

# Valutazione dell'esposizione a idrocarburi policiclici aromatici in addetti ad opere di asfaltatura autostradale mediante misura di 1-idrossipirene urinario

LAURA CAMPO, R. CALISTI\*, ELISA POLLEDRI, F. BARRETTA, ROBERTA STOPPONI\*, STEFANIA MASSACESTI\*, P.A BERTAZZI, SILVIA FUSTINONI

Dipartimento di Medicina del Lavoro e dell'Ambiente, Università degli Studi di Milano e Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

\* Servizio Prevenzione e Sicurezza negli Ambienti di Lavoro (SPreSAL), ASUR MARCHE – zona territoriale n. 8, Civitanova Marche

## KEY WORDS

Asphalt workers; 1-hydroxypyrene; biological monitoring

## SUMMARY

**«Assessment of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in asphalt workers by measurement of urinary 1-hydroxypyrene».** **Introduction:** Asphalt workers are potentially exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). As some PAHs are classified as carcinogenic, the assessment of occupational exposure to these agents is of the utmost importance in preventing toxic effects. **Objectives:** To assess exposure to PAHs by urinary 1-hydroxypyrene (1-OHPyr). **Methods:** We studied 22 asphalt workers (14 smokers) and 5 control subjects (1 smoker). Multiple samples of urine (up to 4 per subject) were collected at the end of the shift for the measurement of 1-OHPyr by LC-MS/MS. Univariate and multivariate linear models for repeated measurements were used to evaluate the differences between groups and to identify the variables influencing of exposure. **Results:** The median urinary excretion of 1-OHPyr in asphalt workers was low, but higher than that of control subjects (184 vs. <20 ng/L, or 106 vs. <20 ng/g creatinine,  $p < 0.001$ ); cigarette smoking marginally increased 1-OHPyr in smoking asphalt workers in comparison to non-smokers (129 vs. 208 ng/L  $p = 0.09$  or 94 vs. 121 ng/g creatinine,  $p = 0.06$ ). The number of consecutive days at work significantly influenced the urinary excretion of 1-OHPyr [+59% every day, CI: (2, 147),  $p = 0.04$ ]. Subjects using paving machines had the highest exposure. A strong association between 1-OHPyr and urinary creatinine was observed. **Conclusions:** urinary 1-OHPyr is a useful indicator of occupational exposure to low levels of PAHs, such as those found in the subjects studied; in using this biomarker it is recommended to collect urine samples at the end of the working week and to express levels of the biomarker corrected for urinary creatinine.

## RIASSUNTO

**Introduzione:** Gli asfaltatori sono lavoratori potenzialmente esposti a idrocarburi policiclici aromatici (IPA). Dato che alcuni di questi composti sono classificati come cancerogeni la valutazione dell'esposizione lavorativa a tali agenti assume notevole rilevanza per la prevenzione degli effetti tossici. **Obiettivi:** Valutare l'esposizione a IPA attraverso la misura di 1-idrossipirene urinario (1-OHPyr). **Metodi:** Sono stati studiati 22 asfaltatori (14 fumatori) e 5 soggetti di controllo (1 fumatore). Campioni multipli di urina (fino a 4 per soggetto) sono stati raccolti a fine

Pervenuto il 13.9.2011 - Accettato il 14.10.2011

Corrispondenza: Laura Campo, Dipartimento di Medicina del Lavoro "Clinica del lavoro Luigi Devoto", Università di Milano, Via S. Barnaba, 8 20122 Milano - Tel, +39 02 503 20116 - Fax +39 02 503 20111 - E-mail laura.campo@unimi.it

turno per la misura di 1-OHPyr. Per la valutazione delle differenze tra gruppi e l'identificazione dei determinanti dell'esposizione sono stati utilizzati modelli lineari univariati e multivariati per misure ripetute. **Risultati:** L'escrezione mediana di 1-OHPyr negli asfaltatori è risultata bassa, ma superiore a quella dei soggetti di controllo (184 vs. <20 ng/L, o 106 vs. <20 ng/g creatinina,  $p < 0,001$ ); l'abitudine al fumo di sigaretta aumenta marginalmente 1-OHPyr negli asfaltatori fumatori rispetto ai non fumatori (129 vs. 208 ng/L  $p = 0,09$  o 94 vs. 121 ng/g creatinina,  $p = 0,06$ ). Il numero di giornate consecutive al lavoro influenza significativamente l'escrezione di 1-OHPyr [+59% ogni giorno; IC: (2, 147);  $p = 0,04$ ]. I soggetti addetti alla stesa dell'asfalto e alla guida della macchina finitrice presentano l'esposizione più elevata. La creatinina urinaria è risultata fortemente associata con 1-OHPyr. **Conclusioni:** 1-OHPyr è un utile indicatore di esposizione professionale a bassi livelli di IPA, quali quelli riscontrati negli asfaltatori indagati; nell'uso di questo indicatore si raccomanda di effettuare la raccolta delle urine alla fine della settimana lavorativa e di esprimere i livelli dell'indicatore corretti per creatinina urinaria.

## INTRODUZIONE

Il bitume è un materiale semisolido di origine naturale o prodotto dalla distillazione del petrolio. Per le sue proprietà leganti, il bitume è mescolato con materiali inerti come sabbia, pietrisco e vari additivi per produrre l'asfalto utilizzato nelle opere di pavimentazione stradale.

I fumi di bitume sono classificati dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) nel gruppo 3 (evidenze inadeguate di cancerogenicità per l'uomo) e nella classe A4 (non classificabile come cancerogeno per l'uomo) dalla American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) che raccomanda anche un valore limite occupazionale di 0,5 mg/m<sup>3</sup> come media ponderale nel turno lavorativo di 8 ore (TLV-TWA) (1, 14). Tuttavia, recenti studi epidemiologici hanno evidenziato un aumento di mortalità per cancro in asfaltatori e altri lavoratori esposti a bitume, anche se il fumo di tabacco e la possibile co-esposizione a catrame potrebbero aver contribuito a questo risultato (4, 5).

Tra i numerosi componenti del bitume vi sono anche gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), molecole organiche formate da 2 o più anelli aromatici condensati. Oltre ad essere presenti in tracce nel bitume, gli IPA sono inquinanti comuni degli ambienti di vita e di lavoro, dato che si originano dalla combustione incompleta dei materiali organici. Le fonti di esposizione a IPA sono quindi molteplici: industriali, domestiche, naturali, ed in particolare comprendono il fumo di tabacco e i cibi cotti alla

brace o affumicati (14). Alcuni IPA sono stati classificati come inquinanti prioritari dall'Agenzia per la Protezione Ambientale americana (9) e tra questi la IARC ha classificato il benzo[a]pirene come cancerogeno per l'uomo (Gruppo 1) e altri composti come probabili (classe 2A: dibenzo[a,h]antracene), o possibili cancerogeni per l'uomo (classe 2B: naftalene, benzo[a]antracene, benzo[k]fluorantene, benzo[b]fluorantene, benzo[j]fluorantene, crisene e indeno[1,2,3-cd]pirene) (14). L'Unione Europea classifica come cancerogeni sette IPA: benzo[a]pirene, benzo[a]antracene, benzo[k]fluorantene, benzo[j]fluorantene, dibenzo [a,b] antracene, naftalene e indeno[1,2,3-cd]pirene (8). In particolare l'esposizione a IPA è stata associata ad un aumento di rischio di tumore polmonare e vi è un numero crescente di evidenze che indicano anche una associazione con il carcinoma uroteliale (2, 10).

La valutazione dell'esposizione professionale a IPA è quindi di notevole rilevanza e a questo fine il monitoraggio biologico è uno strumento interessante in quanto consente di integrare tutte le vie di esposizione, in particolare quella inalatoria e quella dermica. Per il monitoraggio dell'esposizione a IPA viene utilizzato l'1-idrossipirene urinario (1-OHPyr), metabolita del pirene (16). Il suo utilizzo, nonostante il pirene non sia classificato come cancerogeno, è dovuto al fatto che questo composto si ritrova in tutte le miscele di IPA e le sue proprietà chimico-fisiche lo rendono adatto a rappresentare l'intera classe di composti.

Scopo principale di questo lavoro è stato la valutazione dell'esposizione a IPA, mediante misura di

1-OHPyr, in un gruppo di asfaltatori impiegati nella stesura di asfalto in ambito autostradale. Per questi soggetti sono stati raccolti campioni di urina a fine turno e informazioni relative alle modalità di lavoro e alle abitudini personali per valutare i fattori principali che ne hanno determinato l'esposizione.

## METODI

### Soggetti e raccolta dei campioni

L'indagine è stata effettuata nei mesi di settembre, ottobre e novembre 2010 su soggetti esposti a fumi di bitume durante opere di asfaltatura in cantieri per la realizzazione della terza corsia autostradale lungo la costiera adriatica centrale. Lo studio è stato condotto nell'ambito degli interventi di vigilanza e prevenzione del Servizio Prevenzione e Sicurezza Ambienti di Lavoro (SPreSAL) dell'ASUR MARCHE all'interno del progetto "Grandi Opere Infrastrutturali" della Regione Marche.

Sono stati indagati 22 asfaltatori, tutti di sesso maschile, dipendenti di due aziende. Come gruppo di controllo sono stati indagati 5 soggetti non professionalmente esposti a IPA (personale sanitario e tecnico di aziende locali), tutti di sesso maschile.

Ai lavoratori è stato chiesto di raccogliere un campione estemporaneo di urina a metà del turno lavorativo (intorno alle ore 12.30) dopo circa 5 ore di lavoro. La raccolta dei campioni è avvenuta sul luogo di lavoro, all'interno di un automezzo attrezzato con WC chimico. Ai lavoratori sono stati forniti guanti in lattice monouso allo scopo di limitare il più possibile la contaminazione dei campioni. Un breve questionario per la raccolta di informazioni anagrafiche e lavorative, nonché relative al fumo di tabacco è stato sottoposto da parte del personale sanitario SPreSAL.

Dopo la raccolta i campioni di urina sono stati immediatamente sigillati, collocati in un contenitore refrigerato di trasporto a tenuta termica e consegnati ad un laboratorio locale dove si è provveduto a congelarli a  $-20^{\circ}\text{C}$ . I campioni, sempre mantenendo il congelamento mediante ghiaccio secco, sono stati poi trasportati ad un secondo laboratorio dove è stata effettuata l'analisi.

### Misura di 1-OHPyr

La misura di 1-OHPyr è avvenuta mediante cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa con rivelatore a triplo quadrupolo (LC/MS/MS) accoppiato con sistema di purificazione e analisi. In breve, 1 ml di urina è stato addizionato con 0,5 ml di tampone acetato (0,5 M, pH 5), 10  $\mu\text{l}$  di enzima  $\beta$ -glucuronidasi (tipo H-2 da Helix Pomatia) e 10  $\mu\text{l}$  di standard interno (soluzione 10 mg/L di 1-idrossipirene d9 in metanolo). Dopo l'idrolisi ( $37^{\circ}\text{C}$ , 16 ore), 100  $\mu\text{l}$  di campione sono stati iniettati mediante autocampionatore CTC HTX (Thermo Scientific, Rodano, Italia) nel sistema di purificazione e separazione Aria TLX-1 (Thermo Scientific, Rodano, Italia). Il campione è stato purificato on-line tramite una colonna C8 0,5x50 mm (Thermo Fisher Scientific, Rodano, Italia) e successivamente separato cromatograficamente mediante una colonna analitica Hypersil GOLD 3  $\mu$ , 50x3,00 mm (Thermo Fisher Scientific Rodano, Italia). La rilevazione è avvenuta mediante spettrometria di massa a triplo quadrupolo utilizzando lo spettrometro TSQ Quantum Access (Thermo Scientific, Rodano, Italia) con sorgente H-ESI. L'acquisizione in ionizzazione negativa è avvenuta in Single Reaction Monitoring (SRM), seguendo le transizioni  $m/z$  217 -189 per 1-OHPyr e  $m/z$  226 -198 per 1-idrossipirene d9. Il limite di rilevabilità del metodo (LOD) è 20 ng/L, l'intervallo di linearità è compreso nell'intervallo 20-2000 ng/L. L'accuratezza, verificata su controlli di qualità interni aventi concentrazione 200 e 1500 ng/L, è nell'intervallo 96-99%, la ripetibilità, valutata come coefficiente di variazione percentuale, è inferiore al 10%.

### Misura della creatinina urinaria

La misura della creatinina urinaria (crt) è avvenuta tramite il metodo colorimetrico di Jaffè (18).

### Misura della cotinina urinaria

La cotinina urinaria, metabolita della nicotina, è stata utilizzata come indice biologico di abitudine al fumo di sigaretta. La quantificazione è avvenuta

tramite cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa con rivelatore a triplo quadrupolo, in presenza di cotinina-d3 come standard interno. Il LOD è 10 µg/L. I soggetti con cotinina inferiore a 50 µg/L sono stati classificati come non fumatori, mentre i soggetti con cotinina maggiore o uguale a 50 µg/L sono stati classificati come fumatori (13).

### Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata con il software SPSS 17.0 per Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) e con il software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Un valore corrispondente alla metà del LOD è stato assegnato alle misure al di sotto dello stesso. Dato che alcuni soggetti hanno fornito più di un campione di urina in giornate diverse, è stata calcolata la media geometrica di 1-OHPyr delle misure ripetute di 1-OHPyr come descrittore statistico dell'esposizione individuale.

I livelli di 1-OHPyr sono presentati attraverso i valori della mediana e dei quartili principali, sia come valori espressi in ng/L che come valori corretti per creatinina urinaria (ng/g crt). Per confrontare i gruppi di asfaltatori e controlli e di fumatori e non fumatori (solo entro il gruppo degli asfaltatori) si è utilizzato il logaritmo dei valori di 1-OHPyr all'interno di due modelli lineari univariati. Per tenere in considerazione la correlazione presente tra le osservazioni in giorni successivi sugli stessi soggetti, sono stati utilizzati due modelli per misure ripetute:

$$\ln[1\text{-OHPyr (ng/L o ng/g crt)}] = \beta_0 + \beta_1 \text{ gruppo espositivo} + \varepsilon \quad [1]$$

$$\ln[1\text{-OHPyr (ng/L o ng/g crt)}] = \beta_0 + \beta_1 \text{ abitudine al fumo} + \varepsilon \quad [2]$$

Lo stesso tipo di modello multivariato, è stato costruito per valutare l'effetto di alcune variabili lavorative (numero di giornate consecutive di lavoro, numero di giornate anche non consecutive di lavoro negli ultimi sette giorni, ditta, data di campionamento, mansione) e personali (abitudine al fumo di sigaretta, creatinina urinaria, età) sull'escrezione di 1-OHPyr nel gruppo degli esposti. Nella regressione multipla è stato mantenuto come effetto fisso la variabile del giorno di campionamento come variabile di correzione proxy di quelle meteorologi-

che/ambientali e delle eventuali differenze di metodo di lavoro tra le due aziende dai quali i soggetti provenivano (questo è stato possibile perché i lavoratori delle due ditte che hanno partecipato allo studio sono stati campionati in giorni differenti, come dimostrato dalla forte collinearità tra le variabili ditta e data). I modelli più adatti a descrivere i dati sono risultati:

$$\ln[1\text{-OHPyr (ng/g crt)}] = \beta_0 + \beta_1 \text{ abitudine al fumo} + \beta_2 \text{ giorni consecutivi al lavoro} + \beta_3 \text{ giorno di campionamento} + \beta_4 \text{ mansione} + \varepsilon \quad [3]$$

$$\ln[1\text{-OHPyr (ng/L)}] = \beta_0 + \beta_1 \text{ abitudine al fumo} + \beta_2 \text{ giorni consecutivi al lavoro} + \beta_3 \text{ giorno di campionamento} + \beta_4 \text{ mansione} + \beta_5 \text{ creatinina} + \varepsilon \quad [4]$$

Tutti gli assunti del modello sono stati opportunamente verificati. Per le singole variabili indipendenti i risultati sono espressi come percentuale di aumento dell'escrezione di 1-OHPyr (intervallo di confidenza IC 95%) e significatività. Un valore di  $p \leq 0,05$  è stato considerato significativo.

## RISULTATI

### Soggetti e raccolta dei campioni

Le caratteristiche dei soggetti indagati sono riportate in tabella 1. Gli asfaltatori avevano un'età media di 40 anni (minimo 25 - massimo 54). Tredici soggetti hanno dichiarato di essere fumatori, con un consumo medio dichiarato di 11 sigarette/giorno, ma sulla base dell'escrezione di cotinina urinaria un ulteriore soggetto è stato riconosciuto come fumatore, per cui in totale quattordici soggetti (64%) sono stati classificati come fumatori, con un'escrezione mediana di cotinina urinaria pari a 823 (70-1409) µg/L. I soggetti utilizzati come gruppo di controllo avevano un'età media di 46 anni (32-53); solo un soggetto è risultato fumatore (20 sigarette/giorno, cotinina urinaria 322 µg/L).

Alcuni soggetti hanno partecipato allo studio in più giornate non consecutive fornendo quindi più campioni di urina, per un totale di 45 campioni raccolti per gli asfaltatori e 10 campioni raccolti per i controlli. In particolare, 10 asfaltatori e 2 controlli hanno fornito 1 campione, 5 asfaltatori e 2 control-

**Tabella 1** - Caratteristiche dei soggetti indagati e concentrazioni urinarie di 1-OHPyr  
*Table 1* - Summary of characteristics of study subjects and urinary 1-OHPyr

	Statistica	Asfaltatori	Controlli
Soggetti	N	22	5
Campioni raccolti	n	45	10
Età	media (min-max)	40 (25-54)	46 (32-53)
Fumatori <sup>a</sup>	N; %	14; 64	1; 20
Cotina urinaria nei fumatori µg/L	mediana (min-max)	823 (70-1409)	322
Giorni consecutivi al lavoro prima del campionamento	media (min-max)	2,2 (1-4)	-
Giorni di lavoro negli ultimi 7 giorni	media (min-max)	4,0 (1-5)	-
1-OHPyr (ng/l) tutti	mediana (5°-95°) N>LOD; %	184 (57-372) <sup>b</sup> 22; 100	<20 (<20-53) 2; 40
non fumatori	mediana (5°-95°) N>LOD; %	129 (55-231) <sup>c</sup> 8; 100	<20 (<20-53) 1; 25
fumatori	mediana (5°-95°) N>LOD; %	208 (79-417) 14; 100	20 1; 100
1-OHPyr (ng/g crt) tutti	mediana (5°-95°)	106 (47-247) <sup>b</sup>	<20 (<20-29)
non fumatori	mediana (5°-95°)	94 (43-149) <sup>d</sup>	<20 (<20-29)
fumatori	mediana (5°-95°)	121 (59-317)	<20

N = numero di soggetti; n = numero di campioni; <sup>a</sup> = classificati sulla base della cotinina urinaria; <sup>b</sup> = p<0,001 per il confronto asfaltatori vs. controlli; <sup>c</sup> = p=0,09 per il confronto fumatori vs. non fumatori; <sup>d</sup> = p=0,06 per il confronto fumatori vs. non fumatori; LOD= limite di rivelabilità

li 2 campioni, 3 asfaltatori e nessun controllo 3 campioni, mentre 4 asfaltatori e 1 controllo hanno fornito 4 campioni.

Dall'analisi dei questionari è risultato che in media gli asfaltatori avevano svolto attività di asfaltatura per 4 giorni (1-5) anche non consecutivi negli ultimi 7 giorni, mentre le giornate consecutive di lavoro con esposizione a fumi di bitume sono risultate in media 2,2 (1-4). Tutte le attività di asfaltatura sono state effettuate in tratti autostradali extraurbani tra la costa adriatica e la prima fila di colline retrostanti, in assenza di gallerie e di luoghi angusti, mentre continuava il normale traffico autoveicolare in entrambi i sensi di marcia, seppure con carreggiata ristretta laddove i lavori erano in corso e pertanto su velocità ridotte.

Nella zona e nella fascia oraria dei prelievi, la temperatura media risultava di 20°C a settembre, 19°C ad ottobre e 12°C a novembre, l'umidità me-

dia risultava del 60% a settembre, del 76% ad ottobre e del 65% a novembre, la velocità media del vento risultava di 5 Km/h a settembre ed ottobre e di 10 Km/h a novembre.

Durante lo studio è stato steso un manto di asfalto drenante, la cui composizione differisce da quella degli asfalti ordinari solo per la tipologia degli inerti (che in questo caso sono di natura basaltica anziché calcarea). La temperatura di stesa del conglomerato era compresa tra 140° e 180°C. La produzione giornaliera delle imprese impegnate nei lavori di asfaltatura era di circa 2000 metri in lunghezza per 7,90 metri in larghezza (corrispondenti a due corsie di marcia).

Ciascuna squadra di asfaltatori comprendeva tre tipologie di mansioni: addetti alla livellatura del piano di asfaltatura attraverso l'utilizzo della macchina finitrice e manualmente con la pala, stando dietro alla macchina e in fianco di essa (9 soggetti),

conducenti di macchina finitrice (n=5), conducenti di rullo compattatore (n=4). La squadra degli asfaltatori era supportata anche da conducenti di camion per lo spargimento di carbonato di calcio (n=4).

Nessuno degli operai ha usato dispositivi di protezione individuale respiratoria o cutanea; nel mese di settembre essi indossavano calzoni corti a metà coscia e giubbotti ad alta visibilità senza maniche, in seguito normali abiti coprenti.

### Misura di 1-OHPyr e analisi di regressione

I risultati della misura di 1-OHPyr sono riportati in tabella 1. La concentrazione mediana di 1-OHPyr negli asfaltatori è risultata pari a 184 ng/L (106 ng/g crt), mentre nei soggetti di controllo è risultata inferiore a 20 ng/L (<20 ng/g crt). Il confronto tra il gruppo degli asfaltatori e quello dei controlli effettuato con il modello di regressione [1] ha evidenziato una differenza significativa nei livelli di 1-OHPyr [(+651%, IC: 353, 1145%, p<0,001 per 1-OHPyr (ng/L) e +645%, IC: 337, 1171%, p<0,001 per 1-OHPyr (ng/g crt)].

Tra gli asfaltatori i livelli di 1-OHPyr nei fumatori sono risultati più alti che nei non fumatori (208 vs. 129 ng/L; 121 vs. 94 ng/g crt). Il confronto tra questi due gruppi, effettuato con il modello di regressione [2] ha mostrato una marginale significatività statistica che conferma una maggior esposizione a IPA per i fumatori [+49%, IC: -6, +137%, p=0,09 per 1-OHPyr (ng/L) e +59%, IC: -2, +159%, p=0,06 per 1-OHPyr (ng/g crt)].

Concentrazioni mediane pari a 102, 231, 235 e 201 ng/L (ovvero 61, 141, 176 e 113 ng/g crt) sono state misurate negli asfaltatori che avevano lavorato per 1, 2, 3 o 4 giorni consecutivi (tabella 2).

In tabella 3 sono riportati i risultati dell'analisi di regressione multipla. Tra le variabili esplicative considerate nel modello multivariato, il valore dell'escrezione urinaria di 1-OHPyr (ng/g crt) è risultato associato in modo statisticamente significativo all'abitudine al fumo (+53%, CI 3, 127%, p=0,04), al numero di giornate consecutive di lavoro (+59% ogni giorno, CI 2, 147, p=0,04) e alla mansione svolta (+99%, CI: 18, 238%, p=0,01 per gli addetti alla stesa di asfalto posizionati dietro o di fianco alla macchina finitrice e +116%, CI: 18, 294%, p=0,02 per i conducenti della macchina finitrice, entrambi rispetto agli addetti allo spargimento del carbonato, nessuna differenza tra questi ultimi e i conducenti del rullo compattatore). Risultati analoghi si sono ottenuti utilizzando i valori di 1-OHPyr non corretto per creatinina quale misura dell'esposizione. In questo caso il modello di regressione ha indicato anche una forte associazione tra 1-OHPyr ed escrezione di creatinina urinaria (p<0,0001).

### DISCUSSIONE

L'esposizione a IPA che si verifica in attività di asfaltatura è di alcuni ordini di grandezza inferiore rispetto a quella di altre attività lavorative quali la cokeria e la produzione di alluminio (14) tuttavia merita di essere approfondita data la cancerogenicità di alcuni di questi composti.

Nonostante 1-OHPyr sia utilizzato ormai da diversi anni per il monitoraggio biologico dell'esposizione a IPA in contesti sia lavorativi che ambientali, non sono stati ancora stabiliti degli indici biologici di esposizione e al momento ci sono solo alcu-

**Tabella 2** - Concentrazioni urinarie di 1-OHPyr negli asfaltatori divisi per giornate consecutive di lavoro  
*Table 2* - Urinary 1-OHPyr in asphalt workers divided according to the number of consecutive working days

Statistica		N° giornate di lavoro consecutive			
		1	2	3	4
1-OHPyr (ng/l)	mediana (5°-95°)	102 (79-158)	231 (118-277)	235 (101-527)	201 (165-265)
	n	9	23	8	5
1-OHPyr (ng/g crt)	mediana (5°-95°)	61 (56-103)	141 (100-187)	176 (93-281)	113 (107-231)
	n	9	23	8	5

n = numero di campioni

**Tabella 3** - Analisi di regressione multipla per la valutazione dei fattori determinanti 1-OHPyr  
*Table 3* - Multiple linear regression analysis to evaluate the variables influencing 1-OHPyr

Parametri		1-OHPyr ng/L				1-OHPyr ng/g crt			
		Estimate	SE	p	IC 95%	Estimate	SE	p	IC 95%
	Costante	15,48	(1,64)			27,77	(1,57)	<0,0001	
Variabili lavorative	Giornate consecutive di lavoro	1,52	(1,25)	0,08	5 142	1,59	(1,24)	0,04	2 147
	Data di campionamento								
	9	0,59	(1,36)	0,10	-69 11	0,54	(1,34)	0,04	-70 2
	8	0,86	(1,23)	0,48	-44 32	0,79	(1,20)	0,21	-45 15
	7	0,44	(1,71)	0,13	-86 32	0,38	(1,66)	0,07	-86 7
	6	0,64	(1,69)	0,40	-79 87	0,63	(1,62)	0,35	-77 69
	5	0,96	(1,36)	0,90	-49 80	0,95	(1,31)	0,86	-45 65
	4	0,83	(1,44)	0,61	-61 73	0,72	(1,40)	0,32	-64 41
	3	0,75	(1,42)	0,42	-64 55	0,67	(1,40)	0,24	-67 33
	2	0,87	(1,42)	0,69	-58 79	0,84	(1,38)	0,59	-56 61
	1 (ref)	-		-		-		-	-
	Mansione dietro/ di fianco macchina finitrice	1,88	(1,27)	0,02	12 215	1,99	(1,28)	0,01	18 238
	conducente macchina finitrice	2,06	(1,32)	0,02	14 272	2,16	(1,33)	0,02	18 294
	conducente rullo	0,96	(1,40)	0,91	-52 92	1,00	(1,38)	0,99	-49 94
	conducente camion (ref)	-		-		-		-	-
Abitudini personali	Fumo fumatore	1,46	(1,21)	0,06	-2 117	1,53	(1,21)	0,04	3 127
	Non fumatore (ref)	-		-		-		-	-
Caratteristiche personali	creatinina (g/L)	1,99	(1,17)	<0,0001	44 174	-		-	-

ne proposte di valori limite in specifiche attività industriali quali la cokeria e la produzione di alluminio (17) o proposte di valori guida (22, 26). La commissione per i BEI dell'ACGIH, in un documento ancora in bozza, suggerisce che un valore di 1-OHPyr superiore a 1 µg/L sia indicatore di esposizione professionale a IPA; mancano peraltro informazioni riguardo a quale rischio per la salute sia associato a tale ordine di esposizione (14). La difficoltà nel definire un valore limite biologico va-

lido per tutte le situazioni espositive deriva dal fatto che gli IPA sono sempre presenti come una miscela, la cui composizione, comprendente decine di differenti molecole, dipende da diverse variabili tra cui il tipo di processo produttivo e la condizioni in cui questo viene condotto. La misura di 1-OHPyr è quindi un surrogato per la valutazione dell'esposizione alla miscela di IPA in toto, con particolare attenzione al benzo[a]pirene, composto a maggiore potere cancerogeno.

Nel presente studio nessuno dei soggetti indagati ha mostrato valori di 1-OHPyr superiori ai diversi limiti proposti e neppure ai valori di riferimento indicati per la popolazione generale italiana, pari a 470-7300 (5°-95° percentile) ng/L (23). Tuttavia, i pur bassi livelli di 1-OHPyr trovati negli asfaltatori sono risultati circa un ordine di grandezza superiore a quelli trovati nei controlli, evidenziando quindi una esposizione professionale a IPA; di conseguenza questi risultati suggeriscono la necessità per questi lavoratori di adottare misure di prevenzione specifica.

Tra i fattori confondenti la misura di 1-OHPyr vi è l'abitudine al fumo di sigaretta che costituisce una fonte di esposizione non occupazionale a IPA (14). I valori di 1-OHPyr negli asfaltatori fumatori sono infatti risultati più elevati dei soggetti non fumatori (208 vs. 129 ng/L; 121 vs. 94 ng/g crt), confermando risultati precedentemente riportati in altri studi (7, 12, 27).

L'utilizzo di un modello di regressione multipla ha consentito di indagare l'influenza di alcuni determinanti dell'esposizione sull'escrezione di 1-OHPyr nell'attività dell'asfaltatura. In particolare si è voluto verificare l'ipotesi di un accumulo di questo metabolita, considerando sia il numero di giornate consecutive di lavoro sia il numero di giornate di lavoro anche non consecutive negli ultimi sette giorni. I risultati hanno mostrato che 1-OHPyr viene accumulato e l'escrezione cresce all'aumentare del numero di giornate di lavoro consecutive. Risultati simili erano stati riportati anche in studi precedenti, in cui era stata osservata un aumento di 1-OHPyr durante la settimana lavorativa (7, 19, 24). Queste osservazioni sono in accordo con una cinetica di eliminazione relativamente lenta di 1-OHPyr, per il quale è stata calcolata una emivita di circa 13 ore (range 4-48 ore) (6, 15, 24). Un altro fattore che concorre all'accumulo di 1-OHPyr è l'esposizione cutanea che, nel caso specifico degli asfaltatori, concorrere alla dose interna in maniera uguale o addirittura superiore alla esposizione inalatoria (11, 19, 25). Tale evidenza è coerente con quanto avviene in altri comparti, quale ad esempio quello della gomma o della cokeria (29, 30). Tutto questo considerando, i nostri risultati supportano l'indicazione di misurare l'esposizione a IPA trami-

te misura di 1-OHPyr in campioni di urina raccolti alla fine della settimana lavorativa o dopo almeno 2 giorni consecutivi di lavoro.

La mansione lavorativa è risultata un altro fattore determinante l'escrezione di 1-OHPyr, con una maggiore esposizione per i lavoratori addetti alla posa di asfalto attraverso l'utilizzo della macchina finitrice. Tale risultato, in accordo con altri autori (20, 24), è probabilmente dovuto al fatto che gli addetti alla posa di asfalto lavorano a più diretto contatto con il materiale posato a caldo.

I risultati di 1-OHPyr in questa indagine sono stati valutati sia esprimendoli in µg/L oppure come valori corretti per creatinina. Nel caso di introduzione della creatinina come variabile indipendente nel modello di correlazione multipla (3) è stato osservato che essa spiega in modo molto significativo l'escrezione di 1-OHPyr. Questo risultato suggerisce quindi che la correzione per creatinina è da considerarsi adeguata per la valutazione dei valori di 1-OHPyr.

I livelli mediani di 1-OHPyr (184 ng/L o 106 ng/g crt) misurati negli asfaltatori in questo studio sono risultati inferiori a quelli riportati in recenti indagini svolte sia in Italia che in Europa. In ambito italiano, valori mediani pari a 690 ng/L sono stati riportati in uno studio svolto in ambito urbano nel 2006 nelle province di Milano e Lodi su 100 asfaltatori (7), mentre valori mediani compresi nell'intervallo 0,17-0,65 µg/g crt sono stati riportati in uno studio che ha coinvolto circa 200 asfaltatori negli anni 2007-2008 (12). Valori simili (mediana 419 ng/L per i non fumatori e 793 ng/L per i fumatori) sono stati riportati in uno studio tedesco che ha visto coinvolti 432 asfaltatori negli anni 2001-2008 (21). I livelli più bassi di 1-OHPyr misurati in questo studio rispetto agli studi precedenti indicano una minore esposizione nei soggetti indagati che può essere stata determinata da condizioni lavorative più favorevoli quali la minore temperatura di stesa del bitume, o minore entità della superficie asfaltata per giornata lavorativa, e/o a condizioni atmosferiche che hanno favorito la dispersione degli inquinanti e/o a migliori misure igieniche personali (alcuni lavoratori hanno effettuato una doccia immediatamente dopo la fine del turno o poco più tardi).

Nonostante la contenuta esposizione lavorativa, appare ragionevole proporre l'adozione di alcune misure atte a contenere ulteriormente l'esposizione di questi lavoratori. Tra queste vi sono il frequente ricambio degli abiti e delle calzature da lavoro imbrattati, un'adeguata disponibilità di acqua e detersivi per lavarsi le mani in cantiere (ad esempio, prima di bere e assumere cibi) e la sistematica sottoposizione a una doccia completa di pulizia a fine turno. Tali precauzioni infatti riducono in misura importante l'assorbimento cutaneo di IPA (28). L'adozione di dispositivi di protezione individuale respiratoria e cutanea appare invece poco praticabile, stante la necessità di non aumentare lo sforzo respiratorio e di agevolare la termodispersione attraverso la pelle, in quanto l'asfaltatura stradale è un'attività svolta con macchinari e materiali caldi, nonché prevalentemente nella stagione calda.

Si evidenzia che almeno alcune delle misure suddette hanno maggiore probabilità di essere davvero realizzate soltanto se i lavoratori per primi divengono consapevoli dei fattori di rischio a cui sono esposti nello svolgere le proprie mansioni e di quali possono essere le conseguenze di tali esposizioni sulla loro salute. Interventi di educazione sanitaria mirata e continua, nei quali siano previsti spazi sufficienti per un'adeguata informazione e comunicazione del rischio, ma anche per approfondimenti sui fattori da adottare sia durante il lavoro che nella vita di tutti i giorni (astensione dal fumo di sigaretta, adozione di stili alimentari e di vita sani) possono aiutare i lavoratori ad intraprendere un percorso motivato verso comportamenti utili per la propria ed altrui salute, con possibili ricadute positive anche ai fini della diffusione di una cultura della prevenzione.

In conclusione, i risultati di questo studio mostrano che 1-OHPyr è un utile indicatore di esposizione professionale a bassi livelli di IPA, quali quelli riscontrati negli asfaltatori indagati; nell'uso di questo indicatore nella sorveglianza sanitaria si raccomanda di effettuare la raccolta delle urine alla fine della settimana lavorativa e di esprimere i livelli dell'indicatore corretti per creatinina urinaria.

NO POTENTIAL CONFLICT OF INTEREST RELEVANT TO THIS ARTICLE WAS REPORTED

## BIBLIOGRAFIA

1. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 2010. TLVs and BEIs based on the documentation of the Threshold Limit Values for chemical substances and physical agents & Biological Exposure Indices. Cincinnati: ACGIH, 2010
2. Bakkar AA, Allory Y, Iwatsubo Y, et al: Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons influenced neither the frequency nor the spectrum of FGFR3 mutations in bladder urothelial carcinoma. *Mol Carcinog* 2010; *49*: 25-31
3. Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, et al: Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ Health Perspect* 2005; *113*: 192-200
4. Boffetta P, Burstyn I, Partanen T, et al: Cancer mortality among European asphalt workers: An international Epidemiological study. I. Results of the analysis based on job titles. *Am J Ind Med* 2003; *43*: 18-27
5. Boffetta P, Burstyn I, Partanen T, et al: Cancer mortality among European asphalt workers: An international Epidemiological study. II. Exposure to bitumen fume and other agents. *Am J Ind Med* 2003; *43*: 28-39
6. Brandt HCA, Watson WP: Monitoring human occupational and environmental exposures to polycyclic aromatic compounds. *Ann Occup Hyg* 2003; *47*: 349-378
7. Campo L, Buratti M, Fustinoni S, et al: Evaluation of exposure to PAHs in asphalt workers by environmental and biological monitoring. *Ann N Y Acad Sci* 2006; *1076*: 405-420
8. European Commission (2008): Regulation (EC) no 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labeling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006. Official Journal of the European Union, 2008, L353:1-1355. disponibile on line all'indirizzo: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:353:0001:1355:EN:PDF> (ultimo accesso il 27-7-2011)
9. EPA, U.S. Environmental Protection Agency. List of priority pollutants, Code of Federal Regulations 40 CFR 401.15. disponibile on line all'indirizzo: <http://water.epa.gov/scitech/swguidance/methods/pollutants.cfm> (ultimo accesso il 16-12-2010)
10. Figueroa JD, Malats N, Garcia-Closas M, et al: Ladder cancer risk and genetic variation in AKR1C3 and other metabolizing genes. *Carcinogenesis* 2008; *29*: 1955-62
11. Fustinoni S, Campo L, Cirila PE, et al: Dermal exposu-

- re to polycyclic aromatic hydrocarbons in asphalt workers. *Occup Environ Med* 2010; *67*: 456-463
12. Garattini S, Sarnico M, Benvenuti A, Barbieri PG: Monitoraggio biologico dell'esposizione ad idrocarburi policiclici aromatici in un gruppo di asfaltatori. *Med Lav* 2010; *101*: 110-117
  13. Haufroid V, Lison D: Urinary cotinine as a tobacco-smoke exposure index: a minireview. *Int Arch Occup Environ Health* 1998; *71*: 162-168
  14. International Agency for Research on Cancer: Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related industrial exposures. Lyon: IARC, 2010 (IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans no 92)
  15. Jacob J, Seidel A: Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine. *J Chromatogr B* 2002; *778*: 31-47
  16. Jongeneelen FJ, Anzion RBM, Scheepers PTJ, et al: 1-Hydroxypyrene in urine as a biological indicator of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in several work environments. *Ann Occup Hyg* 1988; *32*: 35-43
  17. Jongeneelen FJ: Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ann Occup Hyg* 2001; *45*: 3-13
  18. Kroll MH, Chesler R, Hagenbruger C, et al: Automated determination of urinary creatinine without sample dilution: theory and practice. *Clin Chem* 1986; *32*: 446-52
  19. McClean MD, Rinehart RD, Ngo L, et al: Urinary 1-hydroxypyrene and polycyclic aromatic hydrocarbon exposure among asphalt paving workers. *Ann Occup Hyg* 2004; *48*: 565-578
  20. McClean MD, Rinehart RD, Ngo L, et al: Inhalation and dermal exposure among asphalt paving workers. *Ann Occup Hyg* 2004; *48*: 663-671
  21. Pesch B, Spickenheuer A, Kendzia B, et al: Urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in workers exposed to vapours and aerosols of bitumen. *Arch Toxicol* 2011; *85* (suppl 1): 29-39
  22. Preuss R, Rossbach B, Wilhelm M, et al: External and internal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) among workers in the production of fire-proof materials-Proposal of a biological monitoring guidance value. *Int J Hyg Environ Health* 2006; *209*: 575-580
  23. Sciarra G: Valori di riferimento ambientali e biologici degli idrocarburi policiclici aromatici. *G Ital Med Lav Erg* 2003; *25*: 83-93
  24. Sobus JR, McClean MD, Herrick RF, et al: Investigation of PAH biomarkers in the urine of workers exposed to hot asphalt. *Ann Occup Hyg* 2009; *53*: 551-560
  25. Sobus JR, McClean MD, Herrick RF, et al: Comparing urinary biomarkers of airborne and dermal exposure to polycyclic aromatic compounds in asphalt-exposed workers. *Ann Occup Hyg* 2009; *53*: 561-571
  26. Unwin J, Cocker J, Scobbie E, Chambers H: An assessment of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in the UK. *Ann Occup Hyg* 2006; *50*: 395-403
  27. Väänänen V, Hämeilä M, Kontsas H, et al: Air concentrations and urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons among paving and remixing workers. *J Environ Monit* 2003; *5*: 739-746
  28. Van Rooij JGM, Bodelier-Bade MM, Hopmans PM, Jongeneelen FJ: Reduction of urinary 1-hydroxypyrene excretion in coke-oven workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons due to improved hygienic skin protective measures. *J Occup Hyg* 1944; *38*: 247-256
  29. Van Rooij JGM, Bodelier-Bade MM, Jongeneelen FJ: Estimation of individual dermal and respiratory uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons in 12 coke oven workers. *Br J Ind Med* 1993; *50*: 623-632
  30. Vermeulen R, Heideman J, Bos RP, Kromhout H: Identification of dermal exposure pathways in the rubber manufacturing industry. *Ann Occup Hyg* 2000; *44*: 533-541

RINGRAZIAMENTI: *Si ringrazia per la preziosa collaborazione l'ing. Raffaele Ricco coordinatore per la sicurezza nella fase di esecuzione dei lavori per conto di SPEA/AUTOSTRADE PER L'ITALIA. Si ringraziano anche i tecnici della prevenzione Maria Cristina Astuti e Riccardo Spandre, dello SPRESAL ASUR MARCHE zona territoriale n. 8, per il contributo alla raccolta dei dati.*