



Notiziario

dell'Istituto Superiore di Sanità



**Analisi
delle complicanze
della malattia celiaca
in età adulta**

**L'Istituto Superiore
di Sanità in alcune
Mostre-Convegno**



**La valutazione
tossicologica
delle sostanze
aromatizzanti:
l'approccio
dell'Unione Europea**

Comportamenti a rischio e malessere sociale: i risultati dell'indagine tra gli studenti delle scuole medie superiori di Ostia, Roma

Indagine di un'estesa epidemia di Epatite virale A (HAV) in Campania, gennaio-giugno 2004



Inserto BEN

**Bollettino
Epidemiologico Nazionale**

**Volume 17
Numero 6
Giugno 2004**

ISSN 0394-9303

Sommario

Gli articoli

Analisi delle complicanze della malattia celiaca in età adulta	3
La valutazione tossicologica delle sostanze aromatizzanti: l'approccio dell'Unione Europea	11

Le rubriche

"Visto... si stampi"	8
"News"	
L'Istituto Superiore di Sanità in alcune Mostre-Convegno	10
"Nello specchio della stampa"	17

Bollettino Epidemiologico Nazionale (Inserito BEN)

Comportamenti a rischio e malessere sociale: i risultati dell'indagine tra gli studenti delle scuole medie superiori di Ostia, Roma	i
Indagine di un'estesa epidemia di Epatite virale A (HAV) in Campania, gennaio-giugno 2004	iii

L'Istituto Superiore di Sanità

è il principale ente di ricerca italiano per la tutela della salute pubblica.
È organo tecnico-scientifico del Servizio Sanitario Nazionale e svolge attività di ricerca, sperimentazione, controllo, consulenza, documentazione e formazione in materia di salute pubblica.
L'organizzazione tecnico-scientifica dell'Istituto si articola in
Dipartimenti, Centri nazionali e Servizi tecnico-scientifici

Dipartimenti

Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria
Biologia Cellulare e Neuroscienze
Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare
Farmaco
Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate
Sanità Alimentare ed Animale
Tecnologie e Salute

Centri nazionali

Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute
Centro nazionale per la Qualità degli Alimenti e per i Rischi Alimentari
Centro Nazionale Trapianti

Servizi tecnico-scientifici

Servizio Biologico e per la Gestione della Sperimentazione Animale
Servizio Informatico, Documentazione, Biblioteca ed Attività Editoriali

Direttore responsabile: Enrico Garaci
Redattore capo: Paola De Castro
Redazione: Carla Faralli, Anna Maria Rossi, Giovanna Morini
Progetto grafico: Eugenio Morassi
Illustrazioni: Massimo Delle Femmine
Impaginazione e grafici: Giovanna Morini
Fotografia: Antonio Sesta
Distribuzione: Patrizia Mochi
Versione online (www.iss.it/notiziario):
Simona Deodati, Giovanna Morini

Istituto Superiore di Sanità
Presidente: Enrico Garaci - *Direttore generale:* Sergio Licheri
Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma
Tel. 0649901 - **Fax** 0649387118
e-Mail: notiziario@iss.it - **Sito Web:** www.iss.it
Telex 610071 ISTSAN I
Telegr. ISTISAN - 00161 Roma
Iscritto al n. 475/88 del 16 settembre 1988.
Registro Stampa Tribunale di Roma
© Istituto Superiore di Sanità 2004
Numero chiuso in redazione il 22 giugno 2004
Stampa: Tipografia Facciotti s.r.l. - Roma

Analisi delle complicanze della malattia celiaca in età adulta

Massimo De Vincenzi, Marco Silano e i Centri collaboranti*

Dipartimento di Sanità Alimentare ed Animale, ISS

Riassunto - L'obiettivo di questo lavoro è valutare come la presentazione clinica della malattia celiaca sia cambiata in Italia dopo l'introduzione dei test sierologici nel 1993. Venti centri clinici hanno raccolto le informazioni dal 1982 fino al 2002 su 1968 pazienti di età superiore ai 18 anni diagnosticati celiaci. I risultati mostrano che l'incidenza dei casi atipici o silenti è incrementata con la disponibilità dei test sierologici che hanno permesso una diagnosi e un trattamento precoci. Questo lavoro fornisce una visione sull'evoluzione delle manifestazioni cliniche della malattia celiaca in Italia negli ultimi venti anni. I risultati sottolineano l'importanza di una diagnosi tempestiva della malattia celiaca.

Parole chiave: malattia celiaca, complicanze, test sierologici

Summary (*Analysis of complications of coeliac disease in adulthood*) - The aim of this work is to assess how the clinical features of celiac disease (CD) have changed in Italy after the widespread introduction of serologic tests in 1993. Twenty Italian Clinical Centers collected information from 1982 until 2002 on 1968 patients over 18 years of age diagnosed with celiac disease. The results show that the incidence of atypical and silent cases of celiac disease has increased after the wider availability of serological tests, which has allowed earlier diagnosis and treatment. This paper provides a view on the evolution of the clinical features of CD in Italy over two decades. These findings underline the importance of a timely diagnosis of CD.

Key words: coeliac disease, complications, serological tests

mbpsegr@iss.it

La celiachia è una malattia permanente da malassorbimento dovuta a un'intolleranza alla gliadina, proteina contenuta nel glutine, che è presente in molti cereali (frumento, segale, orzo), che si manifesta in individui predisposti geneticamente; infatti è stata dimostrata una forte associazione tra la celiachia e specifici loci del sistema HLA (DQ2 e DQ8) (1): l'espressione delle molecole HLA-DQ2 o HLA-DQ8 è necessaria, ma non sufficiente, per sviluppare la patologia.

La prevalenza di questa malattia attualmente è di circa lo 0,5-1% tra la popolazione caucasica; di solito viene diagnosticata durante l'infanzia ma negli ultimi anni, in seguito al notevole incremento dei test sierologici, è ormai evidente che la celiachia

è una condizione patologica molto comune, spesso silente, con un ampio e vario spettro clinico: infatti è aumentata notevolmente la percentuale di adulti diagnosticati. Tali pazienti possono andare incontro a complicanze specifiche, alcune particolarmente gravi: infatti la costante attivazione del sistema immunitario e, in particolare, dei linfociti presenti nella mucosa intestinale, protraendosi nel tempo in seguito alla stimolazione antigenica (gliadina), sembra predisporre all'insorgenza dei linfomi.

Nella sua forma "tipica" la celiachia è caratterizzata da evidenti manifestazioni cliniche riferibili al tratto gastrointestinale (diarrea, meteorismo, dolori addominali, ecc.) e da segni di malnutrizione (calo ponderale, magrezza, deficit di crescita, ecc.) e ciò la rende facilmente diagnosticabile. Tut-

“
La celiachia è una patologia molto comune ma spesso silente
”



tavia, in molti casi, il danno della mucosa intestinale è responsabile solo di disturbi gastrointestinali lievi: queste sono le forme subcliniche la cui frequenza di diagnosi è aumentata negli ultimi anni grazie alla disponibilità di pratici test sierologici a elevata sensibilità e specificità e a una maggiore sensibilizzazione da parte dei medici.

La terapia consiste nella dieta rigorosamente priva di glutine. Molto importanti sono la diagnosi accurata, la corretta informazione sull'irreversibilità dell'intolleranza e l'impossibilità ad "abituare" il paziente ad assumere gradualmente glutine. Se la dieta priva di glutine viene rigorosamente rispettata, il rischio che le alterazioni della parete intestinale possano degenerare in senso neoplastico sarà sensibilmente ridotto.

In questo studio abbiamo descritto il *pattern* clinico alla diagnosi e le patologie concomitanti di 1968 pazienti celiaci adulti, diagnosticati dopo i 18 anni d'età in Italia. Questa è la più ampia casistica di pazienti celiaci adulti mai descritta.

Gli obiettivi di questo studio sono: determinare la prevalenza delle complicanze della celiachia in età adulta (in particolare, dei linfomi gastrointestinali non-Hodgkin - NHL), di valutare eventuali cambiamenti del quadro clinico dei pazienti vista la maggior diffusione e accessibilità dei test sierologici (avvenuta in Italia nel 1993) e di fornire una fonte attendibile di dati utilizzabili per studi specifici relativi a particolari aspetti della patologia e per l'aggiornamento e la sensibilizzazione degli operatori sanitari verso le problematiche correlate alla celiachia.

METODI

Venti centri clinici italiani specializzati nella diagnosi e nel follow-up della celiachia, coordinati dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), hanno messo a disposizione informazioni cliniche relative a pazienti celiaci: in questo studio sono stati valutati esclusivamente i pazienti diagnosticati con età maggiore di 18 anni. La diagnosi di celiachia è stata accettata solo in presenza di evidenza istologica di atrofia della mucosa intestinale, associata al recupero alla biopsia di controllo dopo una dieta priva di glutine e alla positività ai test sierologici (ESPGHAN *criteria*).

Dopo aver ottenuto il consenso informato dai pazienti, i centri hanno inviato una scheda per ogni paziente con dati anagrafici e clinici: tutti i dati sono stati inseriti in una base di dati e tutte le variabili cliniche (prima e dopo il 1993) sono state analizzate statisticamente mediante il t-test di Student e il Chi-quadrato, con il contributo di Maria Antonia Stazi del Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute e di Massimo D'Archivio.

Al fine di stimare il rischio di una patologia successiva alla diagnosi (in funzione della data di diagnosi, prima e dopo il 1993, del sesso, dell'età, e dei sintomi alla diagnosi), è stato applicato un modello di regressione logistica multinomiale ai pazienti che non avevano patologie concomitanti alla diagnosi, i quali sono stati seguiti retrospettivamente fino all'entrata in questo studio.

RISULTATI

Sono stati reclutati 3003 pazienti, e di questi, 1968 sono stati ritenuti idonei per far parte di questo studio (il principale motivo di esclusione è stata la diagnosi avvenuta prima dei 18 anni di età). I risultati riportati nel presente lavoro confermano dati presenti in letteratura (2) evidenziando la notevole variabilità dell'espressione clinica della celiachia in una popolazione adulta: circa il 66% dei pazienti arruolati mostrava due o più sintomi alla diagnosi, mentre il 76,4% presentava almeno un sintomo.

L'età media alla diagnosi era $36,7 \pm 13,8$ anni, senza differenze statisticamente significative nei pazienti diagnosticati prima e dopo il 1993. Il 75,4% dei pazienti erano donne e il 24,6% erano uomini, come del resto atteso da dati di letteratura: questo rapporto tra uomini e donne non cambiava prima e dopo il 1993. Percentuali più alte di pazienti sono

“
Test sierologici
consentono la diagnosi
di celiachia anche
in forme subcliniche
”

state diagnosticate per entrambi i sessi nel gruppo con età alla diagnosi tra 18 e 30 anni: non ci sono variazioni in base all'anno di diagnosi.

La percentuale dei pazienti, che hanno indicato "sintomi" come motivazioni che hanno portato alla diagnosi di celiachia, diminuiva significativamente dopo il 1993 (82% *vs* 76%), nonostante rimanga ancora la causa principale di diagnosi. Dopo il 1993 abbiamo osservato un incremento dei pazienti diagnosticati in quanto parenti di pazienti celiaci (6,0% *vs* 11%), aumento dovuto probabilmente alla maggiore sensibilizzazione dei familiari relativamente a questa patologia.

La maggior parte dei pazienti presenta i classici sintomi gastrointestinali (Tabella 1) come diarrea (50,3%), dolori addominali ricorrenti (14,7%) e stomatite aftosa (10,5%). È stato trovato un significativo decremento ($p < 0,0001$) della percentuale della diarrea nei pazienti diagnosticati dopo il 1993 (43,3%) rispetto a quelli diagnosticati prima del 1993 (58,4%).

Molti studi in diversi Paesi hanno dimostrato che negli ultimi anni c'è una riduzione nella percentuale di

celiaci che presentano diarrea, come confermato dai nostri risultati. Questo evidenzia che i pazienti diagnosticati dopo il 1993 hanno una forma più lieve di celiachia, o comunque un miglior quadro clinico; questo è sicuramente dovuto alla maggiore sensibilizzazione degli operatori medici e quindi a una più corretta informazione nei riguardi dei pazienti celiaci, i quali sono più rigorosi, rispetto agli anni precedenti, nel seguire una dieta priva di glutine. Questo risultato è anche dovuto alla maggiore disponibilità e all'ampia diffusione di alimenti privi di glutine nelle grosse catene di distribuzione alimentare. Il miglior quadro clinico dei pazienti diagnosticati dopo il 1993 è anche dimostrato da una significativa diminuzione della percentuale dei pazienti

che presentavano un calo ponderale (21,5% *vs* 40,2% prima del 1993) e da un significativo aumento dei pazienti asintomatici (11,9 *vs* 7,9), come mostrato nella Tabella 1, ove sono elencati i principali sintomi extraintestinali. I più rappresentati sono anemia (47,6%), calo ponderale (30,2%) e osteoporosi (7,4%). È stato trovato un significativo incremento di anemia (41,9% *vs* 52,5%) e osteoporosi (5,1% *vs*

I pazienti celiaci sono oggi più attenti nel seguire una dieta priva di glutine

Tabella 1 - Prevalenza (%) dei principali sintomi alla diagnosi

Sintomi	Totale (n. = 1968)		Prima del 1993 (n. = 915)		Dopo il 1993 (n. = 1053)		Prevalenza
	n.	%	n.	%	n.	%	
<i>Gastro-intestinali</i>							
Diarrea	990	50,3	534	58,4	456	43,3	0,00
Dolori addominali	289	14,7	150	16,4	139	13,2	0,05
Stomatite aftosa	207	10,5	85	9,3	122	11,6	0,10
Dispepsia	98	4,9	46	5,3	52	4,9	0,76
Vomito	56	2,8	30	3,3	26	2,5	0,28
Stipsi	56	2,8	16	1,7	40	3,8	0,01
Non specificato	98	4,9	49	5,4	49	4,7	0,48
<i>Extra-intestinali</i>							
Anemia	936	47,6	383	41,9	553	52,5	0,00
Perdita di peso	594	30,2	368	40,2	226	21,5	0,00
Osteoporosi	145	7,4	47	5,1	98	9,3	0,00
Ipertransaminasemia	82	4,2	18	2,0	64	6,1	0,00
Dismenorrea	52	2,6	16	1,7	36	3,4	0,00
Artralgia	45	2,3	24	2,6	21	2,0	0,35
Aborti ricorrenti	43	2,2	20	2,2	23	2,2	1,00
Ipoprotidemia/edema	39	2,0	30	3,3	9	0,9	0,00
Ipoplasia dentale	33	1,7	16	1,7	17	1,6	0,82
Anoressia	33	1,7	19	2,1	14	1,3	0,20
Ipocalcemia	19	1,0	10	1,1	9	0,9	0,60
Alopecia	19	1,0	7	0,8	12	1,1	0,40
<i>Asintomatici</i>	193	9,8	72	7,9	121	11,5	0,01

9,3%) nei pazienti diagnosticati dopo il 1993; ciò potrebbe essere dovuto al fatto che negli ultimi anni si è accertata la stretta associazione tra questi due sintomi extraintestinali e la celiachia, e quindi pazienti con anemia e/o osteoporosi sono stati più frequentemente sottoposti ad accertamenti per la celiachia.

Altri sintomi presenti in percentuali più basse includono: ipoprotidemia, dismenorrea, ipoplasia dello smalto dentario, anoressia, ipertransaminasemia e aborti spontanei.

Le principali patologie concomitanti alla diagnosi (Tabella 2), sono le patologie autoimmuni (dermatite erpetiforme, diabete di tipo I, tireopatie e altre patologie); da notare la presenza già alla diagnosi di neoplasie maligne (2,0%), delle quali ben 18 (0,9%) erano rappresentate dagli NHL gastrointestinali. Confrontando il tasso di incidenza annuo degli NHL gastrointestinali nei 1968 pazienti celiaci con quello della popolazione generale (3) abbiamo riscontrato un aumentato rischio relativo nei pazienti celiaci di 3,3 volte (95% IC = 1,8-5,7).

È interessante notare che alcuni studi precedenti avevano trovato fattori di rischio significativamente più alti (4); sebbene il diverso *background* genetico e ambientale possa giustificare in parte la notevole variazione di questi risultati, ci sono altri due fattori che vanno presi in considerazione: 1) la più ampia casistica del nostro studio; 2) gli studi precedenti sono stati effettuati prima dell'introduzione su larga scala dei test sierologici, non prendendo quindi in considerazione molti casi "silenti" di celiachia: questo ha ovviamente prodotto una sovrastima del rischio.

I nostri dati confermano quindi che il rischio di sviluppare NHL gastrointestinali è significativamente più alto nei pazienti celiaci rispetto alla popolazione generale; tra le cause di questa forte associazione sono state ipotizzate:



- l'aumentata permeabilità intestinale a carcinogeni ambientali;
- la cronica stimolazione antigenica;
- il rilascio di citochine proinfiammatorie e deficienze nutrizionali dovute alla celiachia (5).

Tra i 1968 pazienti adulti, 254 (12,9%) mostravano patologie concomitanti come causa che aveva condotto alla diagnosi. L'esclusione di questi 254 pazienti ci ha consentito di fare un'analisi sui rimanenti 1714 casi; mediante la regressione logistica multinomiale abbiamo calcolato il rischio di sviluppare patologie concomitanti (autoimmuni, gastrointestinali o altre) dopo la diagnosi, in funzione del sesso e dell'età. Una diagnosi tardiva rappresenta un fattore di rischio per sviluppare qualsiasi patologia successiva; inoltre, è stato osservato un trend positivo del rischio di sviluppare patologie autoimmuni in base all'età alla diagnosi (18-30 anni, OR = 1; 31-45 anni, OR = 2,4; > 46 anni, OR = 3,5).

Come suggerito da precedenti lavori, ma ancora oggetto di ampie discussioni, i nostri dati indicano che le patologie autoimmuni sono associate alla malattia celiaca (MC) e che la loro prevalenza aumenta notevolmente all'aumentare dell'età alla diagnosi.

Tabella 2 - Prevalenza delle malattie concomitanti

Malattie concomitanti	Totale (n. = 1968)		Prima del 1993 (n. = 915)		Dopo il 1993 (n. = 1053)		Prevalenza
	n.	%	n.	%	n.	%	
Atopia	98	5,0	39	4,3	59	5,6	ns
Dermatite di Dering	161	8,2	75	8,2	86	8,2	ns
Intolleranza al lattosio	76	3,9	32	3,5	44	4,2	ns
Tiroiditi	62	3,2	17	1,9	45	4,3	0,0003
IDDM*	61	3,1	41	4,5	20	1,9	0,0015
Tiroiditi autoimmuni	55	2,8	14	1,5	41	3,9	0,002
Neoplasie	40	2,0	23	2,5	17	1,6	ns
Epilessia	34	1,7	10	1,1	23	2,2	ns

(*) Diabete mellito insulino-dipendente (I tipo)

L'associazione tra MC e patologie autoimmuni può essere associata alla presenza di un comune *background* genetico, come il *locus* HLA, che può predisporre alcune persone alla MC e alle patologie autoimmuni. È stato ipotizzato che nei pazienti celiaci non diagnosticati o non trattati, la continua esposizione al glutine può predisporli al successivo sviluppo di altre patologie, in particolare autoimmuni; così è plausibile che una continuata assunzione di glutine con la dieta, successiva a una ritardata diagnosi di celiachia, conduca a un maggiore sviluppo di patologie concomitanti.

Questi dati suggeriscono un ruolo protettivo di una dieta priva di glutine contro lo sviluppo di altre patologie autoimmuni dopo la diagnosi, e rimarca l'importanza di una precoce diagnosi di MC.

Le donne hanno un rischio (non significativo) più alto (1,4%) di sviluppare patologie autoimmuni dopo la diagnosi, mentre è più basso quello di sviluppare patologie gastrointestinali e altre patologie.

Come atteso, la presenza di sintomi gastrointestinali alla diagnosi è un fattore di rischio per lo sviluppo di altre patologie gastrointestinali dopo la diagnosi (OR = 4,3, 95% IC = 1,0-19,1).

Inoltre, abbiamo osservato un'associazione negativa tra i pazienti che indicavano "familiarità"

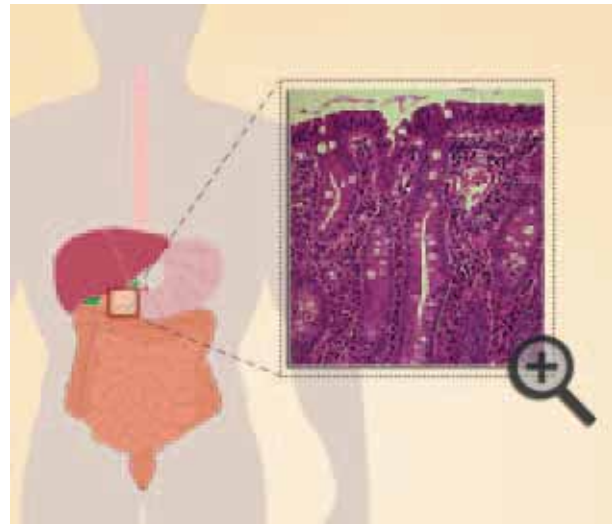
come motivazione che portava alla diagnosi e allo sviluppo di patologie autoimmuni dopo la diagnosi (OR = 0,4, 95% IC = 0,2-1,1). Il fatto che pazienti celiaci, con altri casi di celiachia in famiglia, abbiano un rischio più basso di sviluppare patologie autoimmuni dopo la diagnosi potrebbe essere spiegato dal fatto che essi sono più informati riguardo la malattia e le relative complicanze, e quindi sono più attenti alla dieta priva di glutine e di conseguenza presentano un miglior quadro clinico.

CONCLUSIONI

L'introduzione di test sierologici su larga scala, insieme a una più diffusa informazione, ha mostrato un leggero miglioramento del quadro clinico dei pazienti; ciò può essere dovuto a una maggiore attenzione dei pazienti alla dieta e a forme "silenti" di celiachia più facilmente riscontrabili.

Il quadro clinico risulta essere estremamente vario e ampio nei pazienti adulti, soprattutto se confrontato con quello dei bambini.

Una diagnosi precoce diminuisce il rischio di sviluppare altre patologie dopo la diagnosi, dato rilevante soprattutto per l'alta incidenza, in questi pazienti, di linfomi gastrointestinali.



È quindi di estrema importanza la costante e corretta informazione da parte degli operatori sanitari verso i pazienti.

Riferimenti bibliografici

1. Abdulkarim AS, Murray JA. Review article: the diagnosis of celiac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:987-95.
2. Bode S, Gudmand-Hoyer E. Symptoms and haematologic features in consecutive adult coeliac patients. *Scand J Gastroenterol* 1996;31(1):54-60.
3. Gurney KA, Cartwright, Gilman EA. Descriptive epidemiology of gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma in a population-based registry. *British Journal of Cancer* 1999;79(11/12):1929-34.
4. Sigurgeirsson B, Agnarsson B, Lindelof B. Risk of lymphoma in patients with dermatitis herpetiformis. *BMJ* 1994; 308:13-5.
5. Key T. Micronutrients and cancer aetiology: the epidemiological evidence. *Proc Nutr Soc* 1994;53:605-14.

(*) *Centri collaboranti*: Cattedra di Medicina Interna II, Università Cattolica del "Sacro Cuore" Roma; Dipartimento di Pediatria, Università degli Studi "Federico II", Napoli; Ospedale per gli Infermi di Faenza, ASL, Ravenna; Istituto "Giannina Gaslini", Pediatria III, Genova; Cattedra di Gastroenterologia, Università degli Studi "Torino"; Unità di Gastroenterologia, Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Policlinico "S. Matteo", Pavia; Divisione I di Medicina Interna, Ospedale "S. Eugenio", Roma; Dipartimento di Medicina Interna, Policlinico "S. Orsola-Malpighi", Bologna; Servizio di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale ASL 9, Treviso; Divisione di Gastroenterologia, Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo (Foggia); Clinica di Gastroenterologia ed Epatologia, Università degli Studi, Perugia; Unità Operativa di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese; Servizio di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale "S. Giovanni", Torino; Istituto di Clinica Medica II, Università degli Studi "La Sapienza", Roma; Divisione di Gastroenterologia, Ospedale Mauriziano "Umberto I", Torino; Unità Operativa di Gastroenterologia, Policlinico "Careggi" Firenze; Clinica Pediatrica, Università degli Studi "La Sapienza", Roma; Istituto di Medicina Interna, Università degli Studi, Cagliari; Divisione di Gastroenterologia, Ospedale Regionale, Bolzano; Servizio di Gastroenterologia Pediatrica e Servizio di Gastroenterologia, Università degli Studi, Modena

Visto... si stampi

A cura di Paola De Castro

Settore Attività Editoriali, ISS

In questa rubrica sono annunciate tutte le pubblicazioni edite direttamente da questo Istituto, accessibili online in full-text e su supporto cartaceo. Per informazioni consultate la pagina: www.iss.it/pubblicazioni e per richieste specifiche scrivete a: pubblicazioni@iss.it



Annali

Annali dell'Istituto Superiore di Sanità

Volume 40, n. 2, 2004

Sezione I

Biostatistical and ethological approaches for the promotion of welfare of laboratory animals and quality of experimental data - A cura di Maria Puopolo, Augusto Vitale and Giovanni Laviola

Introductory keynote. The state of the art in animal experimentation - Enrico Alleva and Maria Luisa Scattoni

Biostatistical tools to promote the 3R rule

Biostatistical approaches to reducing the number of animals used in biomedical research - Maria Puopolo

Detecting assumption violations in mixed-model analysis of variance - Flavia Chiarotti

Accounting for historical information in designing experiments: the Bayesian approach - Fulvio De Santis and Marco Perone Pacifico

Creating a biologically suitable housing for laboratory animals

Environmental enrichment techniques in non-human primates. The case of the Callitrichids - Augusto Vitale and Arianna Manciocco

Health promoting factors and animal welfare - Maria Livia Terranova and Giovanni Laviola

Ethological and methodological considerations on the use of newborn rodents in biomedical research - Gemma Calamandrei

Rules of good practice in the care of laboratory animals used in biomedical research - Angelina Valanzano

Ethical and practical considerations for the refinement of experimental protocols

Animal experimentation in Italy. Legislation and the authorisation of research protocols - Gianluca Panzini and Rodolfo Nello Lorenzini

Non invasive techniques for analysing hormonal indicators of stress - Armelle Queyras and Monica Carosi

Refinement of pain evaluation techniques. The formalin test - Francesca Capone and Anna Maria Aloisi

Refining learning and memory assessment in laboratory rodents. An ethological perspective - Igor Branchi and Laura Ricceri

Refinement techniques in experimental protocols involving Callitrichids - Augusto Vitale and Emanuele Licata

Metabolic and cardiovascular disorders in highly inbred pig lines used for intensive farming: how animal welfare evaluation could improve the basic knowledge of human obesity - Gianfranco Brambilla and Alfredo Cantafora

Sezione II

Ricerche e metodologie

Un'esperienza di educazione alla salute per i giovani della scuola media superiore - Laura Camoni, Anna Colucci e Roberta Lombardi

Mesotelioma pleurico ed esposizione ambientale a fibre minerali: il caso di un'area rurale in Basilicata - Roberto Pasetto, Biagio Bruni, Caterina Bruno, Gabriella Cauzillo, Domenica Cavone, Luca Convertini, Barbara De Mei, Achille Marconi, Giuseppe Montagano, Marina Musti, Luigi Paoletti e Pietro Comba

Risk assessment of external events in nuclear facilities - Antonia Rogani and Eugenio Tabet

Recensioni, commenti e segnalazioni/book reviews, notes and comments - A cura di Federica Napolitani Cheyne

Pubblicazioni dell'OMS / WHO publications - A cura di Anna Maria Rossi

Rapporti

Rapporti ISTISAN 04/01

**Approccio metodologico
multidisciplinare allo studio degli effetti
neurocomportamentali
associati all'esposizione
al campo magnetico a 50 Hz.**

Nicola Vanacore, Marta Benedetti, Domenico Conte,
Paola De Nardo, Edito Fabrizio, Andrea Giovani,
Fabriziomaria Gobba, Aldo Isidori, Federica Lorenzi,
Elisabetta Massimi, Carlo Mastrocola, Giuseppe Meco,
Isabella Napolitani, Maurizio Nordio, Roberta Pacifici,
Alessandro Polichetti, Umberto Raucci,
Luigi Tubani, Pietro Comba
2004, 63 p.

Obiettivo del presente rapporto è mettere a punto una metodologia atta a studiare i disturbi neurocomportamentali segnalati da soggetti residenti in prossimità di linee e installazioni elettriche, attraverso un approccio basato sia sulla valutazione dei dati soggettivi, sia sull'esame di alcuni parametri immunitari, endocrinologici e cardiologici. Indicazioni che suggeriscono la possibilità di questo tipo di effetti sono riportati nella letteratura internazionale, anche se non vi è tuttora un consenso nella comunità scientifica sull'esistenza di questi fenomeni e sulla loro entità. Il rapporto è integrato da un questionario anamnestico messo a punto da un'unità operativa nonché dalle indicazioni relative a sette strumenti già pubblicati e validati dei quali viene raccomandato l'utilizzo. È ora opportuno saggiare questa metodologia sul campo, in relazione ad ambiti territoriali nei quali si concentrino livelli di esposizione dell'ordine di unità di μT . Il passaggio dallo studio di casi singoli a indagini epidemiologiche sul campo comporta la stesura di protocolli nei quali siano affrontate le questioni connesse, oltre che con la qualità del dato, con la validità dello studio in termini di assenza di distorsioni, controllo del confondimento e consapevolezza del peso della variabilità casuale in relazione alla numerosità dei soggetti studiati. La messa a punto di adeguati protocolli epidemiologici sarà oggetto di una seconda fase del lavoro dell'unità operativa.

comba@iss.it

Rapporti ISTISAN 04/02

**Studio *in vitro* e *in vivo* della biointegrazione
di impianti dentali.**

Rossella Bedini, Pietro Ioppolo, Perla Filippini,
Valentina Nastasi, Salvatore Caiazza, Alessandra Bianco,
Emanuela Ortolani, Pierluigi Barra
2004, 30 p.

In questo lavoro è stata eseguita la valutazione *in vitro* delle prestazioni meccaniche a fatica di impianti dentali, e la valutazione della risposta tissutale, *in vivo*, nel ca-

so di inserimento degli impianti in osso, in associazione a fattori di crescita. Inizialmente il lavoro ha previsto la comparazione delle prestazioni meccaniche a fatica di impianti diffusamente utilizzati nella pratica clinica, e di impianti di ultima generazione (SLA, Sandblasted Large-grid and Acid-etched). È seguita un'indagine ultrastrutturale volta ad individuare eventuali alterazioni della struttura superficiale degli impianti testati. Gli impianti SLA sono stati inseriti in osso di femore di coniglio in associazione a fattori di crescita. Il grado di osteointegrazione raggiunto dagli impianti SLA, dopo un periodo di 12 giorni, è stato valutato eseguendo prove meccaniche di trazione, successive osservazioni al SEM (Scanning Electron Microscope) e un'analisi istologica. Dai risultati ottenuti emerge che l'utilizzo dei fattori di crescita incrementa la rigenerazione ossea, che favorisce la stabilità primaria, impedendo la mobilizzazione dell'impianto, risultato alla base di un successo a lungo termine della terapia implantare.

allessor@iss.it

Supplemento al Notiziario

**Aggiornamento dei casi di AIDS
notificati in Italia al 31 dicembre 2003.**

A cura di
Roberta Urciuoli, Stefano Boros,
Debora Lepore e Catia Valdarchi
Vol. 17, n. 4 (Supplemento 1)
2004, 20 p.

Contiene informazioni e dati sulla distribuzione temporale e geografica dei casi di AIDS notificati in Italia, le caratteristiche demografiche (distribuzione dei casi di AIDS per fasce d'età e sesso), le modalità di trasmissione (per anno di diagnosi e categoria di esposizione), le patologie indicative di AIDS, i casi pediatrici, il trattamento terapeutico precedente la diagnosi di AIDS. Dal 1982 a dicembre 2003 sono stati notificati 52 836 casi di AIDS, di cui 867 nell'ultimo semestre. Del totale dei casi diagnosticati il 77,7% erano di sesso maschile, l'1,4% in età pediatrica. In totale 33 774 (64,3%) pazienti risultano deceduti. L'età mediana alla diagnosi dei casi adulti, sia maschi che femmine, mostra un aumento nel tempo. L'andamento dei tassi d'incidenza per anno di diagnosi mostra un incremento dei casi fino al 1995, seguita da una diminuzione nel 1996 continuata fino al 2001, mentre nel 2002 il numero dei casi diagnosticati sembra stabilizzarsi. Inoltre, si nota un aumento della proporzione dei casi attribuibili alla trasmissione sessuale e una diminuzione di quella delle altre modalità di trasmissione. Solo il 34,9% dei malati ha fatto uso di terapie antiretrovirali. Il documento è disponibile *online* e su richiesta.



catia.valdarchi@iss.it

L'Istituto Superiore di Sanità in alcune Mostre-Convegno

Da alcuni anni l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) partecipa con un proprio stand espositivo ad alcune importanti manifestazioni nazionali con lo scopo di promuovere e diffondere le attività svolte a tutela della salute pubblica. L'attività di promozione dell'ISS si inserisce nel più ampio disegno della Pubblica Amministrazione di creare un nuovo modo di comunicare tra le varie realtà istituzionali e il cittadino, promuovendo importanti occasioni di confronto.

Nella prima parte del 2004, l'ISS ha partecipato a tre importanti manifestazioni.

Il personale del Settore Attività Editoriali dell'ISS, presente presso gli stand espositivi, è stato particolarmente attento nel favorire il contatto con l'utenza e nel rendere partecipi i visitatori delle varie attività istituzionali. Percorsi espositivi dedicati hanno presentato al grande pubblico i risultati raggiunti e le ricerche in corso. Aree di incontro hanno facilitato i colloqui e gli scambi di idee. Queste occasioni hanno rappresentato un fondamentale momento di confronto, verifica, aggiornamento e formazione per tutti gli operatori sanitari e per il comune cittadino.

Il SANIT - Mostra-Convegno sui Servizi Sanitari - ha inaugurato a Roma, dall'11 al 13 febbraio, la sua prima edizione. Oltre 5000 persone hanno visitato lo stand dell'Istituto, ricevendo informazioni, consultando e ottenendo pubblicazioni e altro materiale divul-

gativo, dialogando con gli espositori e consultando il sito web istituzionale da una postazione dedicata.

Il secondo appuntamento dell'anno è stato con la quarta edizione del Forum Sanità Futura, svoltosi a Villa Erba (Cernobbio) dal 5 all'8 aprile, sotto la direzione scientifica del Ministero della Salute. La manifestazione si è confermata come il più qualificato appuntamento nazionale in tema di ricerca e salute con la presenza di tutti i protagonisti della realtà sanitaria. Un ampio stand espositivo ha offerto alle migliaia di visitatori presenti un'interessante vetrina delle attuali attività dell'Istituto. Pannelli realizzati *ad hoc* hanno illustrato la nuova organizzazione strutturale dell'Istituto e una particolare sezione dello stand è stata dedicata alla ricorrenza, nel 2004, dei 70 anni dell'Istituto. Nella sezione convegnistica, alla quale sono intervenuti il Presidente e il Direttore Generale dell'Istituto, si è svolto un interessante confronto e dibattito sul futuro della sanità, sulle tematiche della ricerca, comunicazione, formazione e eccellenza in campo sanitario.

Dal 10 al 14 maggio l'ISS è stato presente alla quindicesima edizione del Forum PA, la grande vetrina dedicata al cambiamento e all'innovazione nella Pubblica Amministrazione. Con 51 000 visitatori, 120 tra convegni, seminari, workshop e tavole rotonde, Forum PA rappresenta oggi una delle più importanti manifestazioni del settore, il punto di incontro tra amministrazione, cittadini e imprese. Essa è stata la prima manifestazione a ospitare uno stand dell'ISS, nel 1998, e da allora la sua presenza si è rinnovata in tutte le successive edizioni. Lo stand espositivo, situato nel padiglione "Sanità", ha presentato un panorama delle principali attività svolte, con un'ampia offerta di materiale divulgativo e di pubblicazioni specializzate.

Dall'esperienza maturata in questa prima parte del 2004, unita a quella delle precedenti edizioni, le Mostre-Convegno si configurano quali momenti d'incontro altamente qualificati e rappresentano un naturale complemento alle attività dell'ISS, confermando il ruolo di istituzione "aperta" alla comunicazione nel settore della sanità pubblica.

Anna Maria Rossi, *Settore Attività Editoriali*





Studi dal territorio

COMPORAMENTI A RISCHIO E MALESSERE SOCIALE: I RISULTATI DELL'INDAGINE TRA GLI STUDENTI DELLE SCUOLE MEDIE SUPERIORI DI OSTIA, ROMA

**Yllka Kodra¹, Silvia Colitti¹, Alberto Perra¹,
Antonino Bella¹ e Anna Rita Bellomo²**
per il Gruppo Epidemiologia in Azione 2004*

¹Centro Nazionale di Epidemiologia,
Sorveglianza e Promozione della Salute, ISS

²Azienda USL Roma D

L'adolescenza è vista come un periodo di salute ottimale con bassi livelli di morbosità e malattie croniche (1). Tuttavia suicidio, depressione e altre condizioni di salute mentale, AIDS e malattie sessualmente trasmissibili, malattie legate a comportamenti a rischio minano questa percezione di prevalenza di buona salute durante l'adolescenza (2).

Convenzionalmente, per indicare i livelli di salute si fa ricorso a statistiche nazionali su mortalità e morbidità, entrambi importanti per la determinazione della salute nella popolazione, ma non sempre rappresentativi del periodo adolescenziale (3). Si rende necessario individuare alcuni indicatori più validi per analizzare e comprendere lo stato di salute dei giovani, ad esempio, avvalendosi di indicatori soggettivi, derivanti direttamente dalla percezione dei giovani. Questo approccio studia la salute così come viene intesa dagli stessi adolescenti, permettendo di identificarne le conseguenze comportamentali oggettive.

Con tale obiettivo, la ASL Roma D e l'Istituto Superiore di Sanità hanno realizzato un'indagine tra i giovani del penultimo anno delle scuole medie superiori di Ostia, per studiare la percezione del loro livello

(*) Gruppo Epidemiologia in Azione 2004: M. Antonietta Atzori, Salvatore Avorio, Fulvio Barizzone, Caterina Bellu, Carla Bietta, M. Elena Careddu, Patrizia Carletti, R. Maria Cecconi, Antonella Ciani Passeri, Lucio De Angelis, Mariangela De Curtis, Pina De Curtis, Giovanna De Giacomi, Piroos Fathe Moghadam, Maria Ferrara, Maurizio Ferri, Antonietta Fiorita, Linda Gallo, Lucio Ghio, Marcella Longo, Livia Malandrucchio, Matteo Molino, Tina Moretto, Pasquangela Porqueddu, Giovanna Rossi, Marcello Sala, Pierangelo Sarchi, Francesco Sconza e Massimo Trinito

di salute fisica ed emotiva ed eventuali associazioni con comportamenti a rischio, riguardanti fumo, alcol, uso di sostanze stupefacenti, attività sessuale.

L'obiettivo dell'indagine è identificare temi e modalità per interventi a tutela della salute nella popolazione scolastica.

Per stimare lo stato di salute fisica ed emotiva percepita, lo studio ha incluso 5 domande utilizzate nell'Health Behaviour in School-aged Children - HBSC (3) che l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) realizza periodicamente in 36 Paesi. A ogni risposta è stato assegnato un punteggio (Tabella 1). Sulla base dei diversi livelli di percezione di salute fisica ed emotiva calcolata sommando i punteggi delle risposte, abbiamo identificato tre categorie "a rischio di malessere o disagio sociale":

- basso rischio (0-1);
- medio rischio (2-3);
- alto rischio (4-5).

Per definire i comportamenti a rischio su fumo, alcol, sostanze stupefacenti e comportamenti sessuali, sono state utilizzate le definizioni operative dell'OMS e degli United States Centers for Disease Control and Prevention. In fase di analisi si sono testate le associazioni tra comportamenti a rischio e i diversi livelli di rischio di malessere o disagio.

Utilizzando il metodo di campionamento a *cluster* (4) sono state selezionate 15 classi di 45 appartenenti alle 13 scuole medie superiori. Il 78% degli studenti selezionati ha risposto al questionario standardizzato auto compilato (260 su 331 totali). Del restante 22% (71 su 331) il 19% risultava assente il giorno dell'indagine, mentre il 3% aveva smesso di frequentare le lezioni.

Il rapporto tra maschi e femmine è di 2/3, l'età media è di 17,6 anni (range 16-21).

Lo studio mostra che il 46,5% risulta con un buono stato di salute fisica ed emotiva; il 46,4% presenta un livello medio di malessere, mentre il 6,9% risulta avere un evidente malessere. Si osserva un maggior rischio di disagio tra le femmine OR = 1,7 (95% IC: 1,1-2,8).

Per quanto riguarda i comportamenti a rischio, lo studio ha dimostrato che:

- l'83% degli studenti assume bevande alcoliche, nel 63% dei casi fuori pasto, soprattutto birra e superalcolici;
- del 47% dei ragazzi che hanno sperimentato sostanze stupefacenti, il 22% ne fa uso abituale (cannabis);
- l'86% dei ragazzi ha rapporti sessuali precoci (prima dei 16 anni), nel 47% dei casi non protetti; il 20% degli intervistati ha già avuto più di quattro partner (multipartner);

Tabella 1 - Livelli di percezione di salute fisica ed emotiva

Condizioni fisiche ed emotive	Punteggio 0	Punteggio 1
Salute	Molto bene Abbastanza bene	Non molto bene
Umore	Sono molto felice Sono abbastanza felice	Non mi sento molto felice Non sono affatto felice
Sentirsi giù	Raramente o mai Più o meno una volta al mese o settimana	Più di una volta a settimana Quasi ogni giorno
Stanchezza	Raramente o mai Meno di una volta a settimana	Da 1 a 3 volte la settimana Più di 4 volte a settimana
Solitudine	No, ogni tanto	Piuttosto spesso, molto spesso

Tabella 2 - Comportamenti a rischio associati a livelli di malessere o disagio sociale (in percentuale del campione)

Comportamenti	Basso rischio di disagio	Medio rischio di disagio	Rischio elevato di disagio	χ^2	P
Uso di bevande alcoliche ^a	30,6	52,1	55,6	12,8	0,001
Uso di droga	38,8	53,7	61,1	6,8	0,03
Attività sessuale a rischio ^b	50,4	52,1	50,0	0,1	n.s
Fumatori frequenti ^c	20,7	28,9	27,8	1,1	n.s

(a) Birra e superalcolici fuori pasto

(b) Attività sessuale a rischio: rapporti multipartner, precoci, non protetti

(c) Fumatori (di sigarette) più di 20 giorni al mese

- il 52% dei ragazzi fuma sigarette, mentre il 24% dichiara di non aver mai fumato.

L'analisi dei comportamenti a rischio rispetto ai livelli di malessere o disagio sociale ha mostrato un'associazione statisticamente significativa con un maggior uso di sostanze stupefacenti ($p = 0,03$), e un maggior consumo di alcol fuori pasto ($p = 0,001$) (Tabella 2). Altra associazione significativa è con le relazioni familiari insoddisfacenti (conflittuali o con problemi di comunicazione), $p = 0,01$ mentre risulta una correlazione non significativa con il fumo frequente di sigaretta e con i comportamenti sessuali a rischio.

I dati dell'indagine presentano risultati analoghi a quelli di altre realtà italiane su prevalenza e tipologia di comportamenti a rischio - Progetto HBSC 2003 Regione Veneto (2).

Comportamenti a rischio e malessere o disagio sociale sono effettivamente associati. Non è facilmente identificabile il rapporto di causalità tra questi elementi, ma è probabile che l'aumento dell'uno contribuisca ad aumentare l'altro e viceversa.

L'età della sperimentazione dei comportamenti a rischio si aggira intorno ai 14-15 anni, di conseguenza un intervento efficace andrebbe strutturato prima dell'ingresso dei ragazzi nella scuola superiore.

L'urgenza e la necessità di intervenire con programmi efficaci è evidente se si considera non solo che

il 54% degli intervistati presenta un medio o alto rischio di disagio, ma che questa percentuale fotografa un gruppo selezionato di ragazzi, lasciando fuori chi ha abbandonato la scuola o era assente.

Esistono in letteratura numerose evidenze che dimostrano l'efficacia scientifica di programmi di intervento. Tale efficacia è maggiore laddove l'intervento sia integrato, coinvolga i ragazzi nella programmazione, organizzazione e realizzazione, si avvalga dell'educazione tra pari e preveda lo sviluppo di abilità.

Riferimenti bibliografici

- Sells WC, Blum RW. Morbidity and mortality among US adolescents: an overview of data and trends. *American Journal of public health* 1996;86(4):513-9.
- Bertinato L, Mirandola M, Rampazzo L, et al. *Secondo rapporto sullo stato di salute e gli stili di vita dei giovani veneti in età scolare*. Regione Veneto, Assessorato alle Politiche Sociali. Padova; 2003.
- Currie C, Hurrelmann K, Settertobulte W, et al. (Eds). *Health Behaviour in School-aged Children: a WHO Cross-National Study (HBSC). International Report. Health and health behaviour among young people*. (WHO Policy Series). WHO: Copenhagen; 2000 (http://www.hbsc.org/downloads/Int_Report_00.pdf).
- World Health Organization. *Immunization coverage cluster survey*. Part A. The manual Revision 7. Geneva; 2004.

INDAGINE DI UN'ESTESA EPIDEMIA DI EPATITE VIRALE A (HAV) IN CAMPANIA, GENNAIO-GIUGNO 2004

Gruppo di lavoro *ad hoc**

Alla fine di marzo 2004 l'Osservatorio Epidemiologico della Campania ha segnalato al Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute (CNESPS) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) un insolito numero di casi di Epatite A (HAV) provenienti da varie ASL della regione e in particolare dalla ASL Na5. Il confronto con i dati di sorveglianza disponibili per lo stesso periodo negli anni precedenti (dalla base di dati computerizzata SIMI) ha confermato che i casi osservati erano superiori rispetto all'atteso e che la situazione epidemiologica si configurava come un'epidemia di HAV.

Agli inizi del mese di aprile è stata richiesta la collaborazione del Reparto di epidemiologia delle Malattie Infettive (RMI) del CNESPS per effettuare indagini epidemiologiche descrittive e analitiche al fine di identificare la fonte dell'epidemia, le modalità di trasmissione e mettere in atto adeguate misure di controllo. Le interviste ad alcuni dei primi casi hanno indicato il consumo di frutti di mare come una verosimile fonte di infezione. Tale sospetto, in linea con i risultati pluriennali del sistema di Sorveglianza Epidemiologica Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA) per la Campania, è stato anche rafforzato dal fatto che alcuni dei primi casi si sono verificati tra i partecipanti a uno stesso banchetto che, solo in quella occasione, avevano consumato frutti di mare insieme. Il banchetto si era tenuto il 1° febbraio 2004 presso un ristorante nella zona di Caserta che si era rifornito di frutti di mare da un fornitore della zona della ASL di Na5.

Le indagini si sono dapprima concentrate sulla ricerca e verifica dei nuovi casi di HAV e sul tempestivo scambio di informazioni tra le ASL notificanti (dove si trovano i maggiori ospedali che diagnosticano casi di HAV) alle ASL di residenza dei singoli pazienti e al coordinamento regionale. Una sorveglianza accelerata è stata istituita con aggiornamenti settimanali e con-

fronto di basi di dati. Successivamente al fine di ottimizzare la segnalazione dei casi il CNESPS in collaborazione con il CINECA (Centro Interuniversitario per il Calcolo Avanzato) ha messo a punto un sistema di registrazione dei casi su un'unica base di dati su pagina web (<http://:epos.cineca.it>) consultabile e aggiornabile, mediante password, da ogni singolo Servizio di Epidemiologia delle ASL locali.

Alla fine di maggio 2004, in tutta la regione Campania, sono stati notificati 621 casi di Epatite A (alcuni con registrazione di conferma diagnostica tramite IgM-HAV, altri con accertamento ancora da registrare nella base di dati). Circa il 57% dei casi è di sesso maschile. L'età mediana è di 20 anni (range 1-56). La fascia di età col maggior numero di casi è risultata quella tra 15 e 44 anni in entrambi i sessi, rappresentando rispettivamente il 70,4% e il 62,5% della casistica totale. Su 450 casi, di cui è disponibile l'informazione sulla base di dati, 425 persone risultano essere stati ricoverati.

La curva epidemica (Figura) mostra un primo aumento intorno alla quinta settimana dell'anno (34 casi), seguita da un picco tra la decima e la undicesima settimana (rispettivamente con 68 e 67 casi). Alla fine di aprile si è osservata una prima flessione del numero dei casi, ma dai dati disponibili risulta un nuovo aumento a partire dalla prima metà di maggio per cui nel mese di giugno continuano a essere diagnosticati nuovi casi.

La ASL Na5 (zona di Ercolano, Torre Annunziata, Portici e Torre del Greco) è risultata quella più colpita con 266 casi.

Date le indicazioni iniziali sulle esposizioni dei casi si ipotizza che il consumo di frutti di mare crudi o poco cotti e conservati impropriamente sia stato il principale veicolo di infezione, come registrato nell'estesa epidemia nel 1996-97 in Puglia (1). La curva epidemica, con tre picchi intervallati da circa 4 settimane ciascuno, è compatibile con due possibili *pattern* di trasmissione:

- più fonti di esposizione, indipendenti ma limitate nel tempo, che hanno prodotto picchi separati; non è chiaro ancora se le fonti di contagio siano della stessa natura o differente;
- una prima fonte di esposizione puntuale nel periodo natalizio, seguita poi da picchi successivi spiegabili da un'intensa trasmissione secondaria.

Dato il protrarsi dell'epidemia è probabile che dopo una prima introduzione di HAV legata al consumo di frutti di mare nel periodo natalizio, sia subentrata una trasmissione per contagio interumano, oppure che il verosimile veicolo alimentare venga continuamente contaminato localmente, amplificando e mantenendo la trasmissione. Il CNESPS in collaborazione con la ASL Na5 sta effettuando uno studio caso controllo nel comune di Ercolano per verificare il ruolo di varie esposizioni a rischio.

All'indagine epidemiologica è stata anche affiancata un'indagine ambientale che prevede la raccolta di campioni di frutti di mare da punti critici per un perio-

(*) Osservatorio Epidemiologico Regione Campania: Renato Pizzuti Servizio di Epidemiologia delle ASL, Campania: ASL CE/2, Angelo D'Argenzio; ASL NA/5, Francesco Giugliano; ASL AV/2, Maria Antonietta Ferrara; ASL BN/1, Paolo D'Argenio; ASL CE/1, Crescenzo Bove; ASL NA/1, Andrea Simonetti; ASL NA/2, Antonino Parlato; ASL NA/3, Filomena Peluso; ASL NA/4 Raffaele Palombino; ASL SA/1, Anna Luisa Caiazza; ASL SA/2, Maria Grazia Panico; ASL SA/3, Giuseppe Di Fluri; Istituto Superiore di Sanità: Giuseppe Pontrelli, Marco Massari, Fabrizio Rossi, Lucia Pastore Celentano, Amy Cawthorne, Stefania Salmaso, Delia Boccia, Massimiliano Di Renzi, Maria Rapicetta e Luciana Croci

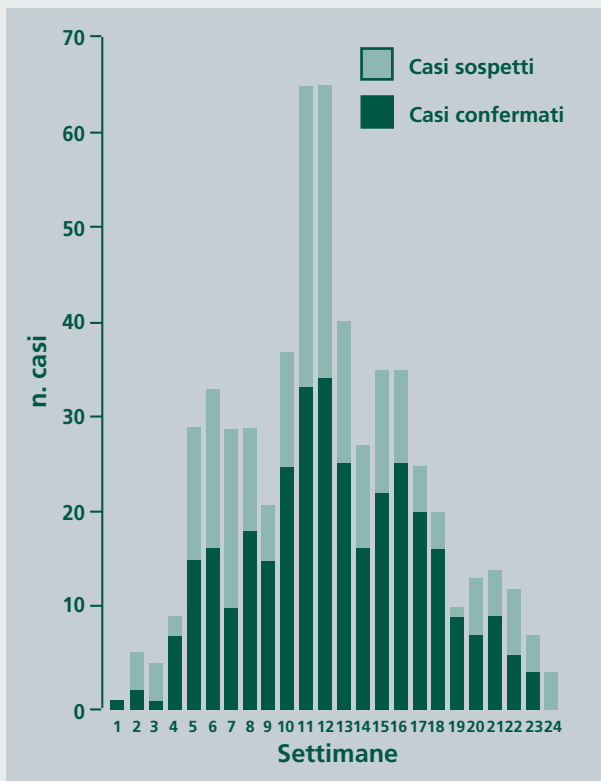


Figura - Epidemia di Epatite A nella regione Campania (gennaio-giugno 2004). Numero di casi (621) per settimana di insorgenza dei sintomi dall'inizio dell'anno

do di almeno 15 settimane. I campioni verranno analizzati in ISS presso il Laboratorio di Riferimento Nazionale per le contaminazioni batteriologiche e virali dei molluschi bivalvi, afferente al Centro Nazionale per la Qualità degli Alimenti e per i Rischi Alimentari. Agli ospedali che hanno ricoverato la maggior parte dei casi è stato richiesto di raccogliere e mantenere campioni di sieri di pazienti in fase acuta su cui il Dipartimento Malattie Infettive Parassitarie e Immunomediate dell'ISS effettuerà l'isolamento e la caratterizzazione genotipica dei ceppi virali. Gli isolati virali di HAV così ottenuti da varie fonti (umana e frutti di mare) verranno confrontati per stabilire se l'epidemia è attribuibile a varie fonti di introduzione o è sostenuta dagli stessi virus dei pazienti.

I dati qui presentati sono ancora provvisori ed è probabile che rappresentino una sottostima del numero reale dei casi.

In base alle evidenze della letteratura scientifica le ASL maggiormente toccate dall'epidemia hanno offerto la vaccinazione gratuita a tutti i conviventi dei casi per interrompere l'eventuale trasmissione interpersonale nelle famiglie (2). Tuttavia la numerosità dei casi segnalati nel mese di marzo non era inferiore rispetto a quella segnalata in gennaio e l'effettivo impatto di questo intervento dovrà essere valutato.

Sebbene il fenomeno sembri in esaurimento, l'epidemia non può ancora considerarsi conclusa. Nel frattempo sono giunte segnalazioni di altri casi di HAV "esportati" dalla Campania in altre regioni di Italia normalmente con bassa incidenza di HAV.

Il commento

Stefania Salmaso

Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute, ISS

Anche se le infezioni da HAV sono frequenti in Campania, la presente epidemia con più di 600 casi segnalati e distribuiti su molti comuni di residenza costituisce un evento anomalo da indagare. Uno degli ostacoli a una disamina tempestiva delle informazioni raccolte è stata la lunghezza dei tempi di trasmissione tra le strutture di assistenza che diagnosticano i casi e il coordinamento regionale che, secondo la prassi, vede le notifiche a cadenza mensile o al massimo ogni 15 giorni. Come già detto nell'articolo, per fornire un supporto alle attività di coordinamento è stata predisposta un'area Internet riservata agli operatori sanitari impegnati nella registrazione dei dati, chiamata EPOS (<http://epos.cineca.it>). In pratica, accedendo a EPOS gli utenti autorizzati possono trascrivere le informazioni sui singoli casi di malattia in studio su una base dati centralizzata visibile online in tempo reale da altri operatori sanitari, che devono essere a conoscenza dei dati. I dati registrati sono accessibili per via elettronica in modalità crittografata solo da utenti autorizzati, riconosciuti personalmente mediante username e password e mantenuti in modo protetto presso un server centrale. Il sistema, realizzato in modo sperimentale dal CINECA, è stato ideato dal Reparto di Epidemiologia delle Malattie Infettive del CNESPS dell'ISS. Utilizzando i dati registrati il sistema fornisce in modo automatico la curva epidemica e alcune semplici tabulazioni con le frequenze dei casi per ASL, età, sesso. Inoltre, il sistema permette di identificare facilmente le informazioni mancanti per ogni singolo caso e quindi di effettuare una rapida verifica della qualità dei dati. La comunicazione online delle informazioni relative ai casi di malattie infettive non previene le infezioni, ma certamente aiuta a caratterizzare velocemente la situazione, a riunificare informazioni frammentate in strutture diverse e a condividere le evidenze su cui stabilire se effettuare un intervento.

Riferimenti bibliografici

1. Malfait P, Lopalco PL, Salmaso S, et al. An outbreak of hepatitis A in Puglia, Italy, 1996 *Euro Surveill* 1996;1(5):33-5.
2. Mele A, Jefferson T. The use of hepatitis A vaccine in Italy - evidence-based recommendations from an expert panel (Editorial). *Vaccine* 2003;21(19-20):22-3.

Comitato editoriale BEN

**Nancy Binkin, Paola De Castro, Carla Faralli,
Marina Maggini, Stefania Salmaso**

Full English version is available at: www.ben.iss.it
e-Mail: ben@iss.it

La valutazione tossicologica delle sostanze aromatizzanti: l'approccio dell'Unione Europea



Emanuela Testai

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, ISS

Riassunto - La maggior parte della popolazione è quotidianamente esposta attraverso la dieta a sostanze chimiche aromatizzanti aggiunte alle preparazioni alimentari per conferire aromi specifici. L'Unione Europea (UE) ha emanato una serie di Decisioni e Regolamenti Comunitari tra il 1996 e il 2002 che indicano modalità e tempi per la costituzione di una lista positiva di aromatizzanti il cui uso sarà consentito su tutto il territorio dell'UE. A questo scopo è stato redatto un Registro dei 2700 aromatizzanti autorizzati dai vari Stati Membri ed è stata definita una procedura per la loro valutazione tossicologica. L'articolo descrive le responsabilità dei diversi organismi europei e i criteri adottati nella procedura di valutazione, che integra informazioni su metabolismo, tossicità, struttura chimica e livelli di esposizione, atta a determinare l'inclusione delle sostanze aromatizzanti nella lista positiva, che dovrebbe essere pronta entro il 2005.

Parole chiave: aromatizzanti, valutazioni tossicologiche, legislazione europea

Summary (*Toxicological evaluation of flavouring substances: the European Union approach*) - A large part of the population is chronically exposed through the diet to chemically defined flavourings, used by the food industry in or on foodstuffs. In the European Union, a number of Commission Decisions and Regulations of the European Parliament adopted between 1996 and 2002 defined a procedure for the establishment of a positive list of authorised flavourings. To this aim, a register of about 2700 flavourings authorised in the Member States has been compiled and the procedure for the safety evaluation of the flavouring substances included in the Register and its timing have been indicated. The present paper describes the stepwise approach integrating information on metabolism, toxicity, structure-activity relationships and intake from current uses adopted for the toxicological evaluation of flavourings to be included in the positive list, and indicates the responsibilities of different Committees in the evaluation process, which is intended for completion within 2005.

Key words: flavourings, toxicological evaluations, European legislation

testai@iss.it

Le sostanze chimiche aromatizzanti, in grado di conferire più sapore ma anche tipici e specifici profumi ai cibi, sono molto frequentemente aggiunte alle preparazioni alimentari e ai vari prodotti commerciali abitualmente consumati: la naturale conseguenza è che la maggior parte della popolazione è quotidianamente e cronicamente esposta a questo tipo di sostanze attraverso la dieta. In questi ultimi tempi l'aumento nel consumo di cibi conservati e confezionati ha ulteriormente incrementato l'esposizione agli aromatizzanti, per cui appare ampiamente giustificato che a livello europeo si sia ritenuto necessario stabilire delle norme specifiche che ne regolassero l'uso, tenendo in considerazione la loro eventuale potenziale tossicità.

La legislazione comunitaria (Council Directive 88/388/EEC), oltre a definire cosa siano gli aromatizzanti, li suddivide in varie categorie: sostanze aromatizzanti naturali, natural-identiche e artificiali; preparazioni aromatizzanti di origine vegetale e/o animale (ottenute con trattamenti di tipo microbiologico e/o enzimatico); aromatizzanti di processo, vale a dire sostanze che si formano durante la preparazione di un cibo (ad esempio, che si sviluppano alle alte temperature utilizzate per la cottura); e gli aromatizzanti di affumicatura. Nella Council Directive del 1988 si definiscono le regole generali attinenti all'uso degli aromatizzanti e alla loro etichettatura e si stabiliscono i livelli massimi utilizzabili per alcune sostanze che, in base alle loro caratteristiche tossico-

logiche, possono generare preoccupazione per la salute umana come safrolo, curarina, acido idrocianico, pulegone (in totale 12 principi attivi) e sostanze cancerogene come il 3,4-benzopirene.

Successivamente, nel 1996, il Parlamento Europeo attraverso la Council Regulation n. 2232/96 (1) ha definito una procedura per la creazione di una lista positiva per le sostanze chimiche aromatizzanti da ritenersi valida su tutto il territorio dell'Unione Europea (UE): una volta definita tale lista, solo le sostanze ivi elencate potranno essere utilizzate come aromatizzanti in campo alimentare. Seguendo le indicazioni del suddetto Regolamento, nel 1999 è stato approntato un Registro contenente le 2700 sostanze il cui uso era a quel momento autorizzato nei vari Stati Membri a livello nazionale (Commission Decision 1999/217/EC) (2); il Registro è stato successivamente modificato per l'introduzione di alcune nuove sostanze e l'eliminazione di altre (Commission Decision 2002/113/EC) (3).

Le sostanze elencate nel Registro, prima di entrare a far parte della lista positiva, dovranno essere sottoposte a una valutazione di rischio per la salute umana secondo una procedura, così come è stata definita nella Commission Regulation n. 1565/2000 (4), che si basa sull'opinione del Comitato Scientifico per l'Alimentazione Umana (Scientific Committee on Food - SCF), espressa il 2 dicembre 1999 e a sua volta derivata dalla procedura di valutazione elaborata dal Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) durante il 44°, 46° e 49° Meeting tra il 1995 e il 1999 (5-7). Secondo quanto stabilito dalla Commission Regulation n. 622/2002 (8), le informazioni necessarie per la conduzione di tale valutazione devono essere raccolte e presentate dalle ditte produttrici, consorziate nell'European Food Flavouring Association - EFFA, rispettando la tempistica indicata nello stesso Regolamento.



Il processo di valutazione è iniziato nella seconda metà del 2000 nell'SCF, con la collaborazione del gruppo di lavoro EU-DG-SANCO SCOOP Working Group on Flavourings (SCOOP Task 1.1), al quale chi scrive partecipa dal 2001 in qualità di esperto italiano per i settori metabolismo, tossicocinetica e tossicologia. All'interno di tale gruppo sono state elaborate le proposte, in forma di linee guida, per definire il formato di presentazione delle valutazioni condotte, secondo la procedura, per gruppi di aromatizzanti (Flavouring Group Evaluations - FGE). Ciascun gruppo è costituito da sostanze strutturalmente simili tra loro, definite "sostanze candidate" (*Candidate Chemicals*) e da altre sostanze dette "di supporto" (*Supporting Chemicals*), a esse correlate per struttura chimica e che sono già state oggetto di valutazione da parte del FAO/WHO-JECFA.

La necessità di raggruppare gli aromatizzanti e condurre valutazioni per gruppi di sostanze affini, così come quella di riferirsi a dati relativi a sostanze di supporto, dipende dal fatto che le informazioni tossicologiche disponibili per gli aromatizzanti da valutare sono spesso molto limitate. Si tratta infatti di sostanze in alcuni casi naturalmente contenute nei cibi, già utilizzate da molto tempo in quantità spesso molto limitate (e quindi non soggette alla legislazione che regola l'immissione sul mercato di nuove sostanze chimiche), per cui fino a ora non ci sono state richieste regolatorie precise che obbligassero le ditte produttrici a fornire dati tossicologici.

Per trovare il giusto equilibrio tra solidità scientifica e necessità pratiche nel corso delle valutazioni, tenendo conto della limitatezza dei dati tossicologici disponibili a fronte di livelli di utilizzo spesso estremamente bassi o trascurabili, quando confrontati con il contenuto "naturale" nei cibi, la procedura procede per tappe successive, con un approccio che integra informazioni sull'assunzione, sulla struttura chimica, sul metabolismo e, se necessario, sugli effetti tossici.

Seguendo la procedura e il relativo albero decisionale mostrato nella Figura, le cui tappe fondamentali verranno illustrate tra breve, il gruppo di lavoro dello SCOOP ha preparato le FGE01 e FGE02, che sono state adottate dal SCF nel dicembre 2002 e pubblicate sul sito web: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sfp/addit_flavor/flavourings. Le 2 FGE approvate riguardano la valutazione di 58 aromatizzanti (alcol primari, aldeidi, acidi carbossilici saturi a catena lineare o ramificata ed esteri di alcol e acidi carbossilici alifatici) che, ai livelli di esposizione stimati, sono stati considerati non preoccupanti per la salute umana.

Oltre alla preparazione delle FGE, è compito del gruppo di lavoro dello SCOOP la preparazione di una banca dati elettronica, denominata FLAVIS-DataBase, nella quale saranno contenute tutte le informazioni di tipo identificativo, chimico-fisico e tossicologico disponibili sulle singole sostanze aromatizzanti valutate.

Le sostanze utilizzate come aromatizzanti, per le quali siano emersi problemi tossicologici, non rien-

trano nelle FGE e sono state valutate singolarmente dal SCF che nel suo periodo di attività ha emesso pareri per sostanze come la cumarina, il metileugenolo, l'estragolo e il saffrolo, solo per citarne alcune.

Nel 2003, con la creazione della Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (European Food Safety Authority - EFSA), i compiti del SCF sono passati ai vari panel in cui l'EFSA è stata organizzata. La problematica degli aromatizzanti viene trattata all'interno del panel additivi, aromatizzanti, e materiali in contatto con alimenti (Additives, Flavourings and Food Contact material: AFC panel). Al gruppo di lavoro dello SCOOP, ora denominato FLAVIS e coordinato da Jorn Gry dell'Istituto Danese per la Ricerca Alimentare e Veterinaria - Dipartimento di Tossicologia e Valutazione del Rischio (Danish Institute for Food and Veterinary Research, Department of Toxicology and Risk Assessment) di Copenhagen, è stato di nuovo affidato il compito di preparare la valutazione di circa 800 aromatizzanti (divisi in gruppi) da sotto-

“
Il gruppo di lavoro
FLAVIS
creerà una banca dati
elettronica
sugli aromatizzanti
”

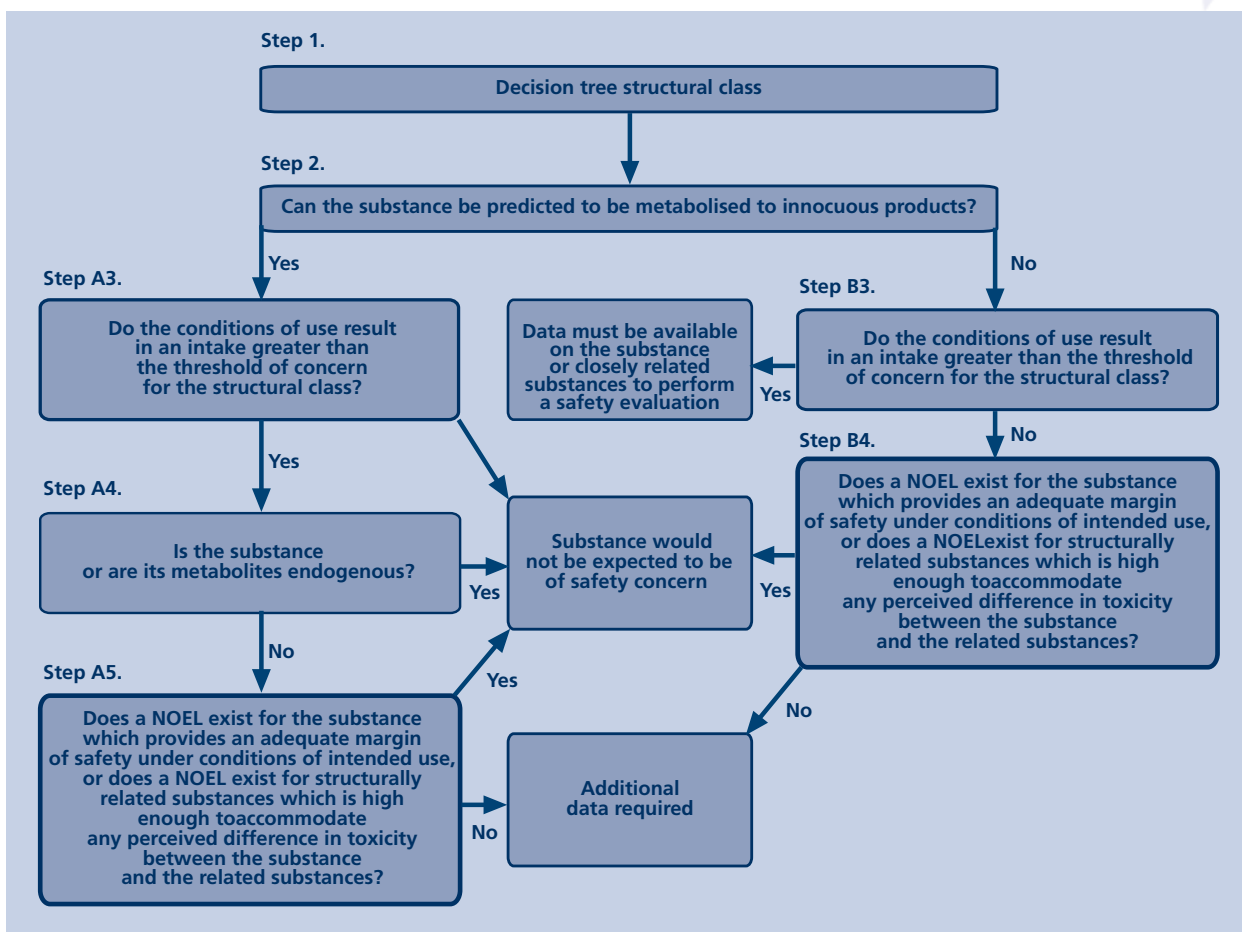


Figura - Schema della procedura utilizzata dall'UE per la valutazione di sicurezza delle sostanze aromatizzanti chimicamente definite

porre al panel AFC per l'approvazione, e di continuare nell'allestimento della banca dati FLAVIS. Il gruppo di lavoro FLAVIS, composto da 12 membri di Paesi diversi, si riunisce a Copenhagen per 4 incontri l'anno per discutere le varie FGE, preparate da un responsabile (*Rapporteur*) che può avvalersi della collaborazione di altri membri del gruppo esperti di specifici settori (ad esempio, metabolismo, genotossicità). Il responsabile di ciascuna FGE ha anche il compito di presentare la valutazione al gruppo aromatizzanti del panel AFC durante una delle sue riunioni, alle quali è invitato come esperto *ad hoc*. Nelle FGE alcuni elementi sono da considerarsi fondamentali ed è quindi indispensabile che tali informazioni siano fornite dall'EFFA.

La descrizione delle caratteristiche chimico-fisiche e di produzione del prodotto commerciale, ad esempio, è necessaria per la corretta identificazione della sostanza da valutare; basti pensare che la semplice differenza tra due stereoisomeri della stessa molecola è sufficiente a conferire alle molecole due aromi (ma anche caratteristiche tossicologiche) estremamente diversi. Il primo passaggio dell'albero decisionale (Figura) prevede la definizione, secondo la classificazione di Cramer *et al.* (1978) (9), della classe di appartenenza (I, II, e III), per ciascuna delle quali è stato definito un livello di assunzione giornaliera al di sotto del quale si considera che non ci sia pericolo per

la salute umana: 1800, 540 e 90 mg *pro capite* al giorno per la classe I, II e III. Tale livello è stato ricavato dall'analisi condotta dal JECFA nel 1996 di una banca-dati piuttosto ampia, contenente dati di tossicità subcronica e cronica su modelli animali. Secondo tale classificazione la classe I contiene sostanze con struttura chimica semplice ed efficiente metabolismo, caratteristiche che suggeriscono un basso potenziale di tossicità. Nella classe II sono comprese le sostanze con caratteristiche strutturali e metaboliche che non permettono di considerarle del tutto innocue, ma non sono di per sé indice di tossicità; quelle in classe III possono considerarsi potenzialmente causa di problemi tossicologici.

Per la valutazione tossicologica è essenziale definire il metabolismo degli aromatizzanti

La stima dell'esposizione viene effettuata a partire dai dati di produzione (forniti direttamente dalle aziende produttrici) dai quali si ricava il valore di MSDI (Maximised Survey-derived Daily Intake), lo stesso metodo di calcolo utilizzato dal JECFA: il volume di produzione annuo (espresso in kg) viene diviso per un fattore di correzione pari a 0,6 (assumendo che il 40% della produzione non venga riportato), per il numero dei consumatori (che si assume pari al 10% della popolazione europea uguale per tutti gli aromatizzanti) e per 365 (giorni). Nel caso in cui le assunzioni fatte in merito ai dati di produzione o al numero degli effettivi consumatori non fossero corrette, questa stima potrebbe essere non adeguata. Per questo motivo e in presenza di problemi tossicologici legati a una specifica sostanza, alcuni dati possono essere confrontati con altri sistemi di stima dell'esposizione più conservativi, per verificare che non ci siano differenze sostanziali, in base alle quali l'esito della valutazione potrebbe cambiare. Un esempio è dato dal metodo TAMDI (Theoretical Added Maximum Daily Intake), nel quale la stima dell'esposizione si basa sui livelli massimi di utilizzo degli aromatizzanti in diverse categorie di cibo contenente aromi, nelle quantità di assunzione stimate per la popolazione europea (ad esempio, 324 g/giorno per bevande non alcoliche e 27 g/giorno per caramelle e dolci).

Dal punto di vista tossicologico, l'elemento chiave è la definizione dei parametri tossicocinetici, che identificano le caratteristiche di assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione. Come si vede dal secondo passaggio dell'albero decisionale (Figura), infatti, è fondamentale definire se le sostanze vengano (o meno) biotrasformate a metaboliti che possono essere considerati innocui per la salute, perché da questo dipende quale delle due possibili vie (A o B) verrà seguita nella valutazione. Lungo la via





A (metaboliti innocui), si deve ricorrere a dati tossicologici solo nel caso in cui la stima dell'esposizione sia sopra la soglia di assunzione prevista per la classe di appartenenza e i metaboliti non siano endogeni, altrimenti si arriva alla conclusione che tali sostanze non pongono problemi per la salute ai livelli stimati di esposizione indicati nella FGE. Nel caso in cui i dati tossicologici siano necessari, essendo le condizioni di esposizione umana caratterizzate da basse dosi per tempi prolungati, i dati di tossicità acuta (che pure vengono riportati per completezza di informazione in apposite tabelle) non sono considerati particolarmente rilevanti rispetto a quelli di tossicità subcronica o cronica (se e quando presenti); viene inoltre data maggior considerazione agli studi di tossicità per via orale, dal momento che per gli aromatizzanti per uso alimentare essa è, per l'uomo, la principale via di esposizione. Una volta identificato dai dati di tossicità il NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) si confronta con i livelli stimati di esposizione (MSDI) per stabilire se ci sia una differenza tale da assicurare un adeguato margine di sicurezza per il consumatore.

Lungo la via B, intrapresa quando i metaboliti sono considerati non innocui dal punto di vista tossicologico, è invece sempre necessario disporre di un NOAEL per stabilire se i livelli stimati di esposizione assicurino un adeguato margine di sicurezza. Nel caso

questi dati non siano disponibili, la valutazione potrà essere completata solo dopo la loro presentazione da parte delle ditte produttrici.

La procedura di valutazione (nonostante non ci sia indicazione esplicita nella struttura dell'albero decisionale) prevede che venga considerata anche la potenziale attività genotossica delle sostanze in esame, che porrebbe immediatamente indicazioni di pericolosità. Se i dati dovessero indicare che l'uso di una o più sostanze ai livelli di esposizione stimati possano dar luogo a preoccupazione per la salute umana, è evidente che tale sostanza non potrà essere inserita nella lista positiva.

I dati tossicologici nel loro insieme vengono riportati nel corpo della valutazione sia nel testo che in tabelle in forma riassuntiva, mentre nella banca dati FLAVIS sono inseriti i riassunti di tutti gli studi di tossicità con somministrazioni ripetute disponibili per i singoli aromatizzanti valutati.

Al termine di ciascuna FGE, vengono prese in considerazione le esposizioni combinate, seguendo l'approccio suggerito dal FAO/WHO-JECFA: si verifica cioè la possibilità che la soglia (*threshold of concern*) stabilita per ciascuna classe chimica di appartenenza non venga superata nel caso di assunzione contemporanea delle sostanze di classe I, II, o III comprese nella FGE. Se la soglia è superata, si valuta la possibilità che i livelli stimati di ingestione combinata possano saturare le vie metaboliche coinvolte nella biotrasformazione degli aromatizzanti a metaboliti innocui. Tale evento infatti potrebbe determinare l'attivazione di vie di trasformazione diverse con formazione di altri metaboliti, non necessariamente innocui. Rispetto all'approccio del JECFA, si considera anche il caso in cui nel gruppo siano compresi aromatizzanti con lo stesso meccanismo di tossicità e lo stesso bersaglio: presupponendo che ci sia additività degli effetti, si verifica che il margine di sicurezza rispetto al NOAEL sia ancora adeguato considerando la somma dei livelli espositivi delle singole sostanze.

Alla fine del processo valutativo di tutti gli aromatizzanti potrà venir presa in considerazione la possibilità di ingestione contemporanea di sostanze valutate in FGE diverse, che hanno mostrato simile meccanismo di tossicità e bersagli comuni, migliorando la stima di potenziali effetti dovuti a esposizione combinata.

L'attuale processo valutativo attraverso le FGE, primo tentativo di regolamentare una materia nella quale non erano finora presenti regole precise, dovrebbe essere terminato entro il 2005. Alcuni comprensibili ritardi dovuti alla necessità di avviare una struttura del tutto nuova come l'EFSA e al passaggio di competenze tra un organismo e l'altro (SCF ed



EFSA) porterà verosimilmente a un leggero slittamento della scadenza. Tuttavia, una volta stabilita la lista positiva, il lavoro non sarà giunto al termine: sarà infatti necessario un suo aggiornamento, dovuto sia alla richiesta di sostanze nuove che all'ingresso nell'UE di nuovi Stati Membri, ciascuno dei quali con proprie sostanze autorizzate a livello nazionale. Inoltre, sarà possibile migliorare le valutazioni diminuendo i fattori di incertezza sia per l'acquisizione di dati tossicologici nuovi sia riconsiderando alcuni passaggi dell'attuale processo.

La stima dei livelli espositivi è uno dei punti che dovrà essere riconsiderato. Infatti i dati di produzione annui forniti dall'EFFA per il calcolo della MSDI, pur essendo i più aggiornati disponibili, si riferiscono al 1995; dal momento che, così come è strutturata la valutazione, non si stabiliscono dei limiti di uso, ma si valuta se ci sia o meno rischio per la salute ai livelli stimati di esposizione, è importante che tale parametro sia non solo il più accurato possibile, ma che venga anche periodicamente e sistematicamente aggiornato. Inoltre, per alcuni gruppi di popolazione l'esposizione potrebbe essere più elevata e distinta dalla media per il consumo elevato di specifici cibi, legato sia ad abitudini alimentari regionali, sia a particolari necessità alimentari dovute a stati patologici o all'età della popolazione. Un ulteriore passo verso una migliore valutazione e caratterizzazione del rischio potrà essere compiuto attraverso la considerazione che la popolazione non

è costituita dalla somma di individui simili diversamente esposti, ma piuttosto da sottogruppi di persone con una diversa suscettibilità dovuta a diversi stati fisiologici nel loro ciclo di vita (età, stati patologici, gravidanza) o a una diversa sensibilità nella risposta dovuta a variabilità interindividuale dei parametri tossicocinetici e/o tossicodinamici.

Al di là dei suddetti margini di miglioramento, va dato atto alla Commissione Europea dell'enorme passo avanti che si farà in materia di sicurezza alimentare e trasparenza, con la definizione della lista positiva delle sostanze aromatizzanti chimicamente definite e la possibilità da parte degli addetti ai lavori a livello nazionale e dei consumatori di poter consultare il testo delle valutazioni e la banca dati FLAVIS, che sarà inserita nel sito web dell'EFSA, per ottenere informazioni sulle singole sostanze aromatizzanti.

Riferimenti bibliografici

1. EC. Regulation n. 2232/96 of the European Parliament and of the Council of 28 October 1996. *Official Journal of the European Communities* 1996; L 299:1-4.
2. EC. Commission Decision 1999/217/EC of 23 February 1999 adopting a register of flavouring substances used in or on foodstuffs. *Official Journal of the European Communities* 1999; L 84:1-137.
3. EC. Commission Decision 2002/113/EC of 23 January 2002 amending Commission Decision 1999/217/EC as regards the register of flavouring substances used in or on foodstuffs. *Official Journal of the European Communities* 2002; L 49:1-160.
4. EC. Commission Regulation No 1565/2000 of 18 July 2000 laying down the measures necessary for the adoption of an evaluation programme in application of Regulation (EC) n. 2232/96. *Official Journal of the European Communities* 2000; L 84:8-16.
5. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-fourth Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO: Geneva; 1995 (WHO Technical Report Series, n. 859).
6. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-sixth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO: Geneva; 1996 (WHO Technical Report Series, n. 868).
7. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva; 1999 (WHO Technical Report Series, 884).
8. EC. Commission Regulation n. 622/2002 of 11 April 2002 establishing deadlines for the submission of information for the evaluation of chemically defined flavouring substances. *Official Journal of the European Communities* 2002; L 95:10-1.
9. Cramer GM, Ford RA, Hall RL. Estimation of toxic hazard - a decision tree approach. *Food Cosmet Toxicol* 1978;16(3):255-76.

Nello specchio della stampa

A cura di Franca Romani

Ufficio Stampa, ISS



Quello della sperimentazione dei vaccini antitumorali, sia preventivi che terapeutici, entra a pieno titolo in quella ricerca d'eccellenza che l'Istituto conduce nella lotta ai tumori. Nuovi trial italiani ed europei, infatti, vengono coordinati dall'Istituto Superiore di Sanità, coniugando ricerca e pratica clinica, come è negli obiettivi dell'attività tradizionale dell'Istituto. Tutta la ricerca, basata anche sullo studio e sul brevetto delle cellule dendritiche, bersaglio degli antigeni dei vaccini antitumorali, ha tra le sue finalità più importanti anche diagnostiche sempre più precoci e lo sviluppo di nuovi farmaci.

All'interno dell'Istituto sarà attivato, inoltre, in linea con i risultati conseguiti da questo filone di ricerca, un Centro per l'Immunoterapia Sperimentale: il primo laboratorio pubblico dedicato alle preparazioni di cellule "sentinella" addestrate a riconoscere le cellule tumorali e utilizzate poi come vettori nella vaccinazione terapeutica. Questa metodologia, brevettata in Istituto dai team di Filippo Belardelli ed Enrico Proietti, è oggetto della sperimentazione clinica che è iniziata presso l'Istituto "Regina Elena" e il Policlinico Universitario di "Tor Vergata" e che continua oggi anche in collaborazione con altri centri clinici.

La stampa nazionale ha dedicato molto spazio alla notizia della sperimentazione dei vaccini antitumorali; vi segnaliamo alcune tra le maggiori testate: La Repubblica, Repubblica Salute, Il Sole 24 Ore, Il Messaggero, Avvenire, Il Giornale, Il Secolo XIX.

Da La Repubblica Cancro, un vaccino per batterlo 17 aprile 2004, p. 6

... L'idea è dell'Istituto Superiore di Sanità che, entro l'anno, aprirà il primo Centro pubblico di "Immunoterapia Clinica Sperimentale" per consentire l'applicazione di alcuni vaccini recentemente brevettati. Il melanoma e il cancro del fegato prodotto dall'epatite B saranno i due principali target di applicazione dei test clinici all'Istituto "Regina Elena".

Per verificare l'efficacia dell'interferone nel potenziare l'attuale vaccino preventivo contro l'epatite B, l'Istituto coordina la sperimentazione di studi condotti su 386 soggetti e che coinvolgono Italia, Spagna e Inghilterra.

... «Le cellule dendritiche - ha spiegato Filippo Belardelli, direttore dell'Immunoterapia sperimentale del Dipartimento di Biologia cellulare e Neuroscienze dell'ISS che coordinerà il Centro - fanno parte del sistema immunitario e sono sentinelle, vigili contro l'eventuale ingresso di agenti estranei dell'organismo. Quando fiutano la presenza del nemico ne costruiscono l'identikit e ordinano al linfocita di attaccarlo».

Prelevate dal sangue del malato ed addestrate a riconoscere le cellule tumorali mettendole a contatto con il loro antigene, verranno rinforzate in laboratorio con interferone per potenziarne l'azione, divenendo così vaccini antitumorali.

I primi a sperimentarli saranno quei malati di tumore il cui sistema immunitario si è dimostrato capace di attivare una minima risposta spontanea (colonretto, prostata, melanoma, carcinoma renale, fegato). «Le speranze sono alte, visti i test promettenti sugli animali», spiega Belardelli.

Fiducioso nella nuova strategia terapeutica anche il presidente dell'Istituto Superiore di Sanità, Enrico Garaci: «Chemioterapia e immunoterapia: è una vera sinergia nella lotta contro i tumori». I vaccini antitumorali non sono una novità assoluta, alcuni sono già in uso, ma con effetti limitati.

«La novità che fa ben sperare - ha spiegato Belardelli - è che ora sappiamo che il vaccino, per essere efficace, deve portare l'antigene a contatto con le cellule dendritiche che fungono come direttore d'orchestra nella regolazione della risposta immunitaria».



Da *Il Messaggero* Vaccino per il tumore, i primi test 17 aprile 2004, p. 8

... Entro maggio, dodici pazienti, colpiti in forma grave dalla malattia, inizieranno a sperimentare un vaccino. Che sarà combinato con cicli di chemioterapia. Un abbinamento messo a punto in



Italia, nei laboratori dell'Istituto Superiore di Sanità. Dieci dosi di vaccino con la cura già collaudata. Si prevede un anno di osservazione. Ed è solo (il cauto) inizio di una nuova strada contro i tumori. Finora i vaccini provati su vari forme di tumore, dal seno ai reni, al polmone, non hanno avuto un

particolare successo: in tutti i casi, al momento della somministrazione del vaccino (nel caso dei tumori serve a prevenire ma anche a curare) veniva, infatti, interrotta la chemio.

... «I nostri studi sugli animali con antigeni del melanoma più interferone alfa e chemio - spiega Filippo Belardelli, Direttore del reparto di Immunoterapia Sperimentale dell'Istituto Superiore di Sanità - hanno portato al 100% di guarigione dei tumori. Ora speriamo di capire se possiamo aspettarci risultati simili anche per l'uomo».

... Le speranze sono molte in questa nuova strategia d'attacco tanto da far decidere l'Istituto Superiore di Sanità di aprire il primo laboratorio pubblico per la creazione e il trattamento di cellule dendritiche umane, quelle, cioè, che innescano la risposta immunitaria. Da utilizzare in strategie di vaccinazione terapeutica in pazienti affetti da cancro o da alcune gravi infezioni. Tra queste, anche l'AIDS. «Il Centro - fa sapere Enrico Garaci, presidente dell'Istituto di Sanità - permetterà, così, di passare dalla ricerca all'applicazione clinica. Le cellule verranno preparate secondo la metodologia brevettata dall'Istituto»...

Da *Il Sole 24 Ore* Al via la sperimentazione sull'uomo di vaccini antitumorali 17 aprile 2004, p. 3

L'Istituto Superiore di Sanità sperimenterà fra breve due vaccini contro il cancro, uno preventivo e l'altro terapeutico. La sperimentazione riguarderà pazienti affetti da melanoma avanzato e soggetti sani vaccinati contro il virus dell'epatite B, responsabile del cancro al fegato.

Secondo una ricerca condotta dall'Istituto, nei Paesi in via di sviluppo, il 23% dei tumori maligni è causato da agenti infettivi. Percentuale che scende all'8% nei Paesi sviluppati. I nuovi approcci saranno discussi durante l'*International meeting on cancer vaccines* che si svolgerà a Roma il 19 e 20 aprile.



Da *Il Secolo XIX* Vaccini anticancro al via la sperimentazione 27 aprile 2004, p. 11

... L'Istituto Superiore di Sanità coordinerà la sperimentazione umana di vaccini per curare e prevenire il cancro. Si tratta di preparati in grado di indurre



un'efficace risposta immunitaria o contro le cellule di un tumore già presente o contro virus coinvolti nella formazione di alcuni tipi di tumore. Con questi obiettivi i ricercatori dell'Istituto saranno a capo di alcune ricerche cliniche su pazienti affetti da melanoma avanzato e su soggetti sani vaccinati contro il virus dell'epatite B, per potenziare l'efficacia di questi vaccini; il virus dell'epatite B è infatti un agente che può favorire la trasformazione tumorale delle cellule del fegato infettato. La novità di questi vaccini è rappresentata dall'utilizzo degli interferoni, particolari sostanze che entrano nei naturali meccanismi di reazione dell'organismo di fronte a un'infezione o a un altro elemento che può "scardinare" il benessere del corpo...

... L'Istituto Superiore di Sanità coordinerà la sperimentazione umana dei vaccini come spiega il presidente dell'ISS, Enrico Garaci. «La nostra agenda di lavoro è ricca di promesse per la lotta ai tumori. Si conferma il duplice spirito dell'Istituto impegnato in ricerche i cui risultati sono in grado di tradursi in applicazioni terapeutiche».

Da *Il Giornale* Tumore, vaccini italiani testati sull'uomo 17 aprile 2004, p. 4

... Sarà l'Istituto Superiore di Sanità a coordinare la sperimentazione umana dei vaccini come spiega il presidente dell'ISS, Enrico Garaci. «La nostra agenda di lavoro è ricca di promesse per la lotta ai tumori. Si conferma il duplice spirito dell'Istituto impegnato in ricerche i cui risultati sono in grado di tradursi in applicazioni terapeutiche».



Lo studio pilota partirà i primi di maggio a Roma. L'Istituto "Regina Elena" e il Policlinico di "Tor Vergata" guideranno i *trial* clinici, ovvero i test su 12 pazienti volontari affetti da melanoma avanzato. La nuova strategia abbina dieci dosi di vaccino messo a punto dall'ISS alla chemioterapia. Il direttore scientifico del "Regina Elena", Francesco Cognetti, spiega che lo studio servirà soprattutto a verificare il grado di tossicità del trattamento e la risposta dei pazienti.

... Certamente l'impiego a regime di questi vaccini appare ancora lontano ma la speranza si fonda su concreti risultati ottenuti sugli animali che in alcuni casi sono arrivati al 100 per cento di guarigioni. Filippo Belardelli, virologo dell'ISS, che sarà il responsabile del Centro di Immunoterapia Clinica Sperimentale sottolinea che la novità dei vaccini allo studio è rappresentata dall'utilizzo degli interferoni, citochine in grado di agire come potenziatori degli stessi vaccini.

... In tre Paesi europei, Italia, Spagna e Inghilterra, è già in corso una sperimentazione sempre coordinata dall'ISS, su 386 soggetti che ha lo scopo di potenziare il vaccino contro il virus dell'epatite B, causa del carcinoma epatico. «Oltre al potenziamento del vaccino - conclude Belardelli - vogliamo ottenere la riduzione del numero di dosi necessarie per ottenere la risposta protettiva».

Da Avvenire
Lotta al cancro. Sperimentazione di nuovi vaccini
 17 aprile 2004, p. 2

... L'istituto Superiore di Sanità coordinerà la sperimentazione clinica di preparati che, sui topi di laboratorio, hanno dimostrato di provocare una efficace risposta delle naturali difese immunitarie con guarigioni da diverse forme tumorali tra l'80 e il 100% dei casi. La sperimentazione clinica sarà su due tipi di pazienti: sia malati di melanoma che sani e vaccinati contro il virus dell'epatite B, un virus coinvolto nella genesi del cancro al fegato. La novità sta nell'uso dell'interferone, un gruppo di proteine prodotte dalle cellule per difendersi dal virus: nel caso specifico l'interferone alfa. «Un'agenda di lavoro ricca di concrete promesse per la lotta al tumore - commenta Enrico Garaci, presidente dell'ISS - che conferma ancora una volta il duplice spi-



ficace risposta delle naturali difese immunitarie con guarigioni da diverse forme tumorali tra l'80 e il 100% dei casi. La sperimentazione clinica sarà su due tipi di pazienti: sia malati di melanoma che sani e vaccinati contro il virus dell'epatite B, un virus coinvolto nella genesi del cancro al fegato. La novità sta nell'uso dell'interferone, un gruppo di proteine prodotte dalle cellule per difendersi dal virus: nel caso specifico l'interferone alfa. «Un'agenda di lavoro ricca di concrete promesse per la lotta al tumore - commenta Enrico Garaci, presidente dell'ISS - che conferma ancora una volta il duplice spi-

rito dell'istituto, impegnato in ricerche i cui risultati sono in grado di tradursi in applicazioni terapeutiche».

... L'interferone alfa dovrebbe "mettere il turbo" ai vaccini. Spiega Filippo Belardelli, direttore del reparto di Immunoterapia Sperimentale: «Gli interferoni sono in grado di potenziare la risposta immune, collegando l'immunità innata, prima linea di difesa, con l'immunità acquisita». Per quanto riguarda le persone già affette da melanoma, dunque, la terapia prevede anche l'abbinamento della chemioterapia al vaccino rinnovato.

... La sperimentazione clinica sarà su una dozzina di pazienti dell'Istituto "Regina Elena" e al policlinico universitario di "Tor Vergata". Riguardo poi al potenziamento del vaccino dell'epatite B, l'ISS coordina la sperimentazione di studi clinici su 386 soggetti in Italia, Spagna e Inghilterra.

«Ciò che vogliamo ottenere - dice Belardelli - oltre al potenziamento del vaccino contro l'epatite B, è anche la riduzione del numero di dosi necessarie per ottenere la risposta protettiva.

Circa il 40-50% degli adulti sani non riceve, infatti, la terza dose di vaccino. Così i livelli anticorpali non garantiscono una protezione adeguata. L'obiettivo perciò è creare una protezione rapidamente e con una sola dose. Un grande vantaggio per i soggetti a rischio e per i Paesi in via di sviluppo, molto colpiti da carcinoma epatico.

... L'istituto Superiore di Sanità coordinerà la sperimentazione clinica di preparati che, sui topi di laboratorio, hanno dimostrato di provocare una efficace risposta delle naturali difese immunitarie con guarigioni da diverse forme tumorali tra l'80 e il 100% dei casi. La sperimentazione clinica sarà su due tipi di pazienti: sia malati di melanoma che sani e vaccinati contro il virus dell'epatite B, un virus coinvolto nella genesi del cancro al fegato. La novità sta nell'uso dell'interferone, un gruppo di proteine prodotte dalle cellule per difendersi dal virus: nel caso specifico l'interferone alfa. «Un'agenda di lavoro ricca di concrete promesse per la lotta al tumore - commenta Enrico Garaci, presidente dell'ISS - che conferma ancora una volta il duplice spi-

Da Repubblica Salute
All'ISS un centro per nuovi vaccini
 29 aprile 2004, p. 12

Nascerà entro la fine dell'anno, a Roma, presso l'Istituto Superiore di Sanità, il primo centro pubblico per la sperimentazione umana di vaccini per la cura dei tumori.

Nel centro saranno, in particolare, sviluppati due brevetti dell'ISS che dovrebbero essere in grado di indurre una risposta immunitaria contro cellule tumorali o contro virus coinvolti nella genesi di alcuni tumori. Si tratta di *trial* clinici riguardanti pazienti affetti da melanoma avanzato e altri che invece sono sani e che saranno vaccinati contro il virus dell'epatite B, coinvolto nella genesi del cancro del fegato, per verificarne la capacità di potenziare la risposta immunitaria. Per realizzare il progetto l'Istituto Superiore di Sanità coordina una serie di studi che si svolgono in tre diversi Paesi.



Istituto Superiore di Sanità

Viale Regina Elena, 299
00161 Roma
tel: +39 0649901

Il **Notiziario**
è a disposizione
per accogliere commenti
e suggerimenti
dei suoi lettori

Redazione del **Notiziario**

e-Mail: notiziario@iss.it
tel: +39 0649902945-2428
fax: +39 0649902253
<http://www.iss.it/notiziario>

