

L. Soleo<sup>1</sup>, G. Elia<sup>2</sup>, A. Russo<sup>1</sup>, N. Schiavulli<sup>1</sup>, G. Lasorsa<sup>1</sup>, A. Mangili<sup>3</sup>, E. Gilberti<sup>3</sup>, A. Ronchi<sup>4</sup>, C. Balducci<sup>5</sup>, C. Minoia<sup>4</sup>, C. Aprea<sup>6</sup>, G.F. Sciarra<sup>6</sup>, T. Valente<sup>7</sup>, C. Fenga<sup>8</sup>

## Valori di riferimento del mercurio urinario nella popolazione italiana

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica - Sezione di Medicina del Lavoro - Università di Bari

<sup>2</sup> Centro di Igiene Ambientale - Fondazione S. Maugeri - Bari

<sup>3</sup> Istituto di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale - Università di Brescia

<sup>4</sup> Laboratorio di Igiene Occupazionale e Ambientale - Fondazione S. Maugeri - Pavia

<sup>5</sup> Laboratorio di Tossicologia Ambientale - AUSL - Pesaro

<sup>6</sup> Laboratorio di Tossicologia Ambientale - AUSL - Siena

<sup>7</sup> Istituto di Medicina del Lavoro - Università di Genova

<sup>8</sup> Istituto di Medicina del Lavoro - Università di Messina

**RIASSUNTO.** Il presente lavoro descrive i risultati di uno studio policentrico condotto allo scopo di definire i valori di riferimento di Hg urinario (Hg-U) nella popolazione italiana. In quattro centri di campionamento: Bari, Brescia, Genova e Siena, sono stati esaminati 374 soggetti. A ciascun partecipante allo studio è stato somministrato un questionario con domande riguardanti lo stile di vita, le abitudini alimentari, le pregresse esposizioni professionali e non professionali a mercurio e la storia clinica; per tutti è stato inoltre verificato il numero e la superficie degli amalgami dentari. La determinazione di Hg-U è stata effettuata su campioni di urine estemporanei con il metodo HG-AAS e per ridurre la variabilità intraindividuale nell'escrezione di Hg, è stata determinata la creatinina urinaria. I valori di riferimento di Hg-U sono risultati i seguenti: 0.21-3.20 µg/g creat (5° e 95° percentile) e 0.12-6.04 µg/g creat (range). L'eliminazione urinaria di Hg-U nella popolazione in studio è risultata essere significativamente influenzata da un'elevata presenza di amalgami dentari, da un elevato consumo di pesce con la dieta e da un basso indice di massa corporea. I limiti di riferimento ottenuti nella studio policentrico sono sovrapponibili a quelli riscontrati in altri paesi europei, mentre il valore medio di Hg-U rilevato nella popolazione italiana di riferimento è risultato più basso.

**Parole chiave:** valori di riferimento, mercurio urinario, HG-AAS.

**ABSTRACT.** *www.gimle.fsm.it* - This paper shows the results of a polycentric study performed to assess the reference values of urinary mercury (U-Hg) in Italian population. 374 subjects from four Italian cities (Bari, Brescia, Genova e Siena) have been examined. A questionnaire on life style, dietary habits, occupational or environmental exposure to Hg and clinical history has been administered to every participant and number and surface of dental amalgams have been verified for all subjects. The determination of U-Hg has been performed on urinary extemporaneous samples by hydride generation atomic absorption method (HG-AAS); urinary creatinine has been determined to reduce the intraindividual variability. U-Hg reference values were: 0.21-3.20 µg/g creat (5° and 95° percentile) and 0.12-6.04 µg/g creat (range). Moreover study results have shown that number and surface of dental amalgams, dietary fish intake and body mass index (BMI) influenced significantly U-Hg excretion. U-Hg reference values from this polycentric study resulted comparable to those assessed in other European countries, whereas the mean U-Hg observed in the referent Italian population was lower.

**Key words:** reference values, urinary mercury, HG-AAS.

### Introduzione

Dopo aver definito i valori di riferimento italiani del cromo urinario, del 2,5-esandione urinario e dell'etilentiourea urinaria, la Società Italiana per i Valori di Riferimento (SIVR) ha studiato i valori di riferimento del mercurio urinario (Hg-U) (2,4,9,15). L'importanza di disporre dei valori di riferimento di metalli, solventi, pesticidi, ecc. in medicina occupazionale e ambientale è legata fondamentalmente alla possibilità di avere valori di indicatori biologici con cui confrontare i risultati del monitoraggio biologico dell'esposizione a basse dosi di xenobiotici ed evidenziare sovraesposizioni di origine sconosciuta (3, 25).

Il mercurio (Hg) è un metallo non essenziale e non cancerogeno di origine sia professionale che ambientale (13). L'esposizione professionale anche a dosi molto basse di mercurio inorganico è in grado di provocare effetti tossici, in particolare sul sistema immunitario (chemiotassi) (22). L'indicatore biologico specifico largamente utilizzato per monitorare l'esposizione professionale a mercurio inorganico è rappresentato da Hg-U (6). Sono numerose le fonti di esposizione ambientale a mercurio inorganico capaci di condizionare i livelli di Hg-U nella popolazione generale non professionalmente esposta. Tra queste occorre in particolare considerare gli amalgami dentari che determinano un intake di mercurio metallico variabile tra 2 e 25 µg/die e il consumo con la dieta di pesci predatori (tonno, pesce spada e spigola di mare), cereali e verdure con un intake compreso tra 5 e 10 µg/die rappresentato soprattutto da composti organici di Hg (5, 10, 19, 23, 24).

Il presente lavoro descrive i risultati di uno studio policentrico condotto allo scopo di definire i valori di riferimento di Hg-U nella popolazione italiana.

### Materiali e metodi

#### Campione esaminato

In 4 centri di reclutamento (Bari, Brescia, Genova e Siena) sono stati selezionati 398 soggetti (206 uomini e 192 donne). I criteri di selezione prevedevano per entrambi i

sessi: età compresa tra 18 e 65 anni, assenza di esposizione occupazionale a mercurio e numero di soggetti che fossero rappresentativi delle seguenti fasce di età 19-31, 32-44, 45-55, 56-65 anni. Tutti i soggetti sono stati informati sullo scopo dello studio ed hanno fornito il consenso a partecipare. Ad essi è stato somministrato un questionario con domande sui dati personali, stile di vita, abitudini alimentari e malattie renali (Tabella I). Un medico ha esaminato la cavità orale di tutti i soggetti per verificare il numero di amalgami dentari e per misurare la superficie degli stessi. Quest'ultima operazione è stata effettuata utilizzando uno specchio dentale con all'estremità fissate superfici standard di 1, 4, 9, 16 e 25 mm<sup>2</sup> che venivano posizionate sugli amalgami e per confronto si definiva la superficie degli stessi.

In base ai risultati del questionario 7 uomini e 4 donne sono state escluse dallo studio perché abitavano in prossimità di zone industriali ove vi erano fabbriche che esponevano a rischio da mercurio.

### Raccolta delle urine

I campioni di urine (secondo urine della mattina) sono stati raccolti in contenitori di polietilene tra le 8.30 e le 10.30 di mattina. Essi sono stati immediatamente trasferiti in 3 provette graduate di polietilene (12 ml), dove erano stati aggiunti 200 mg di acido sulfammico (Sigma-Aldrich) come conservante. Le provette sono state mantenute a +4° C ed inviate ai laboratori di tossicologia industriale del Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica dell'Università di Bari, dell'Istituto di Medicina del Lavoro dell'Università di Brescia e della Fondazione S. Maugeri di Pavia, dove sono state analizzate entro 3 giorni dalla raccolta.

### Analisi dei campioni

Hg urinario è stato determinato nei tre laboratori con il metodo in assorbimento atomico e la tecnica dei vapori freddi (HG-AAS), che è il metodo analitico più comu-

**Tabella I. Dati raccolti per mezzo del questionario somministrato ai soggetti in studio**

-	Data di raccolta del campione			
-	Numero identificativo			
-	Dati personali			
	Nome			
	Indirizzo			
	Data di nascita			
	Sesso	<input type="checkbox"/> F	<input type="checkbox"/> M	
	Peso in kg			
	Altezza in m			
-	Tipo di residenza	<input type="checkbox"/> industriale <sup>a</sup>	<input type="checkbox"/> urbana <sup>b</sup>	<input type="checkbox"/> rurale <sup>c</sup>
-	Presenza e tipo di attività industriale vicino all'abitazione			
-	Attività lavorativa attuale			
-	Hobbies che espongono a mercurio			
-	Numero di amalgami dentari			
-	Superficie degli amalgami dentari in mm <sup>2</sup>			
-	Inserimento/rimozione di amalgami dentari negli ultimi due mesi	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	
-	Difficoltà a respirare con il naso	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	
-	Bruxismo	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	
-	Uso abituale di chewing-gum	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	
-	Quantità e tipo (minerale, da acquedotto, da pozzi) di apporto idrico giornaliero			
-	Vino	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> ≤1/2 l/die	<input type="checkbox"/> >1/2 l/die
-	Abitudine al fumo	<input type="checkbox"/> No <sup>d</sup>	<input type="checkbox"/> ≤15 sigarette <sup>e</sup> /die	<input type="checkbox"/> >15 sigarette/die
-	Numero di pasti a base di pesce alla settimana	<input type="checkbox"/> 1 volta/mese	<input type="checkbox"/> 2 volte/mese	<input type="checkbox"/> 1-3 volte/settimana o più
-	Uso di creme per la pelle	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	
-	Uso di lenti a contatto	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	
-	Uso di farmaci omeopatici o di integratori dietetici	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	
-	Pregresse malattie renali	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	

<sup>a</sup> Residenza distante <500m da un'area industriale  
<sup>b</sup> Residenza distante >500m da un'area industriale  
<sup>c</sup> Area extraurbana con traffico veicolare scarso e bassa densità di popolazione  
<sup>d</sup> Considerare gli ex fumatori come non fumatori, se hanno smesso di fumare da più di 1 anno  
<sup>e</sup> Inserire in questo gruppo i fumatori di sigaro o di pipa; se fumatori sia di sigaro/pipa e sigarette, inserire nella categoria successiva

nemente usato in quest'area di ricerca. Poiché è stato previsto che alcuni campioni di urine avrebbero potuto avere una concentrazione di Hg inferiore al limite di rilevanza del metodo spettrofotometrico (0.5 µg/L), nel laboratorio di Brescia Hg-U è stato determinato anche con il metodo ICP-MS, che permette di misurare concentrazioni più basse di un ordine di grandezza (0.03 µg/L). Le attrezzature e le procedure analitiche sono mostrate nella Tabella II.

Prima di procedere all'analisi dei campioni con il metodo HG-AAS è stato organizzato un controllo interlaboratoriale tra Bari, Brescia e Pavia per standardizzare il metodo. Esso ha mostrato un coefficiente di variabilità compreso tra il 9.2% e l'11.3% per concentrazioni urinarie di 2-3 µg/L.

Per l'analisi statistica dei valori di Hg-U ottenuti con il metodo HG-AAS, poiché i risultati si riferivano a tre diversi laboratori, è stato considerato il valore mediano dei tre laboratori se lo scostamento percentuale tra i valori era inferiore al 30% o il valore medio dei due laboratori che avevano fornito i valori più vicini. Sono stati considerati non dosabili (ND) i valori < 0.5 µg/L osservati in almeno 2 laboratori. Per i valori ND ai fini dell'analisi statistica è stato imputato 0.25 µg/L. Nella Tabella III compare la frequenza di casi non dosabili per centro di campionamento.

Per ridurre la variabilità intraindividuale nell'escrezione di Hg-U è stata determinata la creatinina urinaria. Allo scopo di eliminare anche la variabilità interlaboratoriale della creatinina urinaria, questa è stata determinata soltanto nel laboratorio dell'Università di Bari con il metodo di Jaffè (8).

#### Analisi statistica

I dati raccolti con il questionario e i valori di Hg-U e di creatinina urinaria sono stati analizzati con il sistema SPSS (16). La distribuzione normale dei valori è stata verificata con il test di Kolmogorof-Smirnov. I dati che non si distribuiscono normalmente sono stati log-trasformati e quindi analizzati.

Il confronto fra le medie è stato effettuato con il t-test o con l'analisi della varianza e le correlazioni tra variabili con il test di Pearson. L'analisi di regressione multipla è stata eseguita usando i valori di Hg-U come variabile dipendente e i livelli delle altre variabili continue come variabili indipendenti. Per tutti i test è stato considerato significativo un valore di p uguale o inferiore a 0.05.

Prima di procedere all'analisi statistica dei dati è stato valutato se esprimere i limiti di riferimento di Hg urinario in µg/L o in µg/g creat. È stato così verificato che se si

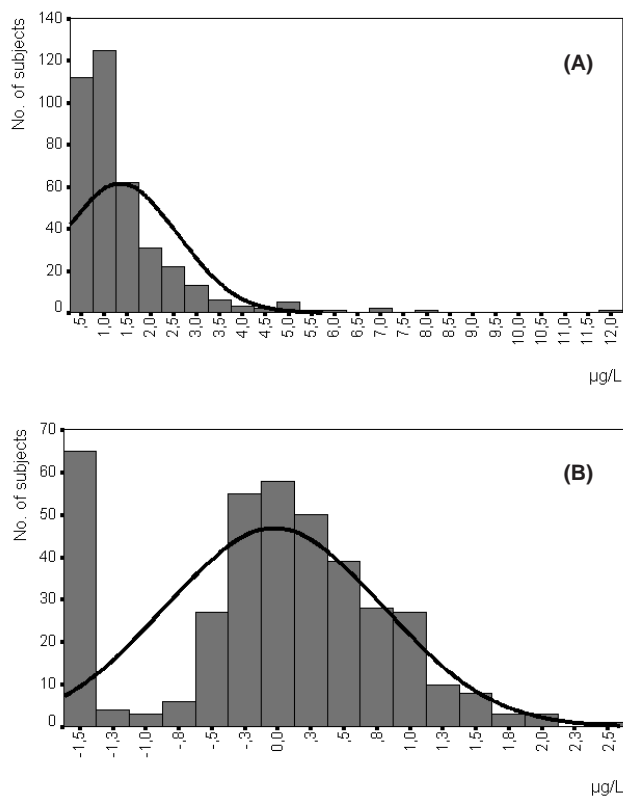
**Tabella II. Metodi di analisi del mercurio urinario**

	HG AAS	FI IPC MS
Attrezzatura	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Assorbimento atomico mod. 5100 zl e generatore di idruri MHS-10 (entrambi Perkin Elmer)</li> <li>- Spectraa 400 e VG70 per la generazione di idruri</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ELAN 5000</li> <li>- FIAS 400 (Perkin Elmer)</li> </ul>
Condizioni strumentali	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tempo di lettura: 10 sec.</li> <li>- Temperatura della cella: <math>\approx</math> 250°</li> <li>- Gas di trasporto: argon</li> <li>- Lunghezza d'onda: 253.7 nm senza correttore del fondo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Flusso di plasma: 15 L/min</li> <li>- Flusso di nebulizzazione: 0.825 L/min</li> <li>- Flusso ausiliario: 0.8 L/min</li> <li>- Potenza RF: 1100 Watts</li> <li>- Voltaggio CEM: 3.7 Kv</li> <li>- Flusso del campione: 0.9 ml/min</li> </ul>
Reagenti	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sodio boro idruro (Sigma-Aldrich) al 3%</li> <li>- Idrossido di sodio (Carlo Erba) all'1%</li> <li>- Silicone antischiuma (Baker)</li> <li>- Acido nitrico conc. per metalli (Baker Instra Analyzed)</li> <li>- Acqua distillata (SIFRA)</li> <li>- Hg standard (BDH)</li> <li>- Permanganato di potassio 5% a basso contenuto di Hg (Sigma-Aldrich)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 mg/ml HgCl<sub>2</sub> soluzione standard</li> <li>- 0.3% NaBH<sub>4</sub> in soluzione di NaOH 5%</li> <li>- Acido cloridico in soluzione 3%</li> <li>- Silicone antischiuma Perkin Elmer per analisi MHS</li> </ul>
Preparazione	<p>A 5 ml di urina sono stati aggiunti nell'ordine:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a) 0.2 ml di acido nitrico</li> <li>b) 0.025 ml di silicone antischiuma</li> <li>c) 0.1 ml di permanganato di potassio 5%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 gocce di silicone antischiuma e 100 µl di HNO<sub>3</sub> sono stati aggiunti a 5 ml di urine e quindi agitati energicamente</li> <li>- il campione è stato aspirato e miscelato con NaBH<sub>4</sub> e HCl tramite FIAS per la produzione dei valori (loop 200 µl)</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 gocce di silicone antischiuma, 200 µl di KmnO<sub>4</sub> e 400 µl di HNO<sub>3</sub> 65% sono stati aggiunti al campione e quindi agitati energicamente</li> <li>- l'analisi è stata ripetuta 3 volte e la concentrazione è stata calcolata con la curva di calibrazione</li> </ul>
Curva di calibrazione	Aggiunte standard di 2, 5 e 10 µg/L	Aggiunte standard di 0.1, 1, 5 e 10 µg/L
Reference del materiale	Materiale certificato da German Soc. Occ. Env. Med. 2-3 µg/L	Materiale certificato da German Soc. Occ. Env. Med. 2-3 µg/L
Limite di rilevanza	0.5 µg/L	0.03 µg/L

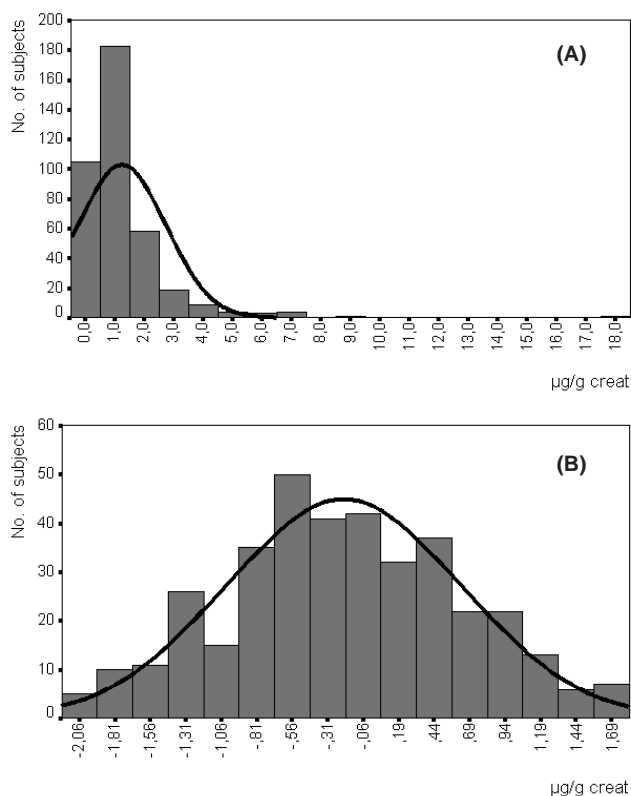
**Tabella III. Frequenza di casi di Hg-U non dosabili con il metodo HG-AAS per centro di campionamento**

	TOTALE CONSIDERATI	PERCENTUALE DI CASI NON DOSABILI
BARI	101	5.9
BRESCIA	90	26.7
GENOVA	98	12.2
SIENA	98	16.3
TOTALE	387	14.9

esprimevano i valori di Hg-U in  $\mu\text{g/L}$  con i valori tal quali (Figura 1A) o con i valori log-trasformati (Figura 1B) si aveva nella parte destra della curva di distribuzione di frequenza una colonna che raggruppava tutti i valori ND e la distribuzione rimaneva comunque asimmetrica a destra. Se invece Hg-U si esprimeva in  $\mu\text{g/g creat}$  (Figura 2A), la curva di distribuzione rimaneva ancora asimmetrica a destra, ma si riduceva la colonna dei valori ND. L'esclusione dei valori di Hg-U in  $\mu\text{g/g creat}$  log-trasformati del primo e dell'ultimo percentile (13 soggetti, di cui 6 donne e 7 uomini) (Figura 2B) ha consentito una migliore rispondenza della curva di distribuzione ai requisiti di skewness and kurtosis. In tale maniera inoltre è stata ridimensionata la colonna dei valori ND e da un punto di vista biologico Hg-U è stato espresso in funzione della capacità di filtrazione renale. Pertanto per l'analisi statistica dei dati è stato considerato Hg-U espresso in  $\mu\text{g/g creat}$ .



**Figura 1. Distribuzione dei valori di mercurio urinario in  $\mu\text{g/L}$  tal quali (A) e log-trasformati (B)**



**Figura 2. Distribuzione dei valori di mercurio urinario in  $\mu\text{g/g creatinina}$  tal quali (A) e log-trasformati (B)**

## Risultati

I soggetti di riferimento sui quali sono stati definiti i valori di riferimento di Hg-U sono stati complessivamente 374 (192 uomini e 182 donne). Nella Tabella IV è riportata la distribuzione per centro di campionamento e per sesso dei soggetti inclusi nello studio. Non è stata osservata alcuna differenza per quanto riguarda l'età tra uomini e donne. La prevalenza delle principali variabili rilevate con il questionario o con l'esame ispettivo della cavità orale appare nella Tabella V. In essa si rileva in particolare che è molto frequente nella dieta dei soggetti di riferimento il consumo di pesce e che in tutti i centri la maggior parte dei soggetti di riferimento è portatore di amalgami dentari. La Tabella VI riporta la distribuzione del numero e delle superfici degli amalgami dentari per centro di campionamento. È stata osservata una buona correlazione tra il numero e la superficie degli amalgami dentari ( $r=0.627$ ;  $t=13.1$ ;  $p=0.000$ ).

I valori di riferimento di Hg-U nella popolazione italiana, espressi come limiti aritmetici, sono stati: 0.21 - 3.20  $\mu\text{g/g creat}$  (5° e 95° percentile) e 0.12 - 6.04  $\mu\text{g/g creat}$  (range) (Tabella VII). Nella tabella sono anche riportati i limiti di riferimento per centro di campionamento delle urine. Per 265 soggetti di riferimento Hg-U è stato determinato sinora anche con il metodo ICP-MS. Tra i valori di Hg-U ottenuti con i due metodi è stata osservata una buona correlazione ( $r=0.825$ ;  $t=41.73$ ;  $p=0.000$ ).

**Tabella IV. Distribuzione dell'età per sesso e per centro di campionamento dei soggetti in studio**

Centro	Totale	Età (anni)		Uomini	Età (anni)		Donne	Età (anni)	
		Media	SD		Media	SD		Media	SD
Bari	98	43.6	12.5	52	43.4	12.1	46	44.8	12.9
Brescia	85	39.7	8.8	44	44.0	7.4	41	35.1	7.9
Genova	95	37.1	13.2	49	34.8	13.2	46	39.6	12.9
Siena	96	43.2	13.1	47	44.9	12.5	49	41.5	13.5
Totale	374	41.0	12.4	192	41.7*	12.2	182	40.4	12.5

\* t = 1.03; p = 0.305

**Tabella V. Prevalenza delle differenti variabili nei soggetti di riferimento distribuite per centro di campionamento**

Centro	Soggetti con bruxismo		Soggetti con uso abituale di chewing-gum		Pasti con pesce almeno una volta/settimana		Residenza urbana e Industriale		Fumatori		Bevitori		Soggetti con amalgami dentari	
	N.	%	N.	%	N.	%	N.	%	N.	%	N.	%	N.	%
Bari	15	15.3	22	22.4	82	83.7	96	97.9	25	25.5	33	33.7	88	89.8
Brescia	15	17.6	19	22.3	16	18.8	59	69.4	18	21.2	35	41.2	66	77.6
Genova	14	14.7	42	44.2	58	61.0	88	92.6	35	36.8	27	28.4	74	77.9
Siena	21	21.9	28	29.2	42	43.7	80	83.3	39	40.6	54	56.2	67	69.8
Totale	65	17.4	110	29.4	198	52.9	323	86.4	118	31.5	149	39.8	286	76.5

**Tabella VI. Numero e superficie (mm<sup>2</sup>) degli amalgami dentari per centro di campionamento**

Centro	N. di soggetti	Numero di amalgami dentari			Superficie di amalgami dentari		
		Media	SD	Intervallo	Media	SD	Intervallo
Bari	77	4.1	2.7	1-13	74	72	4-496
Brescia	67	5.8	3.2	1-16	82	47	9-236
Genova	75	4.4	2.9	1-15	83	55	16-368
Siena	67	4.4	3.1	1-15	174	136	9-630
Totale	286	4.6	3.0	1-16	103	95	4-630

**Tabella VII. Valori di riferimento di Hg-U (µg/g creat) per centro di campionamento e nella popolazione italiana**

Centro	N. di Soggetti	Media	SD	Percentili			Intervallo
				5	50	95	
Bari	98	0.92	0.72	0.21	0.66	2.44	0.16-4.08
Brescia	85	0.80	0.68	0.17	0.59	1.88	0.12-4.90
Genova	95	1.59	1.35	0.12	1.06	6.04	0.12-6.04
Siena	96	1.27	1.04	0.17	0.89	3.63	0.12-4.85
Totale	374	1.15	1.03	0.21	0.79	3.2	0.12-6.04

Allo scopo di studiare i fattori ambientali e personali che si associavano ad una maggiore eliminazione urinaria di mercurio, per ogni variabile studiata è stata eseguita una suddivisione dei soggetti di riferimento in classi dicotomiche o continue (Tabella VIII). È risultato che il sesso non si associa all'eliminazione urinaria di mercurio. L'età ha evidenziato una differenza nell'eliminazione urinaria di Hg tra le classi, ma la mancanza di un trend nell'eliminazione di Hg all'aumentare e al diminuire dell'età rende la differenza osservata non associata all'età stessa. Anche il

bruxismo, la residenza, il fumo di sigaretta ed il consumo di alcol non hanno mostrato associazione con l'eliminazione urinaria di Hg nei soggetti di riferimento. L'uso regolare di chewing-gum, il consumo abituale di pesce, il BMI, il numero di amalgami e la loro superficie sono risultati invece associati all'eliminazione urinaria di Hg.

L'analisi per valutare gli effetti delle variabili continue sull'escrezione urinaria di Hg è stata eseguita con la regressione multipla lineare usando i valori di Hg-U come variabile dipendente ed età, BMI, abituale consumo di pesce e su-

Tabella VIII. Valori di Hg-U nei soggetti di riferimento distribuiti per le diverse classi di variabili studiate

Variabili	N. Soggetti	Hg-U $\mu\text{g/g creat}$ percentili						t/F	p
		Media	SD	5°	50°	95°	Intervallo		
Sesso									
- Femmine	182	1.26	1.17	0.18	0.83	4.06	0.12-5.64	1.11	0.266
- Maschi	192	1.04	0.87	0.21	0.75	2.92	0.12-6.04		
Età (anni)									
- 18-30	88	1.32	1.17	0.27	0.89	4.04	0.17-6.04	4.49	0.004
- 31-40	96	1.21	1.02	0.17	0.93	3.31	0.13-5.64		
- 41-50	99	0.89	0.95	0.18	0.63	2.50	0.12-5.38		
- 51-65	91	1.19	1.02	0.20	0.79	3.67	0.12-4.85		
Bruxismo									
- No	309	1.14	1.04	0.21	0.78	3.15	0.12-6.04	0.15	0.877
- Si	65	1.19	1.05	0.18	0.86	3.81	0.12-4.14		
Uso abituale di chewing-gum									
- No	264	1.10	1.01	0.21	0.72	3.18	0.12-6.04	2.40	0.017
- Si	110	1.28	1.07	0.20	0.96	3.69	0.14-5.64		
Numero di pasti a base di pesce/settimana									
- 0.25	51	0.87	0.72	0.15	0.63	2.7	0.12-3.06	14.48	0.000
- 0.5	125	1.01	0.92	0.17	0.67	3.17	0.12-4.90		
- 1+	198	1.31	1.09	0.25	0.95	5.00	0.12-6.04		
Residenza									
- Rurale	51	1.01	0.77	0.17	0.76	2.79	0.12-3.82	0.64	0.524
- Industriale/urbana	323	1.17	1.06	0.21	0.80	3.32	0.12-6.04		
Fumo di sigarette									
- No	256	1.18	1.02	0.24	0.85	3.30	0.16-6.04	1.72	0.087
- Si	118	1.09	1.06	0.15	0.67	3.21	0.12-5.64		
Assunzione di alcol									
- No	225	1.19	1.07	0.21	0.86	3.30	0.12-6.04	1.04	0.297
- Si	149	1.10	0.99	0.19	0.76	3.27	0.12-5.64		
BMI									
- <22	111	1.31	1.22	0.19	0.90	4.28	0.14-6.04	4.14	0.017
- 22-26	168	1.19	1.02	0.20	0.80	3.23	0.12-5.64		
- >26	95	0.90	0.70	0.21	0.66	2.24	0.12-3.78		
N. di amalgami dentari									
- 0	88	0.89	0.79	0.18	0.66	2.45	0.12-4.85	5.75	0.004
- 1-3	125	1.11	0.94	0.18	0.73	3.47	0.12-4.14		
- 4+	161	1.32	1.18	0.20	0.97	4.27	0.14-6.04		
Superficie amalgami dentari									
- 0	88	0.89	0.79	0.19	0.66	2.44	0.12-4.86	6.67	0.000
- <80	153	1.07	0.96	0.20	0.68	3.15	0.14-5.38		
- 80-120	49	1.33	1.32	0.17	1.04	5.45	0.17-6.04		
- 120+	84	1.46	1.05	0.27	1.19	3.63	0.12-5.64		

perficie amalgami come variabili indipendenti. Nel modello non è stato inserito come variabile indipendente il numero di amalgami dentari per la stretta correlazione esistente tra il numero di amalgami e la loro superficie. Nel modello di regressione multipla considerato (modello:  $t=10.5$ ;  $p=0.000$ ) le variabili indipendenti che hanno mostrato condizionare la eliminazione urinaria di Hg sono state il BMI ( $t=3.24$ ;  $p=0.000$ ), l'abituale consumo di pesce ( $t=3.63$ ;  $p=0.000$ ) e la superficie degli amalgami ( $t=2.83$ ;  $p=0.005$ ), mentre l'età non ha mostrato avere questo effetto ( $t=0.47$ ;  $p=0.63$ ). L'equazione che spiega l'eliminazione urinaria di Hg condizionata dalle variabili anzidette è la seguente:

$$\text{Hg} = 1.853 - 0.047 \times \text{BMI} + 0.232 \times \text{consumo abituale pesce} + 0.0015 \times \text{superficie amalgami}$$

## Discussione

Questa ricerca policentrica svolta dalla Società Italiana per i Valori di Riferimento, in cui sono stati controllati i fattori preanalitici ed analitici di confondimento, ha permesso di definire i valori di riferimento italiani di Hg-U. Essi sono espressi dai limiti di riferimento rappresentati dal 5° e 95° percentile: 0.21-3.20  $\mu\text{g/g creatinina}$  o dal range: 0.12-6.04  $\mu\text{g/g creatinina}$ .

I valori di riferimento osservati nella popolazione italiana sono pressoché sovrapponibili a quelli riscontrati in altri paesi europei, variabili da poco meno di 1  $\mu\text{g/g creatinina}$  a livelli prossimi a 10  $\mu\text{g/g creatinina}$ , mentre il valore medio di Hg-U rilevato nella popolazione italiana di riferi-

mento è risultato più basso (1, 11, 14, 17, 20). Questa ultima differenza probabilmente deriva da fattori ambientali legati alle caratteristiche dell'area geografica nella quale sono stati selezionati i soggetti di riferimento e dalle differenti tecniche analitiche utilizzate nei diversi laboratori.

Gli amalgami dentari rappresentano una delle principali fonti di esposizione non professionale a Hg per l'organismo umano, come segnalato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (24). Questo dato è confermato dal nostro studio, che ha mostrato come gli amalgami dentari condizionano l'eliminazione urinaria del metallo. Per quanto riguarda i fattori che possono favorire il rilascio di Hg metallico dagli amalgami dentari, solo l'uso di chewing-gum sembra associato all'eliminazione urinaria di Hg. Secondo alcuni Autori, infatti, l'emissione di Hg metallico dagli amalgami dentari dentro la cavità orale in soggetti consumatori abituali di chewing-gum giustifica un apporto nell'escrezione urinaria di Hg di circa 0.5 µg/24 ore (18,19). Non è risultata alcuna associazione, invece, tra eliminazione urinaria di Hg e bruxismo, a differenza di quanto osservato da altri Autori (7) e tra eliminazione urinaria di Hg e consumo di alcol. A riguardo esistono segnalazioni sperimentali che attribuiscono all'alcol un certo ruolo nel ridurre l'assorbimento dei vapori di mercurio a causa di un effetto inibitore esercitato sulla catalasi, enzima responsabile dell'ossidazione di Hg elementare in una forma che si lega facilmente ai tessuti (12).

Il consumo di pesce condiziona l'eliminazione urinaria di Hg nella popolazione di riferimento italiana. Questo dato merita ulteriore approfondimento in rapporto alle possibilità metaboliche di Hg e alla sua trasformazione da composto organico in inorganico. Il contenuto di Hg nel pesce è rappresentato, infatti, essenzialmente dalla forma organica del metallo, che, al contrario della forma inorganica, non viene eliminata attraverso l'emuntorio renale (6, 24).

Anche il rapporto peso/altezza, studiato attraverso l'indice di massa corporea (BMI), influisce sull'eliminazione urinaria di Hg. È stato osservato, infatti, che soggetti con BMI più basso eliminano con le urine quantità maggiori di Hg. Questo dato potrebbe essere spiegato con la considerazione che soggetti con massa corporea più sviluppata tendono a eliminare minori quantità di Hg urinario.

Infine, è da rilevare che il 95° percentile dei valori di Hg-U osservato nella popolazione di riferimento è più alto dei più bassi valori di Hg-U rilevati in lavoratori esposti professionalmente a basse concentrazioni di Hg inorganico (21). Questo dato, da un lato conferma che gli interventi preventivi mirati a contenere il rischio professionale da Hg hanno dato esito positivo e dall'altro evidenzia che l'esposizione ambientale a mercurio è in aumento e si avvicina a quella professionale.

## Bibliografia

- 1) Akesson I, Schutz A, Attewell R, Skerfving SI, Glantz PO. Status of mercury and selenium in dental personal: impact of amalgam work and own filling. *Arch Environ Health* 1991; 46: 102-109.
- 2) Apostoli P, Maranelli G, Duca PG, Bavazzano P, Bortoli A, Cruciatì A, Elia G, Minoia C, Piccinini R, Sabbioni E, Sciarra G, Soave C. Reference values of urinary chromium in Italy. *Int Arch Occup Environ Health* 1997; 70: 173-179.
- 3) Apostoli P. Application of reference values in occupational health. *Int Arch Occup Environ Health* 1999; 72: 191-194.
- 4) Aprea C, Betta A, Catenacci G, Lotti A, Minoia C, Passini W, Pavan I, Robustelli della Cuna FS, Roggi C, Ruggeri R, Soave C, Sciarra G, Vannini P, Vitabue V. Reference values of urinary ethylthiourea in four regions of Italy (multicentric study). *Sci Tot Environ* 1996; 192: 83-93.
- 5) Aronsson AM, Lind B, Nylander M, Nordberg M. Dental amalgam and mercury. *Biol Metals* 1989; 2: 25-30.
- 6) Barregard L. Biological monitoring of exposure to mercury vapour. *Scand J Work Environ Health* 1993; 19 suppl. 1: 45-49.
- 7) Barregard L, Sallsten G, Jarvholm B. People with mercury uptake from their own dental amalgam fillings. *Occup Environ Med* 1995; 52: 124-128.
- 8) Bartels H, Böhrer M, Heierli C. *Clin Chim Acta* 1972; 37: 193.
- 9) Bavazzano P, Apostoli P, Balducci C, Bartolucci GB, Buratti M, Duca PG, Gori G, Li Donni V, Perbellini L, Perico A, Minoia C. Determination of urinary 2,5-hexanedione in the general Italian population. *Int Arch Occup Environ Health* 1998; 71: 284-288.
- 10) Clarkson TW, Hursh JB, Sager PR, Syversen TLM. Mercury. In: Clarkson T.W., Friberg L., Nordberg G.F., Sager P.R. (Eds): *Biological monitoring of toxic metals*. New York, Plenum Press, 1988: 199-246.
- 11) Ellingsen DG, Holland RI, Thomassen Y, Landro-Olstad M, Frech W, Kjuus H. Mercury and selenium in workers previously exposed to mercury vapour at a chloralkali plant. *Br J Ind Med* 1993; 50: 745-752.
- 12) Hursh JB, Greenwood MR, Clarkson TW, Allen J, Deuth S. The effect of ethanol on the fate of mercury vapor inhaled in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 214: 520-527.
- 13) International Agency for Research on Cancer. *Iarc monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Vol. 58: Beryllium, cadmium, mercury, and exposure in the glass manufacturing industry. Lyon, IARC, 1993: 239-345.
- 14) Langworth S, Elinder CG, Gothe CJ, Versterberg O. Biological monitoring of environmental and occupational exposure to mercury. *Int Arch Occup Environ Health* 1991; 63: 161-167.
- 15) Minoia C, Apostoli P. Activity of the Italian Society of Reference Values. *Int Arch Occup Environ Health* 1999; 72: 268-270.
- 16) Nie NH, Hull CH, Jenkins JG. *Statistical package for the social sciences (SPSS)*. New York, Mc Graw-Hill, 1981.
- 17) Roels H, Jean-Philippe G, Lauwerys R, Buchet JP, Malchaire J, Bernard A. Surveillance of workers exposed to mercury vapor: validation of a previously proposed biological threshold limit value for mercury concentration in urine. *Br J Ind Med*. 1985; 7: 45-71.
- 18) Skare I, Bergstrom T, Engqvist A, Weiner JA. Mercury exposure of different origins among dentists and dental nurses. *Scand J Work Environ Health* 1990; 16: 340-347.
- 19) Skare I, Engqvist A. Human exposure to mercury and silver released from dental amalgam restorations. *Arch Environ Health* 1994; 49: 384-394.
- 20) Soleo L, Elia G, Apostoli P, Vimercati L, Pesola G, Gagliardi T, Schiavulli N, Drago I, Lasorsa G, Russo A. The influence of amalgam fillings on urinary mercury excretion in subjects from Apulia (Southern Italy). *G Ital Med Lav Erg* 1998; 20: 75-81.
- 21) Soleo L, Pesola G, Vimercati L, Elia G, Michelazzi M, Gagliardi T, Drago I, Lasorsa G. Amalgami dentari ed eliminazione urinaria di mercurio in lavoratori esposti a basse concentrazioni di mercurio inorganico. *Med Lav* 1998; 89: 232-241.
- 22) Vimercati L, Santarelli L, Pesola G, Drago I, Lasorsa G, Valentino M, Vacca A, Soleo L. Monocyte-macrophage system and polymorphonuclear leukocytes in workers exposed to low levels of metallic mercury. *Sci Tot Environ* 2001; 270: 157-163.
- 23) Vimy MJ, Lorscheider FL. Serial measurement of intra-oral air mercury: estimation of daily dose from dental amalgam. *J Dent Res* 1985; 64: 1072-1075.
- 24) World Health Organization. *Inorganic mercury*. Environmental Health Criteria Nr. 118. Geneva, WHO, 1991.
- 25) World Health Organization. *General principles*. In: *Biological monitoring of chemical exposure in the workplace*. Geneva, WHO, 1996: 1-19.