritano un particolare rilievo. Al Servizio Sanitario Nazionale (SSN) si richiede un elevato livello di protezione nei confronti dei molteplici e differenziati rischi che possono colpire la riproduzione e che comprendono patologie sia ad alta prevalenza (es. disturbi della fertilità) sia a bassa prevalenza ma ad elevato costo individuale e sociale (es. alterazioni dello sviluppo endocrino o riproduttivo). Per contro, le conoscenze scientifiche disponibili sono insufficienti per assicurare un'adeguata valutazione dei fattori di rischio coinvolti; inoltre, per un'attività di prevenzione realmente efficace, la salute riproduttiva deve essere vista come un continuum, che dalla produzione di gameti sani e la fertilizzazione attraverso lo sviluppo intrauterino e postnatale della generazione successiva.

Gli xenobiotici nell'ambiente di vita e di lavoro e negli alimenti hanno un posto prioritario quali fattori di rischio per il processo riproduttivo, in particolare considerando che si tratta di rischi prevenibili, attraverso una valutazione del rischio che porti alla riduzione dell'esposizione umana, e involontari, poiché l'individuo non conosce l'entità né le conseguenze dell'esposizione a contaminanti; il che determina una sottrazione di autonomia e di consapevolezza nel controllo della propria salute.

In tale ambito, si sono svolte le attività di ricerca e istituzionali, in particolare:

- sono stati identificati agenti potenzialmente tossici per la riproduzione nei prodotti di consumo, e in particolare composti inorganici (es. alluminio), fitoestrogeni e xenoestrogeni, presenti come ingredienti e/o additivi nei cosmetici;
- si è richiamata l'attenzione sulla malattia celiaca (prevalente, nelle sue numerose forme subcliniche, sino allo 0,3% nella popolazione italiana) come fattore di rischio per la donna in età fertile, in particolare per la potenziale aumentata suscettibilità ad agenti esogeni che alterano l'equilibrio endocrino e immunitario;
- sono stati valutati gli aspetti bioetici della valutazione di patologie ad eziologia multifattoriale;
- sono stati prodotti documenti nell'ambito dell'attività di revisione dei criteri per la valutazione della tossicità riproduttiva a livello di WHO e UE, in particolare riguardo il ruolo della tossicità materna e dell'esposizione attraverso l'allattamento nella tossicità dello sviluppo;
- è stata curata la formazione degli operatori dell'SSN sui temi della salute riproduttiva e dell'ambiente.

Patologie spontanee degli animali domestici: un modello in epidemiologia ambientale veterinaria

Responsabile scientifico

Paola De Nardo (Laboratorio di Igiene Ambientale)

Sintesi dell'attività svolta

Prosegue lo studio che, adottando in modo relativamente nuovo anche criteri e metodi epidemiologici per la sorveglianza delle popolazioni animali, ha lo scopo di trarre informazioni di rilievo su scenari di esposizione che possono coinvolgere anche popolazioni umane.

Sono stati presi in esame:

- il mesotelioma pleurico del cane come indicatore di esposizione ambientale ad amianto;
- l'esposizione residenziale a campi elettromagnetici e il rischio di linfoma nel cane;
- la possibile associazione positiva tra linfoma nel cane ed esposizione ad erbicidi.

Questi studi costituiscono la fase pilota di una metodica di utile supporto per possibili interventi conoscitivi in aree a rischio.

Qualità dei principi attivi e dei componenti dei preparati antiparassitari in relazione al loro significato tossicologico e sanitario

Responsabile scientifico

Roberto Dommarco (Laboratorio di Tossicologia Applicata)

Sintesi dell'attività svolta

I preparati antiparassitari, sia per uso agricolo che per uso domestico e civile, possono presentare rischi immediati o differiti dal punto di vista sanitario, che derivano dalle loro intrinseche caratteristiche tossicologiche.

Questi rischi derivano non solo dagli specifici principi attivi ma anche dalle sostanze usate come coformulanti. Di particolare importanza, inoltre, sono i pericoli che sorgono dalla presenza di impurezze tossicologicamente attive.

I requisiti di qualità dei preparati commerciali sono stati definiti, nel corso degli anni, da organismi sovranazionali (FAO, WHO, CIPAC) e dalla legislazione nazionale e internazionale.

Compito dell'autorità sanitaria, richiesto espressamente da leggi nazionali e dal recepimento di normative comunitarie, è quindi il controllo dei requisiti di qualità e la valutazione delle implicazioni tossicologiche e sanitarie connesse con l'uso degli antiparassitari.

Sistemi di informazione e meccanismi di valutazione, gestione e riduzione del rischio legato all'uso di sostanze e preparati pericolosi

Responsabile scientifico

Roberto Binetti (Laboratorio di Tossicologia Applicata)

Sintesi dell'attività svolta

Nel campo delle sostanze chimiche nuove, sono state effettuate valutazioni tossicologiche ed ecotossicologiche, in applicazione della direttiva 92/32/CEE; è stata anche effettuata, per molte sostanze, la valutazione del rischio, tenuto conto dei livelli di esposizione ipotizzabili.

Nel campo delle sostanze chimiche esistenti, è stata sviluppata l'attività dell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche ed è stata svolta, in ambito comunitario, una intensa attività per la classificazione di pericolo di sostanze chimiche rilevanti per l'industria europea, per quanto riguarda sia la salute umana che l'ambiente.

Sia a livello OCSE che a livello UE sono state seguite attivamente una serie di attività nel settore della valutazione del rischio delle sostanze esistenti; l'Istituto ha svolto in questo campo un ruolo scientifico primario nella selezione delle sostanze prioritarie, nella valutazione dei livelli di esposizione per l'uomo e per l'ambiente, e nella caratterizzazione del rischio.

È stata completata, a livello comunitario, una revisione dei meccanismi di classificazione dei preparati pericolosi.

È stato avviato il progetto per la creazione di un Archivio nazionale sui preparati pericolosi.

Nel settore dei prodotti chimici di largo consumo, è stata svolta una intensa attività sperimentale, mirata alla messa a punto di metodiche analitiche strumentali per la determinazione quali-quantitativa di componenti chimici pericolosi.

**Sostanze chimiche di interesse prioritario in sanità pubblica:
produzione di dati sul loro meccanismo di tossicità. Applicazione alla valutazione
del rischio e identificazione di fattori di suscettibilità individuale***Responsabile scientifico*

Luciano Vittozzi (Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

Nell'ambito degli studi sui fattori metabolici di suscettibilità individuale a sostanze tossiche, è stata conclusa l'identificazione degli enzimi umani (CYP) responsabili della formazione dei metaboliti reattivi del cloroformio, composto modello di organoalogenati, contaminanti delle acque potabili. Alle basse concentrazioni di CHCl₃, tipiche della esposizione reale, il CYP2E1 è responsabile del 90% circa della formazione di fosgene (metabolita tossico) e potrebbe essere un buon biomarcatore di suscettibilità al cloroformio.

Sono stati inoltre condotti studi per confermare risultati sui CYP attivi nella formazione del metabolita tossico oxon (responsabile della inibizione della acetilcolinesterasi), ottenuti con alcuni pesticidi organofosforotoniati, largamente impiegati in agricoltura. Anche per questa ricerca lo scopo applicativo è l'identificazione di possibili marker di suscettibilità individuale ai pesticidi organofosforotoniati. Tali studi si propongono di stabilire se esista una correlazione statistica tra la produzione di oxon e i livelli di attività enzimatiche specifiche di ciascun CYP in biopsie epatiche umane. I risultati ottenuti confermano che, nel caso di parathion e azynphos, gli enzimi epatici più rilevanti nella produzione del metabolita tossico sono i CYP1A2, CYP3A4 e CYP2B6.

Studi di correlazione struttura e attività*Responsabile scientifico*

Romualdo Benigni (Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

Da un punto di vista applicativo, il risultato più rilevante è il successo di un modello di predizione della cancerogenicità delle ammine aromatiche. Tale modello, direttamente calcolabile dalla formula di struttura, consente sin da ora di produrre ammine aromatiche più sicure per la salute.

Per la ricerca di base, si segnala la definizione di un metodo (analisi delle ricorrenze, RQA) basato su informazioni di sequenza per predire struttura e attività di classi omogenee di proteine.

Per l'epidemiologia ecologica, è stata individuata una stretta correlazione tra condizione della donna e differenziale di tumori tra sessi. Questo risultato è stato reso noto, contribuendo alla sensibilizzazione sul carattere ambientale dei tumori.

Sul versante teorico, si segnala la definizione quantitativa del concetto di chiralità. Si è valutata la tossicità acquatica dell'acido peracetico in vista di un suo potenziale uso quale disinfettante delle acque potabili.

**Studio della sicurezza dal punto di vista tossicologico
di materiali tradizionali e innovativi in relazione alla salute umana e dell'ambiente***Responsabile scientifico*

Luciana Gramiccioni (Laboratorio di Tossicologia Applicata)

Sintesi dell'attività svolta

È stato effettuato uno studio sperimentale su Polipropilene e PET sottoposti a tre cicli ripetuti di impiego, secondo uno schema di uso, bonifica post-consumo, rilavorazione. Per valutare il comportamento migrazionale e prestazionale dei manufatti, sono stati aggiunti alcuni contaminanti spia e sono state valutate sia le relazioni contenuto/migrazione sia alcuni parametri strutturali e meccanici. I risultati ottenuti hanno mostrato che, ai fini di un possibile riciclo dei materiali, non è sufficiente conoscere la composizione o la migrazione dei materiali, ma è indispensabile conoscerne l'intero ciclo di lavorazione e trattamento di post-consumo.

Sono proseguiti gli studi sul possibile impiego di modelli diffusionali di calcolo per la stima della potenziale contaminazione degli alimenti, con particolare attenzione all'influenza dei parametri strutturali del polimero sulla correttezza delle stime.

È stata sviluppata una metodica analitica ASE per la determinazione di sostanze chimiche, presenti in polimeri come additivi o sostanze spia. Sono state elaborate e convalidate metodiche per Polipropilene, PVC, e PET.

È stata effettuata una sperimentazione sul comportamento alla migrazione di superfici di alluminio anodizzato in contatto con alimenti, sottoponendo allo studio materiali trattati con diverse tecnologie di anodizzazione.

Studio delle caratteristiche chimico-fisiche del particolato aerodisperso fine (PM10) e dei meccanismi di interazione delle sue componenti con strutture biologiche

Responsabile scientifico

Luigi Paoletti (Laboratorio di Ultrastrutture)

Sintesi dell'attività svolta

Obiettivo della ricerca è stata la caratterizzazione chimico-fisica del particolato inferiore ai 10 µm (PM10). L'analisi dei campioni è stata condotta mediante microscopia elettronica a scansione e microanalisi con spettrometria EDX; i dati sono stati elaborati con i metodi della *hierarchical cluster analysis* per individuare le componenti principali del PM10. È stata evidenziata la presenza di un *coating acido*, costituito da solfati sulle particelle ricche di carbonio e in misura minore sui silicati e sulla silice.

Lo studio dell'interazione del PM10 con le strutture biologiche è stata portata avanti utilizzando una linea cellulare macrofagica RAW 264.7.

Per valutare la risposta infiammatoria, campioni di PM10 sono stati paragonati con particelle di *Carbon Black* (CB) aventi una granulometria simile. PM10 e PM 2.5 inducono un significativo rilascio di Acido Arachidonico (AA), mentre il CB non rilascia AA. PM10 e PM 2.5 producono 10 volte più TNF α del CB. IL6 è indotta solo dalle particelle <2.5. Né CB né PM10 inducono il rilascio di IL6.

Valutazione dell'esposizione a residui di antiparassitari e sviluppo di metodologie analitiche multiresiduo

Responsabile scientifico

Alfonso Di Muccio (Laboratorio di Tossicologia Applicata)

Sintesi dell'attività svolta

Per valutare la situazione della contaminazione degli alimenti, sono stati raccolti ed elaborati gli ultimi dati disponibili relativi al 1999 sui piani di monitoraggio messi in atto in Italia anche in applicazione della direttiva 90/642/CEE dell'Unione Europea (DM 23/12/1992). Dai dati raccolti risulta che sono stati analizzati 7.802 campioni di prodotti vegetali (rispetto ai 4.370 campioni previsti dal DM 23/12/1992) per un totale matrici diverse.

Dei campioni analizzati, l'1,3 % (uguale al dato relativo al 1999) conteneva residui superiori ai limiti tollerati, mentre il 30,2 % conteneva residui inferiori ai limiti e il 68,5 % non conteneva residui. Il 12,6 % dei campioni conteneva più di un residuo, mentre il 19,0 % conteneva un solo residuo.

La valutazione della stima dell'assunzione di residui di pesticidi tramite la dieta è stata condotta sui dati relativi al 1997. In sintesi, i dati della valutazione mostrano come i livelli di ingestione rappresentino una piccola percentuale della Dose Giornaliera Accettabile (*Acceptable Daily Intake* - ADI).

È stata conclusa l'indagine sui livelli di contaminazione da pesticidi organoclorurati e policlorobifenili (PCB) nella parte edibile di campioni di fauna ittica del mare Adriatico, al fine di stimare i livelli di assunzione tramite la dieta. Sono stati messi a punto i metodi analitici e sono stati analizzati i campioni di specie prelevate nella primavera del 1997 e di 12 specie prelevate nell'autunno 1997. I dati mostrano concentrazioni di p,p'-DDE a livelli compresi nel campo <0,01-20 ng/g, di p,p'-TDE a livelli compresi nel campo 0,50-21 ng/g e livelli di policlorobifenili (come somma di 24 congeneri ricercati) compresi nel campo 1-69 ng/g (parti per miliardo).

Come prosecuzione dell'attività già svolta, relativa allo sviluppo di nuove metodologie analitiche, è continuata la ricerca per la elaborazione di un nuovo metodo miniaturizzato di purificazione di estratti vegetali. Questo sistema di purificazione dovrebbe consentire di analizzare direttamente gli estratti dopo un semplice passaggio attraverso cartucce cromatografiche a riempimento misto. Si stanno indagando le prestazioni di diverse combinazioni di materiali cromatografici e il comportamento di diverse classi di pesticidi.

I metodi messi a punto e quelli in corso di sviluppo si caratterizzano per la tecnologia che utilizza processi su matrice solida, una tecnologia il cui sviluppo è stato portato avanti nel corso degli ultimi dieci anni.

Le caratteristiche di questa tecnologia sono: la semplicità e rapidità delle operazioni, il ridotto consumo di solventi e reattivi, la possibilità di elaborazione di più campioni in parallelo, la compatibilità con sistemi di manipolazione automatica.

Valutazione e prevenzione del rischio sanitario associato alla qualità di acque costiere marine, interne e sotterranee, in relazione a processi prioritari di contaminazione

Responsabile scientifico

Enzo Funari (Laboratorio di Igiene Ambientale)

Sintesi dell'attività svolta

Sono stati condotti studi sperimentali che hanno permesso di individuare oltre 10 metaboliti di pesticidi, come possibili contaminanti delle acque sotterranee e che pertanto dovrebbero essere inclusi negli elenchi dei composti da monitorare.

Sono stati inoltre eseguiti studi sulla contaminazione da alchilfenoli di alcuni prodotti ittici dell'Adriatico. I composti ricercati sono stati determinati in tutte le specie esaminate di tutte le aree dell'Adriatico. In particolare, il nonilfenolo è stato rilevato a valori compresi tra 100 e 700 µg/kg di peso fresco di parte edibile.

In relazione alla problematica dei cianobatteri, sono stati messi a punto i metodi per la determinazione delle microcistine in campioni di acqua superficiale interessati da fioriture.

Valutazione tossicologica di livelli di contaminanti inorganici. Sviluppo di metodologie e caratterizzazione di materiali per il loro studio

Responsabile scientifico

Sergio Costantini (Laboratorio di Tossicologia Applicata)

Sintesi dell'attività svolta

L'attività ha riguardato lo studio e la valutazione della presenza di contaminanti inorganici, in riferimento agli elementi, per l'uomo e per l'ambiente.

Il progetto si articola su direttrici diverse, mirate a valutare, attraverso i dati analitici, i livelli di inquinanti ambientali e le vie attraverso cui possono pervenire all'uomo e causare specifiche patologie.

Gli aspetti principali sono i seguenti:

- individuazione dei livelli di metalli pesanti di interesse tossicologico, presenti in componenti dell'ecosistema marino e riferiti all'interazione organismi/sedimento;
- presenza di metalli pesanti in preparati di erboristeria, riferiti ai prodotti utilizzati nella medicina ayurvedica, attualmente non regolamentati;
- sviluppo di metodologie analitiche per la determinazione di elementi in matrici complesse di significato tossicologico; validazione dei metodi attraverso l'approntamento di circuiti nazionali di controllo di qualità, coinvolgendo le strutture del Servizio Sanitario Nazionale che costituiscono l'utente finale del prodotto;
- studio delle alterazioni dei livelli di elementi essenziali e non, in specifiche patologie;
- ricerca delle cause e valutazione degli effetti.

AREA 11 - RADIAZIONI**Esposizione della popolazione italiana alla radioattività naturale:
stima del rischio e caratterizzazione delle sorgenti***Responsabile scientifico*

Serena Risica (Laboratorio di Fisica)

Sintesi dell'attività svolta

È stato completato lo studio caso-controllo sul rischio di tumore polmonare associato all'esposizione a radon nelle abitazioni del Lazio, che prevedeva la misura della concentrazione di radon e della radiazione gamma nelle abitazioni in cui i soggetti (caso o controlli) hanno vissuto nei 35 anni precedenti all'arruolamento. L'analisi dei dati è in corso.

La linea di ricerca sui materiali da costruzione come sorgente di esposizione alle radiazioni ionizzanti della popolazione è stata completata con la messa a punto di un metodo (che fa uso di misure sperimentali *in situ* e di un modello di calcolo) che stima l'emanazione ed esalazione di radon dalle pareti, permettendo quindi di valutarne il contributo delle pareti alla concentrazione di radon in quella stanza.

Nell'ambito dell'indagine epidemiologica (SETIL), finalizzata a valutare i fattori di rischio per le leucemie infantili e il neuroblastoma, è iniziato uno studio per la migliore caratterizzazione del fondo di radiazione gamma nelle abitazioni.

**Fisica nucleare e applicazioni delle sue metodologie e tecniche alla biologia,
alla medicina e all'ambiente***Responsabile scientifico*

Franco Garibaldi (Laboratorio di Fisica)

Sintesi dell'attività svolta

L'attività di ricerca fondamentale è stata caratterizzata dalla raccolta e analisi di dati di importanti esperimenti di diffusione di elettroni e fotoni su nucleoni e costruzione di apparati che hanno avuto ricadute applicative in medicina. In campo applicativo, sono continuate le attività connesse con lo studio di sistemi di rivelazione per la diagnosi precoce del cancro del seno.

Si è mostrato che è possibile migliorare le prestazioni dei sistemi attualmente utilizzati, in termini di risoluzione spaziale e sensibilità di contrasto, e quindi di rendere possibile la rivelazione di piccoli tumori (< 10 mm, possibilmente < 5 mm) facendo uso di sistemi di elettronica e acquisizione dati veloci derivati dalle applicazioni in fisica nucleare.

Per la macchina acceleratrice per radioterapia con protoni, si è definita la struttura accelerante della macchina che sarà accoppiata all'iniettore da 7 MeV.

È continuato inoltre lo studio dei sistemi di rilevamento aereo di radioattività.

Meccanismi d'azione delle radiazioni ionizzanti e relazione tra dose ed effetti biologici*Responsabile scientifico*

Mauro Belli (Laboratorio di Fisica)

Sintesi dell'attività svolta

I primi risultati sulla produzione di doppie rotture (DSB) indotte da ioni azoto sul DNA di cellule K562 (proeritroblasti umani), prima e dopo il differenziamento, indicano nella struttura della cromatina, che diventa più compatta in seguito al differenziamento, uno dei fattori che influenzano la formazione e la distribuzione delle DSB.

Fibroblasti d'origine umana, AG1522, sono stati irraggiati con raggi γ e protoni valutando l'efficacia d'induzione di DSB nel DNA cellulare. Questa risulta maggiore per i protoni e l'analisi degli spettri di frammentazione indica che radiazioni densamente ionizzanti producono frammenti di dimensioni minori in confronto ai raggi γ .

Sono state studiate due colture di cellule di mammifero (V79) coltivate in parallelo in condizioni di fondo "normale" di radiazione (presso l'Istituto) e di basso fondo (tunnel del Gran Sasso). Dal confronto di diversi parametri biochimici e biologici sono state ottenute evidenze di un effetto del fondo di radiazione.

Radiazioni non ionizzanti: effetti biologici e sanitari

Responsabile scientifico

Paolo Vecchia (Laboratorio di Fisica)

Sintesi dell'attività svolta

Nell'ambito della ricerca di base sono state sviluppate, in particolare, le attività in collaborazione per la conduzione degli studi epidemiologici SETIL (studio nazionale su campi magnetici a 50 Hz e leucemie infantili) e INTERPHONE (studio internazionale su telefoni cellulari e tumori cerebrali). In collaborazione con l'ENEA sono stati definiti i criteri per la realizzazione del catasto nazionale delle sorgenti elettromagnetiche. Nell'ambito dell'*International Commission on Non-ionizing Radiation Protection* (ICNIRP), è stata avviata un'azione concertata con la Commissione Europea per la valutazione dei rischi di sistemi magnetici antitaccheggio e di identificazione.

Nel campo della radiazione ottica, sono state effettuate indagini preliminari per la realizzazione e la caratterizzazione di dosimetri per radiazione ultravioletta basati su polisolfoni.

Nel campo della ricerca operativa, sono stati approfonditi gli aspetti etici e metodologici della protezione dai campi elettromagnetici, con particolare riguardo al "principio di cautela". Una ricerca ha riguardato l'analisi dell'efficacia di dispositivi di protezione dalle radiazioni di telefoni cellulari.

Sviluppo di metodi avanzati di dosimetria e di nuove tecnologie nell'uso delle radiazioni ionizzanti ad impatto sanitario

Responsabile scientifico

Sandro Onori (Laboratorio di Fisica)

Sintesi dell'attività svolta

L'attività si è focalizzata in due settori:

– **Dosimetria in terapia**

Sono state analizzate le proprietà di sistemi dosimetrici assoluti (calorimetro ad acqua) e relativi (film GafCromici, diodi al silicio di tipo p, diamanti naturali e Fricke-agarosio) in vista di un loro utilizzo sia in fasci convenzionali che di protoni. È stata messa a punto una procedura di misura dell'alanina che consente misure di dose con un'incertezza combinata dell'1%, ottimale per applicazioni in radioterapia.

– **Dosimetria retrospettiva biologica**

Sono stati studiati i segnali di confondimento indotti dalla tecnica di preparazione dello smalto attraverso l'analisi dei segnali indotti termicamente, con l'obiettivo di ridurre l'incertezza del metodo nella misura della dose accidentale individuale. Sono state inoltre effettuate misure preliminari di valutazione della dose impartita al dente durante esami diagnostici tramite tomografia computerizzata.

Sviluppo di metodologie fisiche e biomediche per il miglioramento dei trattamenti radioterapici

Responsabile scientifico

Vincenza Viti (Laboratorio di Fisica)

Sintesi dell'attività svolta

L'attività di ricerca di base è stata rivolta all'esame dei segnali metabolici negli spettri ^1H RMN di cellule *in vitro*, prima e dopo l'irraggiamento, e alla correlazione di questi segnali con l'attività proliferativa delle cellule stesse.

L'irraggiamento di cellule eucariote porta ad un arresto della progressione cellulare nelle fasi S o G₂, con conseguente blocco della proliferazione. Gli esperimenti condotti su due diverse linee di carcinomi umani, una linea di carcinoma della cervice nota come cellule HeLa e una linea di carcinoma mammario nota come MCF7, hanno mostrato, sotto l'effetto di radiazione gamma, che le cellule sensibili alle radiazioni e bloccate nella progressione attraverso il ciclo presentano segnali provenienti dai lipidi mobili molto più intensi che nei campioni di controllo. Sono iniziati anche esperimenti su sferoidi multicellulari preparati con le cellule MCF7.

In relazione all'attività più applicativa di questa linea di ricerca, è proseguita l'attività del Gruppo di studio dell'Istituto sul tema "Assicurazione di qualità in radioterapia", istituito allo scopo di elaborare linee guida relative a protocolli di minima in questo ambito.

Sviluppo di metodologie sperimentali e modelli di calcolo per la valutazione delle conseguenze sanitarie di rilasci radioattivi

Responsabile scientifico

Antonia Rogani (Laboratorio di Fisica)

Sintesi dell'attività svolta

I risultati conseguiti hanno riguardato:

- Realizzazione di un sistema rapido per la misura dello stronzio radioattivo nel latte
Nel 2000 è stato completato l'assemblaggio della strumentazione e il collaudo per verificarne la rispondenza allo scopo della ricerca. In particolare, la messa a punto delle procedure di separazione su standard acquosi è da considerarsi conclusa. È in fase avanzata l'utilizzo di campioni di piccolo volume con elevate concentrazioni di Sr-90 ed è stato avviato quello relativo a grandi volumi di campioni poco contaminati.
- Sviluppo di modelli di calcolo
Riguardo l'algoritmo *Radiological Assessment of Nuclear Accidents* (RANA) è stata realizzata una nuova interfaccia con l'utente. In virtù di questo, l'utente può seguire, per i calcoli richiesti a RANA, un percorso completamente interattivo. Sono state introdotte inoltre numerose *palettes*, dalle quali l'utente può immediatamente avere a disposizione i dati essenziali di riferimento utilizzati dall'algoritmo e l'indicazione della gravità dell'incidente considerato, anche in base alla classificazione dell'International Atomic Energy Agency (IAEA).

AREA 12 - ALIMENTI, NUTRIZIONE E SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA

Additivi, contaminanti metallici, elementi di interesse bionutrizionale negli alimenti: stima delle assunzioni con la dieta e valutazione del rischio

Responsabile scientifico

Massimo Baldini (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

Il progetto ha previsto la seguente articolazione metodologica e sperimentale:

- stima delle assunzioni di alcuni additivi con la dieta e valutazione del rischio sanitario associato;
- stima delle assunzioni di contaminanti tossici con la dieta e valutazione del rischio sanitario;
- stima delle assunzioni di elementi di interesse bionutrizionale con la dieta e valutazione di eventuali stati carenziali.

Gli studi condotti sono stati trasferiti a livello istituzionale consentendo:

- per piombo e cadmio, la definizione dei limiti massimi di tollerabilità nell'ambito della proposta del Regolamento Comunitario;
- per il cadmio, l'inserimento stabile degli equini nel Piano Nazionale Residui;

- per il cromo, l’inserimento della milza dei suini come indicatore di utilizzo non consentito di cromo nell’ambito dell’alimentazione degli animali da reddito (Piano Nazionale Residui);
- per il mercurio, la valutazione del programma nazionale di sorveglianza sullo stato di contaminazione dei prodotti ittici (Ministero della Sanità - Istituto Superiore di Sanità);
- per gli additivi, il trasferimento dei dati in sede comunitaria al fine della verifica e della eventuale revisione della normativa vigente in materia di additivi alimentari; la definizione dei limiti massimi di nitrati nei vegetali e la conferma della loro accettabilità dal punto di vista sanitario.

Antiossidanti naturali e acidi grassi polinsaturi: presenza negli alimenti e ruolo biochimico nei fenomeni ossidativi

Responsabile scientifico

Ettore Coni (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell’attività svolta

Sono state condotte indagini sperimentali *in vitro* e *in vivo* per la valutazione della capacità antiossidante di biofenoli contenuti negli alimenti nei confronti dell’ossidazione delle lipoproteine a bassa densità (LDL). Per gli studi *in vitro*, sono state utilizzate linee cellulari classiche quali A431 e Caco-2. Il pretrattamento di entrambe le linee, rispettivamente con vitamina E e con tirosolo esercitava una protezione pressoché totale sia nei confronti della capacità proliferativa che delle alterazioni morfologiche e ultrastrutturali e riduceva significativamente la percentuale di morte cellulare per apoptosi. Gli studi *in vivo* sono stati invece condotti su conigli alimentati con diete integrate con biofenoli. L’aggiunta di detti composti non solo ha aumentato la capacità di resistenza delle LDL all’ossidazione, ma ha diminuito i livelli plasmatici di colesterolo totale, libero ed estere e ha determinato una redistribuzione delle componenti lipidiche delle LDL con un effetto indiretto positivo sulla misura delle stesse.

Sono stati, inoltre, condotti studi clinici su pazienti, affetti da dislipidemia, alimentati con diete che contemplavano l’assunzione di olio extra vergine d’oliva ad elevato contenuto di biofenoli e su puerpere la cui alimentazione era integrata con acidi grassi essenziali (AGE).

Aspetti igienico sanitari delle produzioni d’acquacoltura

Responsabile scientifico

Alfredo Ioppolo (Laboratorio di Medicina Veterinaria)

Sintesi dell’attività svolta

Gli scopi del progetto sono i seguenti:

- verificare l’esistenza di una correlazione diretta tra la qualità dell’acqua presente negli invasi adibiti a piscicoltura e qualità dell’ittiofauna;
- identificare e studiare l’impatto sull’ambiente degli impianti di piscicoltura;
- controllare le varie fioriture algali anche tossiche e il loro effetto sulle risorse ittiche.

Per la pianificazione del lavoro e per garantire la uniformità dei dati sono stati predisposti un questionario e un software, rispettivamente per la raccolta e la gestione dei dati in ottemperanza della Direttiva CEE 337/85.

Per controllare il possibile inquinamento causato dagli impianti di piscicoltura è stato effettuato uno studio pilota dell’alto corso di un fiume, in Italia centrale, in cui sono localizzati alcuni allevamenti ittici. Per uno di questi impianti è stato attuato un piano di monitoraggio comprendente esami chimici, fisici e microbiologici delle acque in entrata e in uscita, completato dallo studio dei macroinvertebrati bentonici con il calcolo dell’*Extended Biotic Index*. I risultati delle analisi hanno consentito di evidenziare profonde modificazioni dell’ambiente idrico sia per l’aumento di materiale organico sia, soprattutto, per i trattamenti eseguiti in allevamento intensivo. A tal proposito, anche il mangime somministrato è risultato essere una componente essenziale: con la finalità di mantenere inalterate qualità ed efficacia del mangime, è stata verificata l’applicabilità della tecnica “Riflettanza nel vicino infrarosso” (NIR) alle formulazioni mangimistiche a garanzia dell’allevatore e del consumatore.

Caratteristiche chimiche e biologiche di oli essenziali e riflessi applicativi

Responsabile scientifico

Giuseppe Salvatore (Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

Nel corso del 2000 sono stati svolti:

- Studi integrati di chimica analitica strumentale
È stata svolta un'indagine conoscitiva della composizione di 16 oli essenziali di *Melaleuca alternifolia* di importazione e presenti sul mercato nazionale, al fine di ricercare un campione ottimale nella composizione da utilizzare per le prove biologiche. Dei vari tipi riscontrati è parso il più adeguato quello a più alto contenuto di terpinen-4-olo (ca 40 %) e basso contenuto di 1,8-cineolo (massimo 5 %). Sono state approfondite le possibilità applicative della *Solid Phase Micro-Extraction/Head Space* nei confronti di droghe vegetali e di altre matrici, al fine di definire il profilo compositivo della componente volatile e di accertare l'esistenza di chemotipi differenti per una stessa specie vegetale, con particolare riferimento alla presenza di sostanze cancerogene.
- Proseguimento degli studi sulle proprietà antibatteriche e antifungine degli oli essenziali
In particolare sono stati svolti studi sulla *Melaleuca alternifolia*.

La contaminazione biologica nelle produzioni e nelle trasformazioni alimentari

Responsabile scientifico

Paolo Aureli (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

- Botulismo
Nell'ambito dell'attività del Centro nazionale di riferimento per il botulismo, sono stati studiati 38 casi sospetti dei quali 13 confermati nell'ambito di 10 episodi. Sono stati inoltre diagnosticati tre casi di botulismo infantile, tutti e tre correlati al *Clostridium botulinum* tipo B, e un episodio di botulismo aviario tipo C. Sono inoltre proseguite le prove per studiare l'influenza del pH e delle basse temperature sullo sviluppo e la tossinogenesi dei ceppi neurotossigeni di *Clostridium butyricum* isolati in Italia. Su tali ceppi sono state inoltre eseguite prove preliminari per valutare l'influenza delle alte pressioni idrostatiche sulla resistenza delle spore. Sono state avviate le prove di tipizzazione molecolare dei ceppi di *Clostridium botulinum* isolati da pazienti e da campioni di mascarpone durante l'indagine sugli episodi di botulismo alimentare verificatisi nel 1996. Le stesse tecniche di caratterizzazione, basate sulla polymerase chain reaction (PCR) e sulla PFGE, sono state applicate allo studio delle relazioni filogenetiche tra i ceppi di *Clostridium butyricum* neurotossigeni isolati in Italia.
- Listeriosi
Nell'ambito del progetto "Studio della listeriosi alimentare e umana e realizzazione di un sistema sperimentale di sorveglianza" sono stati caratterizzati biochimicamente 340 ceppi di *Listeria monocytogenes* presunte, inviati da varie regioni italiane nel corso dell'anno 2000, isolati prevalentemente da carni fresche e trasformate. I risultati dell'analisi biochimica hanno confermato l'appartenenza alla specie *Listeria monocytogenes* nell'88% dei ceppi studiati; il restante 12% è stato identificato prevalentemente come *Listeria innocua*. I ceppi confermati come *Listeria monocytogenes* sono stati sierotipizzati, utilizzando antigeni somatici e flagellari. I sierotipi più frequentemente riscontrati sono stati l'1/2a (37,6%), l'1/2b (17,4%), l'1/2c (22,5%) e il 4b (13,9%). Sono stati confrontati i profili molecolari di ceppi di *Listeria monocytogenes* isolati da alimenti carnei e da campioni clinici, provenienti da casi sporadici di listeriosi, segnalati in Italia negli ultimi sette anni e per i quali il veicolo dell'infezione non è stato identificato.
Lo scopo di tale studio retrospettivo è stato quello di identificare un clone prevalente (persistente nel tempo e con ampia distribuzione geografica) che potesse essere associato ai casi sporadici di listeriosi. Ceppi di *Listeria monocytogenes*, associati con due recenti casi di listeriosi non invasiva, sono stati paragonati con ceppi invasivi di origine clinica allo scopo di identificare eventuali

differenze e con ceppi di origine alimentare allo scopo di verificarne la distribuzione negli alimenti, mediante tecniche di tipizzazione molecolare basate sulla PCR e sulla PFGE. È stato inoltre eseguito uno studio sui geni associati alla virulenza di questi ceppi, per l'approfondimento della diversità dei meccanismi alla base della patogenicità.

- Residui di farmaci da trattamento

Nell'ambito delle attività finalizzate al controllo microbiologico per la presenza dei residui di farmaci da trattamento veterinario ad azione inibente, è stata messa a punto una tecnica per l'inattivazione del lisozima che rappresenta il principale problema nel controllo microbiologico della matrice Uova. Inoltre, è stato definito un protocollo operativo specifico per la ricerca dei residui di antimicrobici possibili in questa matrice.

Per quanto riguarda le matrici Carne e Latte è stata ulteriormente approfondita la parte che riguarda l'identificazione presuntiva degli inibenti.

Il laboratorio ha partecipato al *proficiency test*, organizzato dal Laboratorio Comunitario di Riferimento per i residui di antimicrobici (Fougeres, Francia) sulla matrice Latte: Star milk and Delvotest (2000).

È inoltre continuato il progetto "Incidenza dell'antibiotico-resistenza in ceppi di *Listeria monocytogenes* e identificazione dei plasmidi di resistenza", che ha permesso l'individuazione di due ceppi multiresistenti, sui quali si stanno attualmente approfondendo aspetti di biologia molecolare. È stata valutata l'attività inibente del *Tea tree oil* rispetto ad una serie di microrganismi patogeni e, inoltre, quella di alcuni biofenoli estratti dall'olio di oliva (oleuropeina, p-HPEA, 3,4-DHPEA e acido protocatecuico) nei confronti di 60 ceppi batterici.

Fattori nutrizionali in relazione ai fabbisogni alimentari e allo stato di salute

Responsabile scientifico

Elisabetta Sanzini (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

Relativamente allo studio sull'adeguatezza delle assunzioni alimentari, ai fini della sorveglianza nutrizionale e per eventuali interventi di nutrizione applicata, l'attenzione è stata ancora posta alle donne che allattano e ai bambini che si alimentano al seno.

È stata ultimata l'elaborazione statistica dei *recall* alimentari di 125 nutrici italiane, selezionate tra 210, prive di patologie e appartenenti a tre aree geografiche (Nord, Centro e Sud), a cui è stato anche richiesto di raccogliere una quota di latte. Per quanto riguarda la distribuzione, la qualità e la varietà degli alimenti, solo il 15% delle mamme considerate presenta un'associazione di consumi che può essere considerata equilibrata, mentre per il resto prevalgono stili alimentari molto diversificati e difficilmente valutabili. Dal calcolo degli *intakes* dei nutrienti l'apporto energetico con la dieta è per tutte le nutrici al di sotto del fabbisogno raccomandato. Al contrario, l'assunzione di proteine e le percentuali di energia provenienti dai lipidi e dagli acidi grassi saturi sono più alte rispetto a quanto raccomandato. L'assunzione di acidi grassi polinsaturi rientra negli *intakes* consigliati, mentre la percentuale di energia proveniente dai carboidrati e la quantità di fibra sono più bassi dei livelli di assunzione raccomandati.

Sui campioni di latte materno raccolti, oltre all'azoto totale, azoto proteico, azoto non proteico, azoto degli aminoacidi liberi, che sono stati già studiati in precedenza, è stata completata l'analisi della componente azotata considerando anche frazioni come la creatina, la creatinina e l'acido urico.

Tutti i dati ottenuti provengono da un numero di campioni sicuramente unico: 195 prelievi di latte materno effettuati a un mese di vita del neonato, raccolti in sette centri pediatrici distribuiti sul territorio nazionale e provenienti da nutrici sane che hanno partorito dopo 37 settimane e che hanno allattato esclusivamente al seno.

Per quanto riguarda l'assunzione di integratori di aminoacidi, praticata da molti sportivi, è stato messo a punto un metodo analitico mediante elettroforesi capillare in grado di distinguere le forme racemiche degli aminoacidi, che permetterà di verificare la corretta formulazione di questi prodotti che dovrebbero utilizzare solo forme *levo*, le uniche metabolicamente utilizzabili.

Infezioni da *Escherichia coli* O157 e altri *E. coli* verocitotossina-produttori in Italia

Responsabile scientifico

Alfredo Caprioli (Laboratorio di Medicina Veterinaria)

Sintesi dell'attività svolta

È stata intensificata l'attività di sorveglianza delle infezioni da *E. coli* O157 e da altri ceppi di *E. coli* verocitotossina-produttori (VTEC), per la quale l'Istituto agisce da centro di riferimento.

Con la collaborazione degli istituti zooprofilattici sperimentali sono state condotte indagini sugli animali serbatoio. VTEC O157 è stato isolato da bovini da carne al macello, con prevalenze variabili tra lo 0 e il 15% in funzione della stagione e della tipologia degli animali esaminati. Il microorganismo è stato anche isolato da latte di massa vaccino e ovino.

Studi su specie animali non-ruminanti hanno consentito di dimostrare la presenza di VTEC in oltre il 10% di circa 700 piccioni catturati in diverse aree della città di Roma. Gli stipiti isolati non appartenevano ai sierotipi attualmente ritenuti patogeni per l'uomo e producevano tutti una particolare variante della tossina VT2.

Mediante analisi dei frammenti di restrizione dei prodotti di amplificazione genica (PCR-RFLP) è stato messo a punto uno schema di tipizzazione delle diverse varietà del gene codificante per "intimina", una proteina di membrana che rappresenta il principale fattore di adesione di *E. coli* O157 e degli altri VTEC patogeni per l'uomo. Sono stati identificati sette tipi diversi del gene e ne è stata studiata la distribuzione in ceppi appartenenti a diversi sierotipi e isolati da diverse specie animali.

Modelli di valutazione della qualità di alimenti lipidici in relazione alla produzione primaria e ai processi tecnologici di trasformazione

Responsabile scientifico

Adriana Piccioli Bocca (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

Sono state condotte analisi su matrici lipidiche di prodotti ittici per la valutazione del contenuto di sostanze xenobiotiche (alchilfenoli) da contaminazione ambientale. Le indagini hanno contemplato l'uso del gas cromatografo-massa (GC-MS) dopo pretrattamento del campione. I risultati, finora ottenuti da tre specie di molluschi (mitili, seppie, calamari) provenienti dal mare Adriatico (nord, centro, sud), hanno messo in evidenza la presenza dei suddetti xenobiotici in quantità che saranno prese in considerazione per una prima valutazione del rischio.

È proseguito lo studio su oli di semi di pressione sottoposti a trattamenti termici e di conservazione spinti. Dall'esame dei vari parametri presi in considerazione (valori spettrofotometrici, acidità, perossidi, ^{13}C NMR, composizione acidi grassi) è scaturita una combinazione lineare tra le variabili sotto forma di formula matematica che permette di definire la stabilità degli oli.

È stata infine ultimata una ricerca sul contenuto di elementi in traccia di carattere nutrizionale e tossicologico in latte bufalino e derivati, che ha consentito di definirne i livelli e di correlarli ai processi tecnologici di produzione.

La modificazione del comportamento alimentare nella prevenzione e nella cura dell'obesità e di altre malattie con fattore di rischio nutrizionale

Responsabile scientifico

Stefano Scucchi (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

Nel corso del 2000 sono stati raccolti numerosi dati finalizzati a valutare:

- i fattori metabolici, psicologici e comportamentali, che influenzano l'aderenza ai programmi di riduzione e mantenimento del peso corporeo;
- la relazione tra livelli di colesterolo e umore.

Lo studio ha dimostrato che nei soggetti obesi con alti gradi di *binge eating*, i livelli di leptina sono correlati alla percentuale di grasso corporeo e, indipendentemente dalla massa grassa, al rapporto vita-fianchi. In tali soggetti è stata dimostrata anche l'esistenza di una relazione inversa tra leptina e restrizione cognitiva. Relativamente all'analisi dell'associazione tra livelli ematici di colesterolo totale e livelli di alexitimia (la capacità di riconoscere e/o descrivere le emozioni), lo studio ha confermato l'esistenza di una correlazione significativa tra bassi livelli di colesterolo e alti livelli di alexitimia, suggerendo che tale costrutto può rappresentare una misura più sensibile, rispetto alla depressione e alla rabbia/ostilità, della possibile associazione tra colesterolo e umore.

Qualità e strategie d'impiego dei vaccini virali ad uso veterinario

Responsabile scientifico

Maria Tollis (Laboratorio di Medicina Veterinaria)

Sintesi dell'attività svolta

Nell'ambito dell'attività di ricerca dedicata allo sviluppo di metodi alternativi ai saggi su animali previsti per il controllo di qualità dei vaccini virali, è stata messa a punto una metodica di Polymerase Chain Reaction per la ricerca del virus dell'anemia infettiva del pollo (CAA) nei vaccini aviari ed è stato avviato il processo di validazione della stessa. È stata inoltre completata la caratterizzazione genotipica di un numero significativo di isolati di virus della diarrea virale bovina (BVDV) provenienti da allevamenti di un'area altamente rappresentativa della situazione di campo, in Italia. Lo studio ha consentito di accertare l'esclusiva presenza in Italia di BVDVs di tipo 1 e, di conseguenza, di escludere la presenza di BVDVs di tipo 2, questi ultimi isolati negli ultimi dieci anni in diversi Paesi extraeuropei e responsabili, nei bovini colpiti, di sindromi caratterizzate da estrema gravità.

Sempre in tema di epidemiologia molecolare, è stato completato un approfondito studio relativo alla caratterizzazione di ceppi H5N2 e H5N9 (rispettivamente caratterizzati da alta e bassa patogenicità per specie aviarie domestiche) di virus dell'influenza aviaria, isolati nel corso dei focolai del 1997-1998 in Veneto. La particolare importanza dello studio è stata sottolineata dalla dimostrazione che i ceppi di virus H5N2 sono apparsi antigenicamente simili ai ceppi H5N1, responsabili degli episodi, fatali, di influenza umana a Hong Kong nel 1997 e trasmessi direttamente da volatili domestici all'uomo.

La sicurezza chimica nella produzione e trasformazione dei prodotti alimentari

Responsabile scientifico

Rosa Draisci (Laboratorio di Medicina Veterinaria)

Sintesi dell'attività svolta

Nell'ambito degli studi sulla valutazione della sicurezza chimica e sullo sviluppo di metodologie di controllo dei fattori di rischio nei prodotti e nei processi alimentari, è stato sviluppato il primo metodo chimico per l'identificazione di nuove tossine marine responsabili di sindromi *Azaspiracid Shellfish Poisoning* (AZP).

Nel settore della valutazione del rischio residui, sono stati sviluppati metodi di conferma avanzati – conformi ai nuovi criteri analitici per l'identificazione dei residui di prossima adozione in sede di Unione Europea – per l'identificazione di numerose sostanze anabolizzanti e di loro metaboliti, quali 17 α OH-19-nortestosterone, testosterone, progesterone, 17- β -estradiolo, di corticosteroidi e di antimicrobici delle classi dei macrolidi, tetracicline, cloramfenicolo, tiamfenicolo, in fluidi biologici e alimenti di origine animale. Sono stati parallelamente sviluppati e validati metodi di screening di moderna concezione, quali saggi elettrochimici ELISA e metodi DELFIA, per la determinazione di sostanze anabolizzanti ad azione estrogena. Sono stati infine condotti studi di residuo su sostanze ad azione antimicrobica del gruppo delle tetracicline in alimenti di origine animale e prodotti di trasformazione. Sono state infine pianificate e avviate le attività di studio per la valutazione dei contenuti fisiologici di sostanze utilizzate per fini anabolizzanti negli atleti e/o negli animali, quali il 17 β OH-19-nortestosterone e il boldenone.

Nell'ambito delle attività relative all'assicurazione della qualità nei laboratori preposti al controllo dei prodotti alimentari, sono proseguite le attività dell'Istituto quale Organismo di Riconoscimento dei Laboratori (ORL) con il completamento del sistema qualità dell'ORL, la pianificazione e l'avvio delle attività di

riconoscimento, che attualmente interessano 62 laboratori; sono state completate le attività di riconoscimento per tre laboratori del Servizio Sanitario Nazionale, che risultano ad oggi riconosciuti dall'ORL dell'Istituto.

Studio sulla trasmissione di contaminanti microbiologici ambientali ad alimenti di origine animale e strategie preventive

Responsabile scientifico

Laura Toti (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

Nel progetto viene preso in esame l'impatto della contaminazione microbiologica su prodotti di origine animale. I principali temi trattati sono:

- studio sulla contaminazione e decontaminazione di alcuni tipi di alimenti (prodotti carnei, mangimi e uova) da parte di batteri patogeni, con particolare riferimento alle salmonelle;
- rilevamento della produzione di sostanze tossiche da parte di batteri autoctoni, in particolare vibrionacee, nei prodotti della pesca;
- studio della trasmissione di agenti virali attraverso gli alimenti mediante tecniche di biologia molecolare.

Sviluppo di metodi diagnostici e presidi immunizzanti innovativi per la prevenzione e il controllo delle infezioni batteriche degli animali

Responsabile scientifico

Rosanna Adone (Laboratorio di Medicina Veterinaria)

Sintesi dell'attività svolta

I risultati hanno riguardato l'uso del test gamma-interferon (γ -IFN) per la diagnosi di brucellosi e hanno indicato la possibilità di utilizzare il nuovo strumento diagnostico per svelare soggetti trattati con *B.abortus* RB51. Ulteriori ricerche su RB51 hanno sviluppato nuovi saggi di identificazione per un riconoscimento ufficiale richiesto dalle autorità sanitarie e giudiziarie. Trattasi infatti di un singolare ceppo vaccinale, in fase-R, adottato in USA, sequestrato in Italia perché importato illegalmente, che non produce anticorpi verso antigeni convenzionali in fase-S, utilizzati per la sorveglianza sierodiagnostica della brucellosi e che, pertanto, ha richiesto lo studio di un antigene omologo (Ag-RB51/ISS) per la reazione di fissazione del complemento capace di monitorare la risposta umorale in soggetti trattati con RB51.

Studi sul profilo delle citochine indotte in topini vaccinati con RB51 hanno dimostrato che l'incremento di IL-12 e IFN- γ è stato inversamente proporzionale alle Unità Formanti Colonia (UFC) rilevate dalle milze, suggerendo un ruolo critico di queste citochine nella clearance dell'infezione.

Studi sulla tipizzazione di ceppi *Bacillus anthracis*, mediante *Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis* hanno evidenziato che 25 ceppi erano identificati come cluster A1 (17 genotipo-1; 5 genotipo-3; 1 genotipo-8 e 2 genotipo-12); il ceppo vaccinale CARBOSAP, come cluster A1 e genotipo-3.

Altre ricerche sono state sviluppate a latere del progetto e hanno interessato la descrizione di isolamenti di *Candida rugosa* da giovani tacchini dopo trattamento terapeutico contro la coccidiosi e studi parassitologici e sierologici relativamente ad un caso di infezione congenita da *Neospora caninum* in un vitello clinicamente sano.

Valutazione dei fattori di rischio correlabili alla presenza di micotossine in alimenti vari con particolare riferimento ai cereali

Responsabile scientifico

Marina Miraglia (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

Lo studio si è proposto di verificare la contaminazione da micotossine di polveri aerodisperse in alcuni ambienti di lavoro, in cui avviene la manipolazione di matrici alimentari suscettibili alla contaminazione

da Aflatossine e Ocratossina A (cacao, caffè e spezie). Inoltre, allo scopo di valutare l'impatto sulla salute umana dovuto alla inalazione delle micotossine considerate, è stato effettuato uno studio parallelo su campioni di siero appartenenti a donatori volontari addetti allo svolgimento di mansioni a rischio nelle aree investigate. Secondo le modalità previste dalla normativa UNI ISO 7708 del 1998 sono stati prelevati 44 campioni di polveri aerodisperse in tre diversi stabilimenti della provincia di Livorno e, contemporaneamente, sono stati prelevati campioni di siero dei lavoratori esposti che, attraverso il consenso informato, hanno aderito alla ricerca in atto. Il lavoro ha previsto la messa a punto di un metodo di analisi per micro-quantità di polvere, che ha previsto l'estrazione in fase organica degli analiti, un processo di purificazione e la determinazione quantitativa attraverso cromatografo liquido ad alta risoluzione (HPLC). Sono stati analizzati in un secondo tempo i sieri raccolti, secondo un metodo analitico già noto e ottimizzato in termini di tempi e di risorse nel corso di questa ricerca. Dallo studio è emerso che le polveri presenti negli ambienti di lavoro indagati sono risultate contaminate da aflatossine e ocratossina A, e che ciò determina un impatto significativo sulla salute umana, come dimostrato dai risultati ottenuti relativamente ai sieri.

Questo studio getta le basi per ulteriori approfondimenti finalizzati al monitoraggio degli ambienti di lavoro, affiancando anche studi di tipo epidemiologico e valutazioni del quadro anamnestico dei lavoratori, così da permettere una univoca correlazione con patologie professionali specifiche.

Valutazione del benessere degli animali da reddito e tutela del consumatore

Responsabile scientifico

Gianfranco Brambilla (Laboratorio di Medicina Veterinaria)

Sintesi dell'attività svolta

L'utilizzo illegale di promotori di crescita in zootecnia causa modificazioni nell'omeostasi degli animali con conseguenti modifiche biochimiche-cliniche e morfo-funzionali, rilevabili sia in allevamento, sia al macello durante la visita *ante mortem* e *post mortem*. Scopo della ricerca è stato quello di identificare gli opportuni parametri biochimico-clinici e morfo-funzionali in grado di evidenziare, in maniera oggettiva, stati di turbata omeostasi, riconducibili ad esposizioni farmacologiche di massa non giustificabili con necessità terapeutiche. Gli studi hanno riguardato:

- la correlazione tra formula leucocitaria, dimensioni del timo, dimensione delle ghiandole surrenali nel bovino da carne e la somministrazione di massa di farmaci antiinfiammatori corticosteroidi, quali agenti permissivi della lipolisi, in combinazione con farmaci beta adrenergico-mimetici;
- la correlazione tra le dimensioni e la numerosità della popolazione delle cellule somatotrope nell'adenoipofisi di bovine da latte e la produzione di latte, per rilevare il feed-back negativo, conseguenza di somministrazioni esogene con ormone somatotropo bovino.

AREA 13 - GARANZIA DELLA QUALITÀ

Nuovi metodi, modelli animali e *ex vivo* per la valutazione dell'immunogenicità e sicurezza dei vaccini

Responsabile scientifico

Graziella Orefici (Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica)

Sintesi dell'attività svolta

Il progetto nasce dalla necessità di riunire e organizzare le attività di ricerca e di assicurazione della qualità nel campo dei vaccini. Sono stati esaminati i seguenti vaccini:

- vaccino antiemofilo: è stato messo a punto un metodo che si basa sulla ultracentrifugazione e sulla determinazione del ribosio per la valutazione quantitativa del polisaccaride libero nel vaccino. Poiché, tuttavia, questo metodo non è applicabile ai nuovi vaccini combinati, si pensa di validare in parallelo un metodo quantitativo HPLC (High Performance Liquid Chromatography);