

# LIMITI DI ESPOSIZIONE ACUTA (AETL) PER LA POPOLAZIONE A SEGUITO DI RILASCIO DI ACRILONITRILE, 3,4-DICLOFENILISOCIANATO E FORATO

Manigrasso<sup>1</sup>, M., Vernale<sup>1</sup>, C., e P. Avino P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Chimico, DIPIA, ISPESL, via Urbana 167, Roma, 00184, Italia

## SOMMARIO

Il Progetto Europeo ACUTEX, inserito nel V Programma Quadro e frutto del lavoro di diversi enti di ricerca europei coordinati dall'INERIS, è stato sviluppato nel contesto dell'implementazione delle norme legate alla Direttiva Quadro 96/82/EC conosciuta come Seveso II. Uno degli obiettivi principali è stato di sviluppare un Documento Tecnico Guida (TGD) per stabilire, per determinate sostanze tossiche e/o molto tossiche, i Livelli di Soglia da Esposizione Acuta (AETL) a seguito di rilascio dopo incidente chimico.

Nello specifico, sono stati proposti tre livelli (AETL-1, AETL-2, AETL-3) ed un Livello di Percezione Sensoriale Distinta (LDSA) per 6 periodi di esposizione (10, 30, 60, 120, 240 e 480 minuti).

Gli AETL sono stati sviluppati per proteggere tutta la popolazione che può essere potenzialmente esposta. I dati per derivare gli AETL sono stati ottenuti dallo studio di casi di rilascio accidentale e da studi sperimentali di letalità e di tossicità non-letale su animali.

Le sostanze studiate sono l'acrilonitrile, il 3,4-diclofenilisocianato e il forato.

## 1.0 INTRODUZIONE

Il progetto europeo ACUTEX è nato nel contesto dell'implementazione della Direttiva Quadro 96/82/EC del 9 dicembre 1996, nota come Direttiva Seveso II sul controllo degli incidenti rilevanti che coinvolgono sostanze tossiche e molto tossiche [1].

Uno degli obiettivi di ACUTEX è di sviluppare un "Technical Guidance Document (TGD)", cioè una metodologia con un software associato, per stabilire i livelli di soglia di esposizione acuta ("Acute Exposure Threshold Levels", AETL) in caso di rilascio accidentale di sostanze chimiche [2].

Il TGD è uno strumento di supporto per derivare AETL che dovrebbero essere adottati dai vari paesi dell'Unione Europea come pianificazione del territorio e/o in situazioni di emergenza.

Gli AETL rappresentano i livelli soglia di esposizione per la popolazione e sono applicabili a periodi di esposizione che variano da 10 a 240 minuti. In quest'ottica, sono definiti tre livelli (AETL-1, AETL-2, AETL-3) ed un Livello di Percezione Sensoriale Distinta ("Level of Distinct Sensory Awareness", LDSA) per 6 periodi di esposizione (10, 30, 60, 120, 240, 480 minuti) e sono definiti nel seguente modo:

- AETL-3: massima concentrazione alla quale si prevede che la popolazione generale possa essere esposta fino ad uno specifico periodo senza subire effetti sulla salute. Con il parametro AETL-3a si è individuata la concentrazione aerodispersa a cui è predetto che, dopo un periodo di esposizione specificato, una certa percentuale della popolazione (1, 5 e 50%) subisca effetti letali, mentre AETL-3b si è individuata la massima concentrazione aerodispersa a cui viene predetto che la popolazione può essere esposta per un tempo di esposizione specificato senza che si verifichino effetti che siano letali o che mettano a rischio la vita;
- AETL-2: : massima concentrazione alla quale si prevede che la popolazione generale possa essere esposta fino ad uno specifico periodo senza subire o sviluppare effetti irreversibili o seri sulla salute incluso sintomi che possono impedire la fuga;
- AETL-1: : massima concentrazione alla quale si prevede che la popolazione generale possa essere esposta fino ad uno specifico periodo senza subire più di un debole e reversibile effetto sulla salute;

- **LDSA:** è la concentrazione a cui è prevista che una parte della popolazione generale possa avere stimoli sensoriali distinti (es. odore) che possono portare a panico, denunce pubbliche, ecc.

Gli AETL sono sviluppati per proteggere la popolazione generale.

Con questo quadro, sono state analizzate tre diverse sostanze tossiche, l'acrilonitrile, il 3,4-diclorofenilisocianato e il forato, ed in questo lavoro sono presentati i risultati significativi ottenuti. Le tre sostanze, tutte tossiche o molto tossiche, sono caratterizzate dalla scarsa disponibilità di dati in letteratura, documentazione che invece risulta abbondante per sostanze chimiche più classiche (es. ammoniaca, cloro, fenolo, fosgene, ecc.).

## 2.0 ACRILONITRILE

L'acrilonitrile è un liquido incolore con un caratteristico odore leggermente pungente. È facilmente infiammabile e può formare miscele esplosive con l'aria. Inoltre, l'acrilonitrile polimerizza in modo esplosivo in presenza di forte alcalinità (Tabella 1). L'acrilonitrile è una sostanza volatile tossica per gli animali e l'uomo. Sulla base di studi su animali ed uomo, si possono avere effetti acuti per inalazione, ingestione ed esposizione cutanea. È anche irritante per la pelle e per gli occhi ed ha proprietà sensibilizzanti per la pelle.

Tabella 1. Caratteristiche chimico-fisiche e relativo utilizzo dell'acrilonitrile.

Formula chimica	$C_3H_3N$	$H_2C=CH-CN$
Numero CAS	107-13-1	
Stato fisico	Liquido	
Proprietà chimiche	È facilmente infiammabile, può formare miscele esplosive con l'aria, polimerizza in maniera esplosiva in presenza di forte alcalinità	
Principali usi	Monomero nella produzione di materiali polimerici	

Nell'uomo, esposizioni gravi danno luogo a tremori, convulsioni, perdita di coscienza, arresto respiratorio e cardiaco e morte. Malfunzionamento respiratorio, cianosi delle labbra, e tachicardia sono stati tra i sintomi descritti prima della morte. I dati relativi a lavoratori esposti a basse concentrazioni di acrilonitrile riportano di effetti locali come ad esempio l'irritazione degli occhi, del naso, della gola e del tratto respiratorio, mal di testa, vertigini e debolezza degli arti.

Negli animali, i segnali clinici relativi ad un'esposizione acuta ad acrilonitrile possono essere suddivisi in quattro fasi. Immediatamente dopo la somministrazione i sintomi esordiscono con una fase di eccitazione. Segue una fase tranquilla con sintomi colinergici, presenza di salivazione, lacrimazione e defecazione. Segue una fase convulsiva che esita in una fase terminale che precede la morte in paralisi.

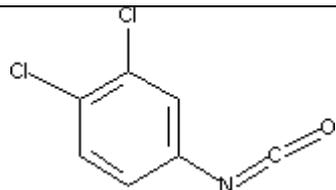
Dal punto di vista tossicocinetico, sono disponibili pochi dati in letteratura: il relativo profilo a seguito di esposizione inalatoria o somministrazione orale, è stato studiato nei ratti [3-5].

## 3.0 3,4-DICLOFENILISOCIANATO

Nella Tabella 2 sono riportati le caratteristiche chimico-fisiche ed i principali utilizzi del 3,4-diclorofenilisocianato. Dal punto di vista tossicologico è un forte irritante dei tessuti, in particolare occhi e mucose. Un'esposizione acuta a 3,4-diclorofenilisocianato può provocare bruciore e irritazione della pelle, degli occhi e delle mucose. Possono inoltre verificarsi stordimento, sonnolenza, difficoltà di eloquio, dilatazione della pupilla, aumento della salivazione, disfagia (difficoltà a deglutire), dolori addominali, vomito spontaneo; inoltre sono effetti comuni dispnea, respiro corto, edema polmonare. Infine, apatia e confusione mentale si possono sviluppare con possibile progressione fino al coma.

Per quanto riguarda la tossicocinetica del 3,4-diclorofenilisocianato, in letteratura non vi sono dati disponibili. In questo caso la sostanza è stata trattata come facente parte del gruppo degli isocianati, sostanze estremamente tossiche ed altamente reattive [6].

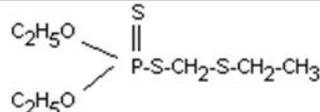
Tabella 2. Caratteristiche chimico-fisiche e relativo utilizzo del 3,4-diclorofenilisocianato.

Formula chimica	 $C_7H_3Cl_2NO$
Numero CAS	102-36-3
Stato fisico	Solido
Proprietà chimiche	<p>Decomposizione termica: se portato ad alta temperature in recipienti chiusi polimerizza. Sviluppa CO, CO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, HCN, HCl ed altre sostanze tossiche a seguito di decomposizione da fuoco o termica.</p> <p>Reazioni pericolose: il prodotto può reagire spontaneamente e violentemente con alcoli, acidi, ammine, sviluppando gas. Pericolo di esplosione.</p>
Principali usi	Utilizzato nella sintesi chimica (es. diuron, linuron, triclorocarbanilide)

#### 4.0 FORATO

Nella Tabella 3 sono riportati le caratteristiche chimico-fisiche ed i principali utilizzi del forato. Dal punto di vista tossicologico è un composto altamente tossico per gli animali. Sulla base di studi su animali e umani i suoi effetti acuti possono avvenire per inalazione, ingestione ed esposizione cutanea.

Tabella 3. Caratteristiche chimico-fisiche e relativo utilizzo del forato.

Formula chimica	 $C_7H_{17}O_2PS_3$
Numero CAS	298-02-2
Stato fisico	Liquido
Proprietà chimiche	<p>È miscibile negli alcoli, eteri, chetoni, esteri, tetracloruro di carbonio ed oli vegetali.</p> <p>È soggetto ad idrolisi in condizioni alcaline mentre è stabile in condizioni neutre ed acide.</p>
Principali usi	Insetticida ed acaricida sistemico ed a contatto

Negli esseri umani, gravi esposizioni hanno determinato l'inibizione della colinesterasi e i suoi effetti associati, che comprendono sintomi respiratori, nausea, confusione, e vomito.

La tossicità del forato è dovuta all'attività anticolinesterasica che è più forte nei suoi metaboliti. Secondo il solo studio disponibile in letteratura [7] eseguito su ratti, il forato è 2, 3 volte meno tossico negli uomini che nelle donne tramite tutte le vie di assorbimento eccetto l'inalazione, per la quale è 4 volte meno tossico.

#### 5.0 DETERMINAZIONE DEGLI AETL

La possibilità di condividere i dati su una stessa sostanza è una valutazione della qualità e dell'accettabilità dello studio di sicurezza che ha generato il dato. Tale valutazione, oltre a definire i criteri di accettabilità, permette anche una valutazione economica.

I dati di sicurezza vengono suddivisi in due categorie:

- dati su animali vertebrati: si intendono gli animali da laboratorio (topi, ratti, cavie, conigli, pesci, ecc.) che vengono normalmente utilizzati dai laboratori di ricerca per la sperimentazione tossicologica regolatoria;

- dati su animali invertebrati: si intendono tutti gli studi che utilizzano sistemi di saggio più semplici (alghe, daphnie, vegetali, microrganismi, colture batteriche).

In questa categoria vengono compresi ovviamente tutti gli studi “in vitro” ed i test chimico fisici. Mentre per i primi la condivisione di uno studio già disponibile è obbligatoria; per i secondi può essere facoltativa in quanto non implica lo spreco e la possibile inutile sofferenza di animali da laboratorio. Un prerequisito per la valutazione degli studi disponibili è stabilire la loro qualità scientifica.

Tre concetti vengono presi in considerazione nel processo che determina la qualità dei dati presenti: criterio di affidabilità (reliability), di rilevanza (relevance) e di adeguatezza (adequacy). Allo studio viene quindi assegnato studio un punteggio (scoring); esso determina la sua accettabilità per gli opportuni usi. Questa procedura ed i relativi termini sono stati definiti da Klimisch et al. in [8].

Secondo la metodologia ACUTEX gli studi sui ratti sono preferiti per sviluppare gli AETL. Per l’acrilonitrile vi sono principalmente due studi in letteratura, uno eseguito da Dudley e Neal [9] e l’altro eseguito da Appel et al. [10].

Secondo la valutazione Klimisch, ciascuno di essi sono affidabili con alcune restrizioni perché gli esperimenti sono ben descritti, il percorso utilizzato è lo stesso (inalazione) e le conseguenze sono ben segnalate, ma ciascuno di essi non è stato eseguito con l’attuale standard dei metodi moderni. Di conseguenza, è assegnato un codice Klimisch 2 (“studio affidabile con restrizioni”, cioè studio/dati i cui parametri non sono conformi ad una specifica linea guida ma sono sufficienti per accettare i dati) a Dudley e Neal ed un codice Klimisch 2 ad Appel et al.. La differenza tra loro è il numero di animali interessati, la consistenza dei gruppi e le diverse concentrazioni impiegate: tutti questi dati sono favorevoli allo studio di Dudley e Neal.

Nella Tabella 1 sono riportati gli AETL-3a e AETL-3b estrapolati considerando la ref. 9.

Tabella 1. AETL-3a per l’acrilonitrile.

<b>AETL-3a per Acrilonitrile</b>						
<b>Tempo (min)</b>	10	30	60	120	240	480
<b>LC<sub>01</sub> (ppm)</b>	1900	650	330	170	86	44
<b>LC<sub>05</sub> (ppm)</b>	2200	780	390	200	100	52
<b>LC<sub>50</sub> (ppm)</b>	3400	1100	600	300	150	80
<b>Time (min)</b>	10	30	60	120	240	480
<b>AETL-3b (ppm)</b>	570	190	100	51	26	13
<b>AETL-2 (ppm)</b>						
<b>AETL-1 (ppm)</b>						
<b>LDSA (ppm)</b>						

Situazione totalmente differente invece per le altre due sostanze per le quali non sono disponibili in letteratura dati sufficienti e/o validi metodologicamente per effettuare una simile valutazione.

## 6.0 CONCLUSIONE

La metodologia ACUTEX è stata impiegata con successo per lo sviluppo di AETL di alcune sostanze tossiche e molto tossiche della Direttiva Seveso II. Questa metodologia si è dimostrata efficace nello sviluppare livelli di soglia di esposizione rispetto a problematiche fondamentali quali la pianificazione del territorio e le situazioni di emergenza.

## RIFERIMENTI

- [1] P. Avino, C. Andenna, F. Draicchio, G. Ludovisi, S. Palmi, Esposizione Acuta ad Agenti Chimici: il Progetto Europeo ACUTEX ed il Ruolo dell'ISPESL, Atti del Convegno Nazionale "9° Convegno di Igiene Industriale – Le Giornate di Corvara" (Ed. R. Vistocco), Corvara, 19-21 marzo 2003, Atti pagg. 101-104.
- [2] Manigrasso, M., Ludovisi, G., Avino, P., Il Progetto Europeo ACUTEX e lo Sviluppo di una Metodologia per la Definizione di Valori Limite di Esposizione Inalatoria Acuta (AETLs), Atti del Convegno Nazionale Valutazione e Gestione del Rischio negli Insediamenti Civili ed Industriali, 19-21 Ottobre 2004, Pisa.
- [3] Kedderis, G.L., Roberts A.E., Turner, Jr. M.J., Held, S.D., Urinary Metabolites of Acrylonitrile. Abstracts of the 12<sup>th</sup> Annual CIIT Scientific Evening 16, 1988.
- [4] Pilon, D., Roberts, A.E., Rickert, D.E., Effect of Glutathione Depletion on the Irreversible Association of Acrylonitrile with Tissue Macromolecules after Oral Administration to Rats, Toxicol. Appl. Pharmacol., 95, 1988, 311-320.
- [5] Ahmed, A.E., Farooqui, M.Y.H., Upreti, R.K., El-Shabrawy, O., Distribution and Covalent Interactions of (1-14C) Acrylonitrile in the Rat, Toxicology, 23, 1982, 159-175.
- [6] Rosenberg, C., Savolainen, H., Detection of Urinary Amine Metabolites in Toluene Diisocyanate Exposed Rats, Chromatography, 323, 1985, 429-433.
- [7] Newell, G., Dilley, J., Teratology and Acute Toxicology of Selected Chemical Pesticides Administered by Inhalation. By Stanford Research Institute. Research Triangle Park, NC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Health Effects Research Laboratory, 1978. Master Record Identifier: 126343.
- [8] Klimisch, H.J., Andreae, E., and Tillmann, U., A Systematic Approach for Evaluating the Quality of Experimental and Ecotoxicological Data, Reg. Tox. Pharm., 25, 1997, 1-5.
- [9] Dudley, H.C., and Neal, P.A., Toxicology of Acrylonitrile (Vinyl Cyanide). I. Study of the Acute Toxicity, J. Ind. Hyg. Toxicol., 24(2), 1942, 27-36.
- [10] Appel, K.E., Peter, H., and Bolt, H.M., Effect of Potential Antidotes on the Acute Toxicity of Acrylonitrile, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 49, 1982, 157-163.