

**FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA  
DELL'UNIVERSITA' DI NAPOLI FEDERICO II  
DOTTORATO DI RICERCA IN  
"AMBIENTE, PREVENZIONE E MEDICINA PUBBLICA"  
Coordinatore Prof. Claudio Buccelli**

**TESI DI DOTTORATO**

***DEFINIZIONE DEL RISCHIO DA CONTATTO CON ANTIPARASSITARI NON  
ORGANOFOSFORICI NEI GIARDINIERI E NEI VIVAISTI ADIBITI E NON ADIBITI  
DIRETTAMENTE AI TRATTAMENTI DI DISINFESTAZIONE.***

**Dottorando**

**Dr. GIANLUCA MARSEGLIA**

**TUTOR:**

**Prof. UMBERTO CARBONE**

**XXII Ciclo**

**Anno accademico 2008/09**

## INTRODUZIONE

Sono definiti con la denominazione merceologica di “pesticidi” tutti i composti attivi contro i parassiti e gli infestanti delle piante e del terreno.

Il più semplice criterio di classificazione è fondato sulla tipologia dei parassiti antagonizzati dal pesticida. Sono, in questo modo, identificati gli antiparassitari diretti alla disinfestazione da forme animali, che, in rapporto con il grado d'evoluzione delle specie, sono costituiti da:

pesticidi attivi su mesozoi (vermicidi e molluschicidi)

pesticidi attivi su metazoi invertebrati (insetticidi) e vertebrati (rodenticidi, talpicidi).

L'altra categoria è costituita dai pesticidi attivi contro le forme viventi vegetali, nei quali la distinzione è determinata dal grado evolutivo delle forme antagonizzate, potendo, in questo modo, essere distinti gli antiparassitari anticrittogame, cosiddetti fungicidi, e quelli antifanerogame, rappresentati dagli erbicidi o diserbanti.

La quantità maggiore di pesticidi prodotti nel mondo è impiegato nei paesi a maggiore sviluppo tecnologico: il consumo annuale medio è stimato a circa il 40% delle quantità prodotte nel Nord America, al 25% in Europa occidentale, mentre il rimanente è consumato negli altri continenti.

In Italia viene utilizzato circa il 2-3% della produzione mondiale. Negli ultimi anni in Italia il consumo di pesticidi, espresso in quantità impiegata, non è aumentato, ma è aumentato il loro

costo.

In ordine quantitativo d'uso, al primo posto sono collocati i fungicidi, seguiti dagli insetticidi e dagli erbicidi.

Importanti variazioni hanno caratterizzato nel tempo il tipo di antiparassitari utilizzati, sia per l'introduzione di nuovi composti di sintesi, sia per lo sviluppo di resistenze da parte dei parassiti da antagonizzare.

Alcuni esempi di introduzione ed uso di composti di sintesi, dotati di maggiore potere antiparassitario sono rappresentati dalla sostituzione dei vecchi acidi ad azione caustica topica, come l'acido picrico, per i trattamenti diserbanti e dei composti inorganici arsenicali, un tempo utilizzati come insetticidi.

Altre sostituzioni sono state determinate dal riscontro di un'elevata tossicità sistemica di alcuni composti e dalla ridotta o assente biodegradabilità di essi, dalla quale, evidentemente, è derivata la necessità sostitutiva. Per questi motivi si è assistito al progressivo ridimensionamento dell'uso dei composti organoclorati (DDT e derivati), la cui sostituzione

con gli esteri fosforici e i carbammati non ha peraltro, risolto esaustivamente i problemi ecologici ed ha parimenti innalzato la dimensione della tossicità per i lavoratori addetti ai trattamenti.

Gli effetti avversi sull'uomo dei pesticidi dipendono, innanzitutto, dalla natura del prodotto con il quale si è realizzato il contatto. Essi sono notevolmente influenzati dal modo d'uso, che condiziona il tipo di contatto. Generalmente il tipo d'effetto avverso ha analogie con quanto accade nella forma biologica contro la quale il pesticida è diretto(1,2,3). Da questo deriva che la gran parte degli insetticidi ha azione neurotossica, mentre la gran parte dei fungicidi ha effetti avversi determinati dalla denaturazione delle proteine cellulari. Negli organismi superiori, mammiferi ed uomo, sono spesso compresenti effetti d'altra natura, tra i quali prevalgono quelli genotossici ( insetticidi organo clorati) e quelli sensibilizzanti ( terpenici e piretrinici).

I casi di intossicazione da pesticidi denunciati in Italia riguardano, per la maggior parte, agricoltori esposti ad esteri fosforici, ma sono segnalate anche intossicazioni da carbammati, ditiocarbammati ed altri composti. La maggior parte dei casi sono stati segnalati in Emilia, mentre in altre regioni come il Trentino, Alto Adige e l'Abruzzo non sono stati denunciati casi di intossicazione. Ciò probabilmente dipende sia dal fatto che in Emilia ed altre regioni del nord Italia alcune categorie di agricoltori possono avere esposizioni continuative a pesticidi (nelle regioni meridionali l'esposizione è saltuaria) sia dalla mancata denuncia dei casi di intossicazione.

Gli effetti tossici, talvolta letali, degli antiparassitari sull'uomo e sugli altri mammiferi sono generalmente conseguenti all'inalazione dei prodotti nelle occasioni dei trattamenti, soprattutto in ragione del fatto che la quota maggiore di essi avviene per nebulizzazione meccanica. Non si deve, però, tralasciare di considerare anche un possibile assorbimento percutaneo, che si può realizzare sia durante l'allestimento delle soluzioni/sospensione da aspergere, sia durante le operazioni di cura delle piante. La probabilità è notevolmente maggiore quando gli antiparassitari sono naturalmente oleosi o sono sospesi in veicoli grassi, molto utilizzati per favorire l'adesione agli apparati fogliari e ridurre l'idrosoluzione indotta dalla pioggia o dagli innaffiamenti.

Per quanto attiene alla tossicità dei pesticidi, di molti tra essi sono da tempo noti i meccanismi ed i siti d'azione gli intermedi metabolici ed i cataboliti, conoscenze che rendono praticabile, almeno per grandi classi di prodotti, il monitoraggio biologico dell'esposizione e degli effetti. Gli esempi paradigmatici di queste potenzialità diagnostiche sono rappresentati

dagli insetticidi organo fosforici e carbammici. Entrambe le categorie di composti agiscono con meccanismo di neurotossicità diretta, interferendo competitivamente con l'acetilcolina a livello delle terminazioni nervose centrali e periferiche. Le molecole dei pesticidi si legano al sito esterasico dell'acetilcolinesterasi, determinando l'accumulo dell'acetilcolina ed i conseguenti effetti sui sistemi nervosi. La stabilità del blocco acetilcolinesterasico che è funzione della natura chimica dei pesticidi, è direttamente connessa con la gravità della sintomatologia e della prognosi ed inversamente connessa con le possibilità terapeutiche. I composti organo fosforici hanno altissima tossicità proprio in conseguenza dell'alta affinità per l'acetilcolinesterasi e della stabilità del legame, mentre i composti carbammici e tiocarbammici pur agendo con meccanismo d'azione simile sono meno tossici, giacché il legame con l'acetilcolinesterasi è reversibile.(4)

Il dosaggio dell'attività colinesterasica negli eritrociti, la cui inibizione procede in attendibile parallelismo biologico con quanto accade nel sistema nervoso, costituisce un indicatore d'effetto acuto, utilizzabile principalmente nell'esposizione ad insetticidi organofosforici e tiocarbammici (5,6). Problemi tuttora non adeguatamente definiti riguardano la scelta degli indicatori biologici di probabili effetti tossici cronici da organofosforici e carbammati o di quelli indotti da pesticidi di altra natura chimica, da affiancare alla raccolta anamnestica e all'esame clinico (7).

Scopo dello studio è stata la ricerca di un indicatore biologico d'esposizione o effetto in utilizzatori di pesticidi diversi dagli organofosforici e dai carbammati.

## **MATERIALI E METODI**

La ricerca è stata condotta su un campione di giardinieri di una pubblica amministrazione, adibiti ad attività di cura delle piante all'aperto ed alla coltivazione in vivai. Le operazioni effettuate comprendevano le defoliazioni, le potature di rami, gli interri e gli invasi, oltre, ovviamente, ai trattamenti stagionali di disinfestazione.

Dalla valutazione del rischio, eseguita con il metodo non diretto, sono emersi i dati relativi alle quantità medie utilizzate, agli stati d'aggregazione, ai veicoli, ai modi e tempi d'uso, ai tempi di latenza tra irrorazioni e posa in opera delle piante. Da queste valutazioni è emerso che nei due vivai di floricoltura erano utilizzati, in maggiore quantità, gli insetticidi costituiti da olio minerale nelle due varianti di concentrazione d'idrocarburi, i cosiddetti oli bianchi estivo ed invernale, e gli altri antiparassitari di III classe, mentre in piccole quantità e sporadicamente, erano usati anche antiparassitari carbammici, Carbaryl, e fosfo-organici difosfati, Phorate, per il trattamento disinfestante di piante particolarmente parassitate durante

la fase di crescita, soprattutto piante caduche come petunie, surfinie e tegete. Per trattamenti diretti nei giardini erano utilizzati solo antiparassitari di terza classe ed oli minerali. Nei vivai, l'esposizione avveniva tra febbraio e maggio, mentre il probabile contatto nei giardini s'estendeva sino ad ottobre

Le caratteristiche d'allestimento e veicolazione possono essere responsabili della permanenza per tempi lunghi degli antiparassitari sulle parti esposte delle piante (fogli e fusti), che potrebbero per questo rappresentare veri e propri "serbatoi" del possibile assorbimento per cutaneo.

Il campione è stato costituito da 45 lavoratori (40 maschi e 5 femmine), impiegati presso l'amministrazione comunale di Napoli con la mansione di giardiniere o vivaista.

Mediante un questionario mirato sono state raccolte le informazioni sull'uso dei pesticidi, sulle occasioni e sui modi d'esposizione. Dalle risposte è emerso che i pesticidi più utilizzati erano costituiti da olio minerale nelle due varianti di concentrazione di idrocarburi, i cosiddetti olii bianchi estivo ed invernale, ed da altri antiparassitari di III classe. I trattamenti disinfestanti erano concentrati nei soli periodi primaverile ed estivo, ma non sempre erano effettuati con l'uso regolare dei dispositivi di protezione respiratoria e cutanea.

Di tutti i lavoratori osservati più volte durante il periodo della ricerca è stata dosata l'attività colinesterasica eritrocitaria.

Il dosaggio della colinesterasi vera è stato eseguito con un metodo cinetico, su sangue intero trattato con EDTA, avvalendosi della capacità dell'enzima di idrolizzare il substrato, l'acetilcolina, in acido acetico e tiocolina, che a sua volta reagisce con l'acido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzoico(DTNB). Da questa reazione si libera l'acido 5-tio-2-nitrobenzoico, intensamente colorato in giallo. La velocità di formazione del colore è direttamente proporzionale all'attività della colinesterasi (8).

## **RISULTATI**

Il valore medio dell'attività colinesterasica eritrocitaria è stato pari a 3296 U/l, d.s. 1581. Pur essendo stato il valore medio dell'acetilcolinesterasi attestato ad un valore di normalità da un'osservazione più attenta del dato di laboratorio e dalla stratificazione dei risultati per sesso e tipo di attività sono emersi interessanti spunti di valutazione e discussione.

Va innanzitutto, considerato che, il valore medio calcolato e' risultato, ad ogni modo, tendente al basso, certamente inferiore a quello corrispondente alla media tra gli estremi di attendibilità della metodica. Considerando singolarmente i valori misurati nei lavoratori, si e'

potuto notare che nel 15,5% la concentrazione dell'enzima negli eritrociti è stata inferiore al limite di normalità.

La stratificazione per tipo d'attività ha consentito di valutare meglio il probabile effetto dell'esposizione. Nei lavoratori di sesso maschile, adibiti alla mansione di giardiniere e vivaista è stata misurata una concentrazione media dell'acetilcolinestasi eritrocitaria di 3095U/l, d.s.1593 inferiore rispetto a quella riscontrata negli addetti alle potature il cui valore medio è stato pari a 3844U/l d.s. 933, senza significatività statistica. La differenza tra i due comparti lavorativi è stata dimostrata anche dal divario tra il numero di casi nei quali è stata misurata una concentrazione di acetilcolinestasi eritrocitaria inferiore al limite di normalità della metodica, rispettivamente pari a 31,4 % tra i giardinieri vivaisti contro il 20% agli addetti alle potature.

Allo scopo di valutare l'effetto dell'esposizione anche nei termini di esposizione diretta e/o dose espositiva, è stata operata anche una distinzione nel calcolo dei valori medi tra i giardinieri vivaisti direttamente adibiti ai trattamenti, nei quali è ragionevole presumere un'esposizione più continua e diretta, e vivaisti non adibiti ai trattamenti nei quali è ragionevole presumere un'esposizione di minore intensità.

Con questa distinzione è emersa una differenza nelle concentrazioni medie, pari a 3055U/l nei primi, d.s.1747, e pari a 3163 U/l nei secondi d.s.1357, con un delta molto alto delle percentuali di valori inferiori ai limiti tra le due condizioni lavorative, 62,2% nei primi e 30,8% nei secondi.

L'utilizzazione contemporanea di più insetticidi, anche di natura diversa ha ulteriormente ridotto la concentrazione media della colinestasi eritrocitaria rispetto al non uso.

## CONCLUSIONI

Nell'analisi dei risultati bisogna considerare che il campione osservato e' stato costituito da lavoratori stagionali, ufficialmente esposti per soli sei mesi l'anno, pur non potendosi escludere esposizioni in altri periodi anche se non dichiarate per attività svolte in proprio conto o ad altre dipendenze, anche ad altri tipi di pesticidi. Va anche considerato che, pur escludendo esposizioni contemporanee a pesticidi più potenti in rapporto con gli orari di lavoro e i periodi dell'anno della dipendenza, l'uso contemporaneo di più sostanze pone difficoltà nell'attribuire gli effetti all'esposizione ad un singolo composto.

Nonostante queste limitazioni, le differenze nelle medie delle colinesterasi eritrocitarie e nelle percentuali dei valori inferiori ai limiti tra i lavoratori con differenti esposizioni qualitative e quantitative sembrano indicare l'utilità della determinazione dell'attività enzimatica, anche nei casi d'uso di antiparassitari meno noti come acetil colinesterasi inibitori.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Costa LG, Giordano G, Guizzetti M, Vitalone A: "Neurotoxicity of pesticides: a brief review". *Front Biosci*, 2008, Jan 1(13): 1240-9
2. Lu JL: "Risk factors to pesticide exposure and associated health symptoms among cut-flower farmers". *Int J Environ Health Res*. 2005, 15(3): 161-9
3. Ferrer A: "Pesticide poisoning". *Ann Sist Sanit Navar*. 2003, 26 (suppl 1): 155-71
4. Aprea C, Colosio C, Mammone T, et al : "Biological monitoring of pesticide exposure: a review of analytical methods" *JChromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2002 Apr 5; 769(2):191-219
5. Lotti M.: "Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation" *Clin Chem*. 1995 Dec;41(12Pt2):1814-8
6. McDaniel KL, Padilla S; Marshall RS, et al: "Comparison of acute neurobehavioral and cholinesterase inhibitory effects of N-methyl-carbamates in rat". *Toxicol Sci*.2007 Aug;98(2):552-60.Epub 2007 May 15
7. Réndon von Osten J, Epomex C, Tinoco-Ojanguren R et al: "Effect of pesticide exposure on acetylcholinesterase activity in subsistence farmers from Campeche, Mexico" *Arch Environ Health*. 2004 Aug;59(8):418-25
8. Ellman GI, Courtney KD, Andres V & Featherstone RM: "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity" *Biochemical Pharmacology* 7:88-95, 1961