

**Item ID Number** 03069  **Not Scanned**

**Author** Garattini, S.

**Corporate Author** Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri"

**Report/Article Title** Typescript: Toxicological Profile of TCDD in Animals (Translated)

**Journal/Book Title**

**Year** 1978

**Month/Day** July

**Color**

**Number of Images** 53

**Description Notes** Seminar for the Press. English translation and original Italian (Profilo Tossicologico del TCDD Nell 'Animale)

Toxicological Profile of TCDD in Animals

S. Garattini

Seminar for The Press

Milan, July 1978

# ISTITUTO DI RICERCHE FARMACOLOGICHE "MARIO NEGRI,"

FONDAZIONE PER RICERCHE FRETTA  
IN ENTE MORALE CON D. P. R. 361  
DEL 5 APRILE 1961 - REG. PERSONE  
GIUR. TRIB. MILANO N. 162, VOL. 3  
CONTO CORRENTE IOST. N° 0359071

RECOGNIZED AS A TAX EXEMPT  
ORGANIZATION UNDER SECTION 501  
(c) (3) OF THE UNITED STATES OF  
AMERICA INTERNAL REVENUE CODE

The Institute Mario Negri participated in the action program after the Icmesa incident by addressing various problems in the initial period of the emergency and thereafter by performing its research role.

In this presentation we will first illustrate the conclusive data obtained by the analytical work performed in the last two years; in the second part we will provide an idea of the research currently in progress and present some of the preliminary data; then we will discuss some general considerations. Table I provides a general view of the toxicological analyses performed on the livers of various types of animals. These data were obtained because of an intense collaboration between the Servizio Veterinario Regionale (Regional Veterinary Service) and the Istituto Zooprofilattico Sperimentale (Experimental Zoological Prophylactic Institute of Lombardy and Emilia). The number of positive, negative and doubtful findings is listed per species of animal.

The majority of the analyses was performed on rabbits and chickens, since these two species were the most numerous in the area and were those which were most affected by the mortality rate. The rabbit after the initial analyses was evidenced as being the ideal species to be considered as a biological indicator of the environmental contamination because of its considerable capacity to accumulate TCDD in the liver, as shown in the Table from the fodder found in the contaminated zone.

The analyses of the chicken were evidenced as being of limited practical importance, because, as can be noted in the Table, positive findings were rarely made in the dead animals; probably, because of the type of food (fodders, etc.), the quantity of TCDD absorbed was too low to be detected with the available methods, but sufficient to cause the toxic effects observed in this very sensitive species. Another herbivorous species in which a high positive percentage was detected was the goat, which appears to confirm the importance of the type of food in the absorption of TCDD by the animals in the area.

The other species of animal were noted only noted for the record, because for such species the findings were not sufficiently numerous to make general evaluations possible.

From the beginning the problem applied to utilize the toxicological data on the animals to establish the entity and the extension of the contamination of the TCDD by attempting to establish a relationship between the contamination of the area and the contamination of the animals. All of the current limitations are considered which are caused by the lack of homogeneity of the specimens various factors such as the food, the time spent in the contaminated area, the spontaneous death or slaughter make the interpretation of the data difficult. On the other hand, the analyses if the animals and in particular of the rabbits, which accumulated TCDD in their tissues, is a useful asset to the analysis of the soil in the discontinuous contamination zone or within the limits of the analytical sensitivity.

While taking into account these limiting factors but in order for these data be available to evaluate the exposure of the human population, we attempted to interpret in a very schematic manner the relative data in the rabbits, which were sufficiently numerous to compensate at least

in part for the lack of homogeneity of the specimens.

Figure 1 shows a map of the positive and negative toxicological findings; it can be noted that the majority of the findings are located in zones A, B and R; such a positive finding was made at the limits or just outside the third zone and this was the finding used to evaluate the risks for the population.

In Fig. 2 and 3 the directional axes are shown in which the positive specimens were found, before and after September 1976, by taking ICMESA as the the origin and considering three zones of distance (up to 1.5 km, from 1.5 to 3 km and beyond 3 km. The axis on which the highest levels of TCDD are found appears to be the SSE direction; the levels decrease with the increase of the distance from the place of origin. After 30. September 1976 the status was the same, but the levels were obviously much lower, since at that time the greater part of the animals present in July 1976 had been slaughtered and limits had already been effected for the breeding and feeding of the animals.

The percentages of the positive and negative findings found in Zone A, B, R and circumstances are shown in Table 1. As can be noted, the positivity decreases with the increase of the contamination of the soil.

In Table 3 the minimum and maximum values found in the liver of the rabbits and goats of zone 4 are shown. The extreme variability of the data inside each zone can be noted, which, as we have said, can be shown by taking into account the differences of food, the mobility of the animals, the environmental conditions and in particular the time elapsed from the absorption of TCDD and the slaughter of the animal. Regardless of this variability, the tendency of levels to decrease with the decrease of the contamination of the soil appears to be confirmed here.

The analytical activity developed from 1976 to the present also examined specimens of human tissue, which derived either from autopsy or biopsy. In Table 4 the specimens examined are listed, which were all negative. Next to each type of tissue the relative limit of the analytical sensitivity is listed; here also, as for the animal specimens, it is noted that a negative analytical result is always a relative result, which can also become positive if the limit of sensitivity of the method is changed to lower levels.

The control activity of cow milk, to which Dr. Marazza has already referred, is diagrammed in Fig. 4 and 5. The analyses were made possible because of the development of a very sensitive method for measuring the TCDD in milk. The animals tested in 1976 and 1978 and the relative toxicological findings are shown on the map.

For the samples extracted in 1978 and in the stock farms sampled in 1976 there were negative results, except for those performed in the stock farm listed as No. 19. In this stock farm where the levels were approximately at 20 ppt, i.e. rather low, it could be determined that the cows were fed with fodder deriving from the contaminated area.

In order to check to what extent the animals which live free on the contaminated ground absorb TCDD from the environment, a study was initiated of the voles captured in Zone A during the period May-June 1978. In Fig. 6 the location of the trap and the levels of TCDD in the surrounding ground can be noted which were measured in 1976 and 1978. The intent is to put the relative level of TCDD in the voles, as stated in nanograms per gram of body weight, into relation with the average levels found in the ground expressed in nanograms per gram. All of the voles caught in the trap had TCDD levels varying from 0.4 to 50 ng/g in weight, while the ground around the mapping of 1978 revealed from 0.01 to 11.6 ng/g.

While considering the limitations of this model it can be noted that if the average level of the ground was 3.5 ng/g and the average level in the voles was 5.3 ng/g, these animals would have a considerable capability for accumulating TCDD from the environment. The conclusion to be drawn in any event is that the toxic potential existing in this area is not under-valued, since the animals which live and eat on the ground can easily absorb TCDD. Here are some of the conclusions from this research; we will now illustrate the research which is in progress and the type of problems which we are attempting to solve. The first problem which developed here, deriving from the experimentation with TCDD, was that of a basis which would guarantee all of the precautions which are indispensable for the researchers. There at ICMESA, as appropriate for the region, an animal holding station was prepared which consisted of 3 trailers equipped to hold the animals and laboratories to perform the experiments. One of the objectives of the research which was performed was to determine the decomposition of the TCDD to attempt to contribute to the serious and urgent problem of decontamination of the ground of Seveso. This study showed that it is possible to decompose TCDD by means of gamma rays in the presence of organic solvents. The results shown in Fig. 7 show that the disappearance (elimination) of the TCDD is directly correlated to the total dose of radiation absorbed, and that the type of solvent used is important for the efficiency of the degradation (decomposition) process.

Ethanol was the solvent which considerably facilitated the process of decomposition.

In order to determine if this method was applicable to the ground of Seveso, a model was built to demonstrate the degradability of TCDD absorbed in the ground in the presence of ethanol; the experimental conditions are shown in Fig. 8.

The results listed in Table 5 show that the efficiency of the degradation is independent of the concentration in considering a range of concentrations which are comparable to that of the most contaminated zone. In Table 6 the percentages of degradation obtained are listed while varying the dosage of irradiation; at the dosage of 20 Mrad the maximum degradation is already obtained, which is on the order of 80%. In Table 7, then, the importance of ethanol for purposes of degradation is shown and the negative effects of increasing quantities upon this process.

This method, although it was realized in the laboratory, is not far from possible practical applications, provided that there would be facilities capable of irradiating tons of material.

Other types of experiments which are in progress concern the development of models to determine what the possibility of contact for people who live in an environment contaminated by TCDD.

One very important problem is to determine if the TCDD which is found in the ground can pass into the atmosphere by means of dust, whereby the risk of contamination for people would be increased enormously. A model with which we attempted to obtain this data is shown in Fig. 9; animals treated with TCDD were kept in cages which were put into a closed environment with forced ventilation.

It can be observed in this manner that after 13 days 40% of the dosage administered was recovered in the litter in the cage and that in the relative conditions of turbulence of the systems; on the filter of the output approximately 3 parts per 100,000 of the TCDD present were deposited.

Certainly, even if it indicates a relative degree of stability of the TCDD in the zone in which it deposited, it is necessary to develop many other experimental models before it will be possible to be able to

TABELLA 1

TABLE 1

ANIMALI Animals	TOTALE Total FEGATI livers ANALIZZATI analyzed	TCDD +	TCDD -	DUBBI DOUBTFUL
Rabbit	355	217	120	18
Hare	6	4	2	-
Chicken	31	2	25	4
Hen	7	2	5	-
Duck	6	-	6	-
Pheasant	1	-	1	-
Peacock	1	-	1	-
Goat	19	13	5	1
Cattle	24	2	21	1
Donkey	10	2	8	-
Pigs	1	-	1	-
Guinea pig	11	-	11	-
Cat	3	-	3	-
	1	-	1	-
<b>TOTAL</b>	<b>476</b>	<b>242</b>	<b>210</b>	<b>24</b>

TABELLA 2

TABLE 2

ZONA ZONE	Rabbit Livers FEGATI DI CONIGLIO	
	%TCDD +	%TCDD -
A	97	3
B	84	16
R	80	20
AREE CIRCOSTANTI Surrounding Areas	12	88

**TABELLA 3**

TABLE 3

VALORI MINIMI E MASSIMI TROVATI NEI FEGATI POSITIVI PER MINIMUM AND MAXIMUM VALUES FOUND IN POSITIVE TCDD (ng/g) LIVERS FOR TCDD (Ng/g)					
Animal ANIMALI	(N°)	Zone A ZONA A	Zone B ZONA B	Zone E ZONA R	AREE CIRCOSTANTI Surrounding areas
CONIGLI RABBITS	(270)	3.7-633 (63)	7-838 (16)	0.27-293 (117)	0.32-55 (11)
CAPRE GOATS	(12)	442-1253 (3)	8.1-57 (3)	0.26-4.1 (4)	11.4-13 (2)



TABELLA 4  
TABLE 4

Human tissues and fluids analyzed TESSUTI O FLUIDI UMANI ANALIZZATI		
	N.	ng/g o ng/ml
SANGUE BLOOD	7	— 10.00*
FEGATO LIVER	15	— 0.25
CUTE SKIN	3	— 8.00
TESSUTO ADIPOSO Adipose tissue	3	— 0.40
PLACENTA	1	— 0.25
LIQUOR	2	— 0.40
COLOSTRO Colostrum	2	— 0.10
LATTE Milk	2	— 0.10

\* ng/g o ml

**TABELLA 5**

**TABLE 5**

DEGRADAZIONE DELLA TCDD ADSORBITA SU TERRENO MEDIANTE IRRADIAZIONE GAMMA			
DECOMPOSITION OF TCDD ADSORBED IN THE GROUND BY GAMMA RADIATION			
EFFECTS OF THE IRRADIATION ON INCRASING CONCENTRATIONS OF TCDD			
Effetto dell'irradiazione su concentrazioni crescenti di TCDD			
(5 g terra; 1.5 ml EtOH)			
(5 g soil; 1.5 ml EtOH)			
DOSE (Mrad)	TCDD ADSORBED TCDD ADSORBITA (ng)                      (ppb)		DECOMPOSITION & DEGRADAZIONE
0	25	5	0
30	25	5	85
0	50	10	0
30	50	10	82
0	100	20	0
30	100	20	91
0	250	50	0
30	250	50	81

TABELLA 6

TABLE 6

DEGRADAZIONE DELLA TCDD ADSORBITA SU TERRENO MEDIANTE IRRADIAZIONE GAMMA DECOMPOSITION OF THE TCDD ABSORBED IN THE GROYN DURING GAMMA RADIATION EFFECTS OF THE DISAGE IF GAMMA RADIATION ON THE EFFICIENCY OF DECOMPOSITION Effetto della dose di irradiazione gamma sull'efficienza di degradazione		
(5g terra; 1.5 ml etanolo) (5 g soil; 1.5 ml ethanol)		
DOSE (Mrad)	TCDD absorbed TCDD adsorbita (ng)	Decomposition & Degradazione
0	50	0
10	50	69
20	50	84
30	50	82
40	50	88

TABELLA 7

TABLE 7

DEGRADAZIONE DELLA TCDD ADSORBITA SU TERRENO MEDIANTE IRRADIAZIONE GAMMA DECOMPOSITION OF TCDD ABSORBED ON THE GROUND DURING GAMMA RADIATION			
<u>Effetto di diversi rapporti H<sub>2</sub>O/EtOH sull'efficienza di degradazione</u>			
(5g terra; 1.5 ml solvente) (5 g soil; 1.5 ml solvent)		Effects of various ratios of H <sub>2</sub> O/EtOH on the efficiency of decomposition	
DOSE (Mrad)	H <sub>2</sub> O/EtOH	TCDD ADSORBED TCDD adsorbita (ng)	Decomposition % Degradazione
0	0/1	50	0
30	0/1	50	82
0	1/2	50	0
30	1/2	50	44
0	2/1	50	0
30	2/1	50	21

TABELLA 8

TABLE 8

Livelli di TCDD nel fegato di coniglio (30 µg/kg p.o.)  
(Levels of TCDD in the liver of rabbits)

GIORNO DAY	TCDD in the liver (% of the dose administered) TCDD nel fegato (% della dose somministrata)
1	10-14
2	27-36
4	39-56
7	33-40

TABELLA 9

TABLE 9

Rabbits Conigli (positivi per TCDD)	N	CYTOCHROME P448 Citocromo P448	
		nmoli/g fegato liver	nmoli/mg proteine microsomiali microsomial proteins
(positive for TCDD) Controlli CONTROLS	6	n.d.	n.d.
Zona A*	10	14.8 ± 2.9	1.46 ± 0.16
Zona B*	5	13.8 ± 4.4	1.59 ± 0.35
Zona R*	12	5.1 ± 0.8	0.45 ± 0.08

A = B; A ≠ B; B ≠ R. test di Kramer /Kramer test  
(p 0.02) (p 0.05)

n.d. = non dosabile.

could not be dosed

TABELLA 10

TABLE 10

Effect of TCDD on the weight of the thymus of the mouse evaluated at various times after treatment  
 Effetto della TCDD sul peso del timo di topo valutato a diversi tempi dopo il trattamento.

TCDD ( $\mu$ /kg)	WEIGHT OF THE THYMUS IN DAYS PESO DEL TIMO AI GIORNI: (mg)			STIMULATION WITH ConA IN DAYS STIMOLAZIONE CON ConA AI GIORNI: (CPM/campione)(Specimen)		
	+ 7	+ 14	+ 21	+ 7	+ 14	+ 21
0	80.2 ( 5.4)	37.5 ( 4.7)	33.5 ( 4.8)	59,400 ( 15,260)	331,256 ( 58,585)	91,693 ( 44,486)
1.2	49.0 * ( 4.8)	40.2 ( 5.0)	38.8 ( 3.1)	52,654 ( 18,430)	258,133 ( 60,329)	N.T.
6.0	48.7 * ( 7.4)	21.5 * ( 1.5)	30.4 ( 5.2)	72,484 ( 26,386)	295,477 ( 55,390)	104,771 ( 31,324)
30	29.5 ** ( 1.6)	25.5 * ( 1.2)	6.7 ** ( 0.5)	92,710 ( 15,319)	309,645 ( 61,950)	118,330 ( 25,029)

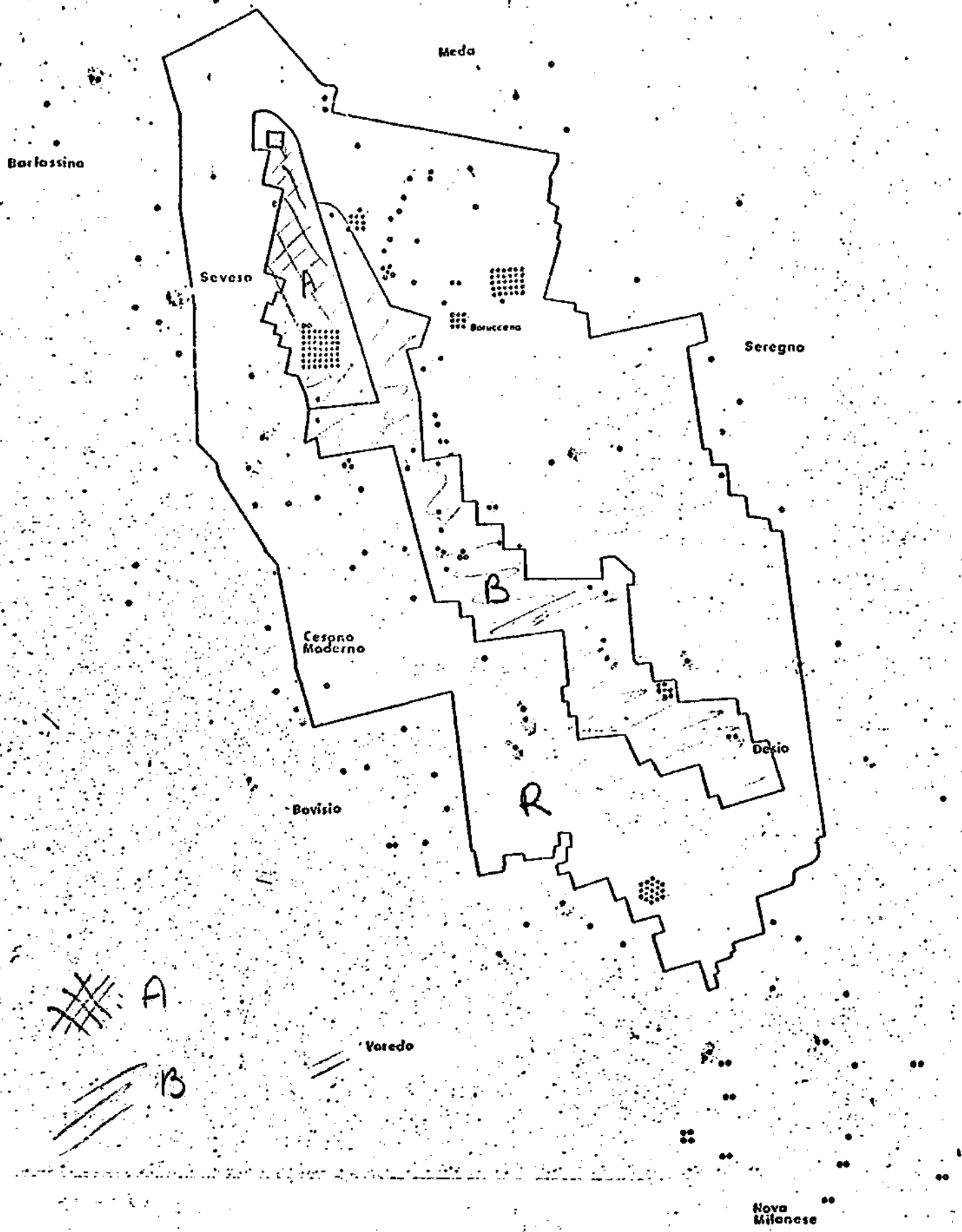
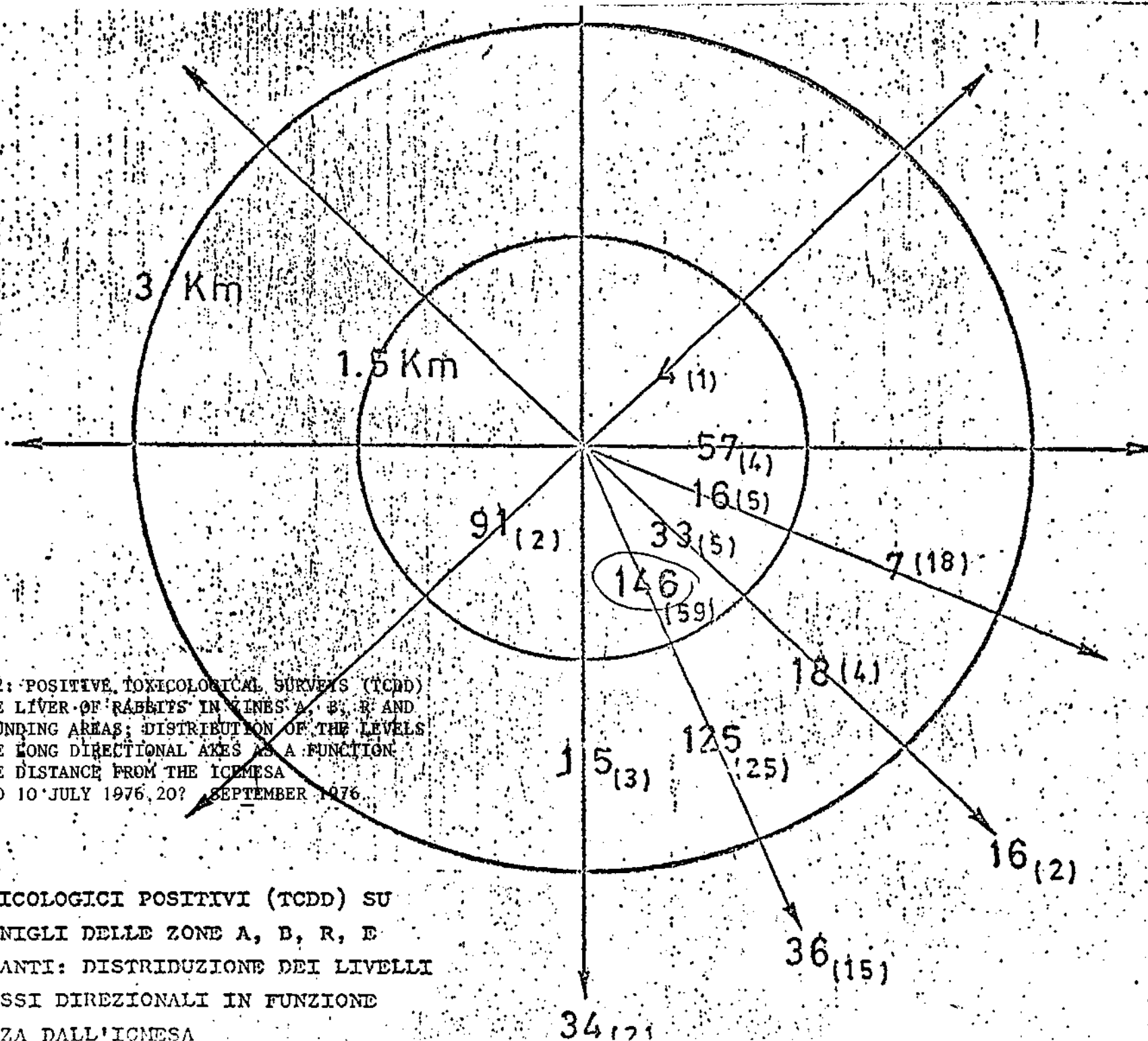


FIGURA 1 FIG. 1

MAPPA DEI RILIEVI TOSSICOLOGICI (TCDD) MAP OF THE TOXICOLOGICAL SURVEYS  
SU FEGATI DI CONIGLIO. IN THE LIVERS OF RABBITS





ng/g  
(n. report)

FIG. 2: POSITIVE TOXICOLOGICAL SURVEYS (TCDD) IN THE LIVER OF RABBITS IN ZONES A, B, R AND SURROUNDING AREAS; DISTRIBUTION OF THE LEVELS OF THE LONG DIRECTIONAL AXES AS A FUNCTION OF THE DISTANCE FROM THE ICNESA PERIOD 10 JULY 1976, 20 SEPTEMBER 1976.

2  
 TOSSICOLOGICI POSITIVI (TCDD) SU  
 CONIGLI DELLE ZONE A, B, R, E  
 COSTANTI: DISTRIBUZIONE DEI LIVELLI  
 SO ASSI DIREZIONALI IN FUNZIONE  
 TANZA DALL'ICNESA

34 (2)

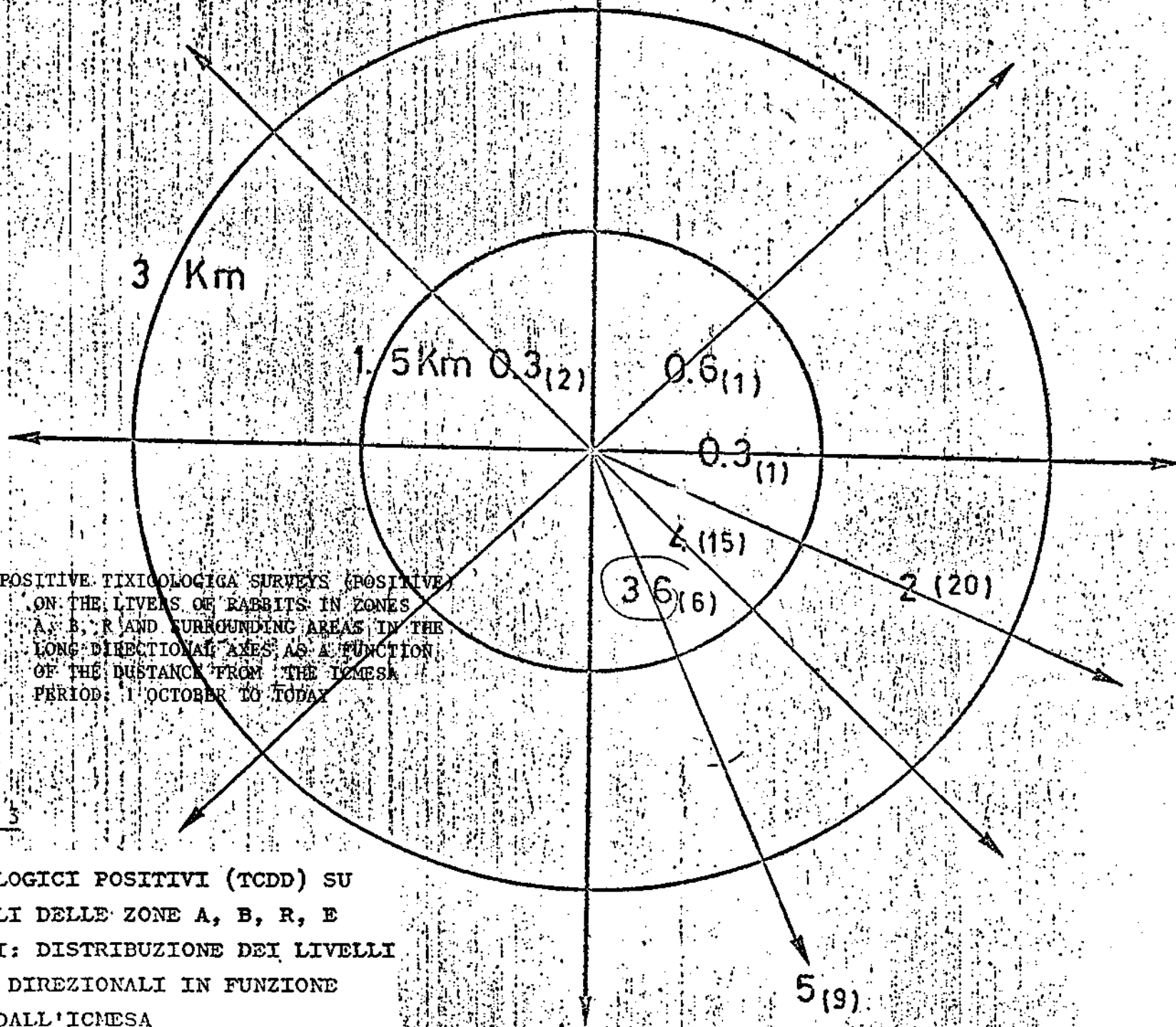
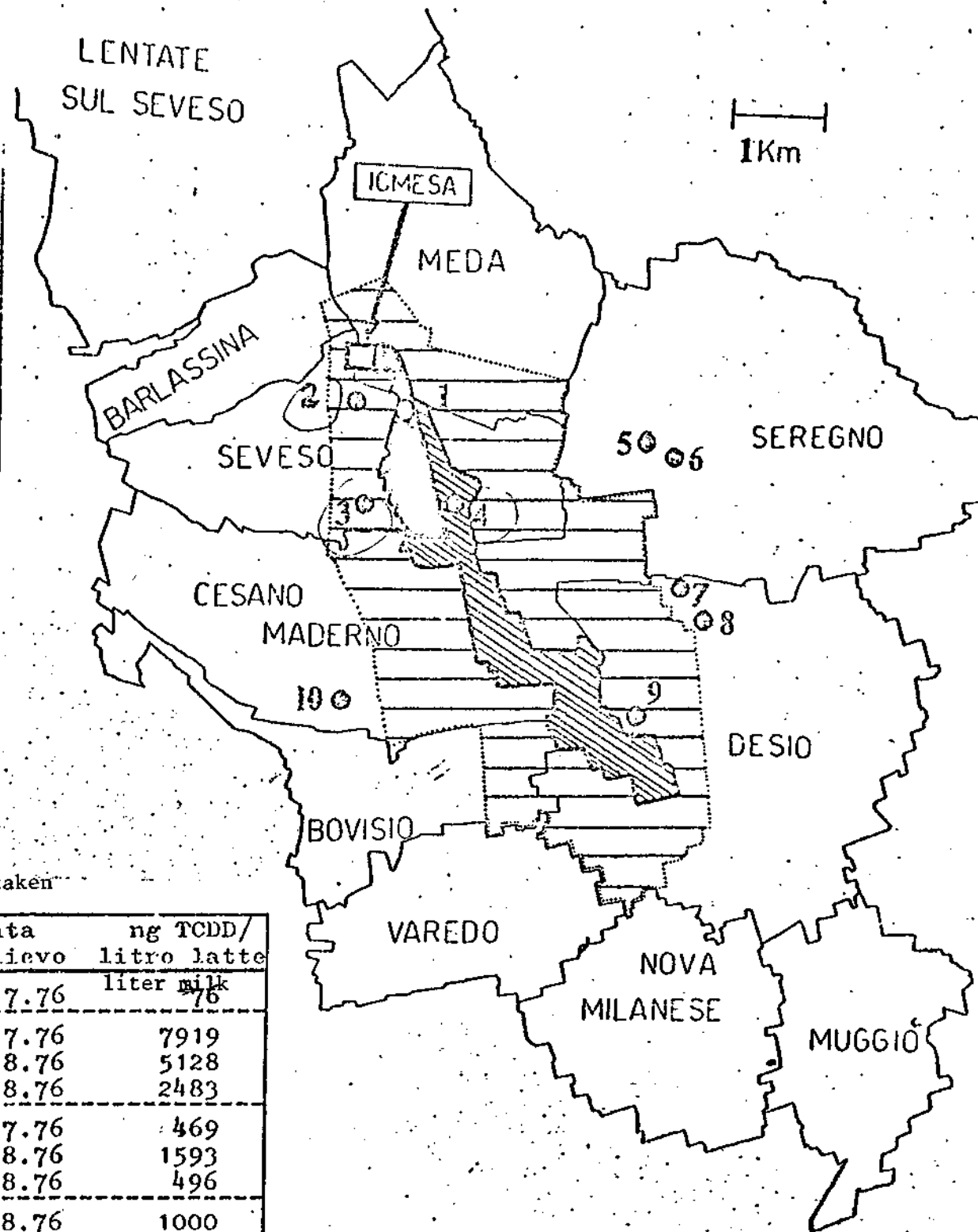


FIG. 3: POSITIVE TOXICOLOGICAL SURVEYS (POSITIVE) ON THE LIVERS OF RABBITS IN ZONES A, B, R AND SURROUNDING AREAS IN THE LONG DIRECTIONAL AXES AS A FUNCTION OF THE DISTANCE FROM THE ICMESA PERIOD: 1 OCTOBER TO TODAY

FIGURA 3

TOSSICOLOGICI POSITIVI (TCDD) SU CONIGLI DELLE ZONE A, B, R, E COSTANTI: DISTRIBUZIONE DEI LIVELLI SU ASSI DIREZIONALI IN FUNZIONE DISTANZA DALL'ICMESA

ng/g  
(n. reperti)  
(n. findings)

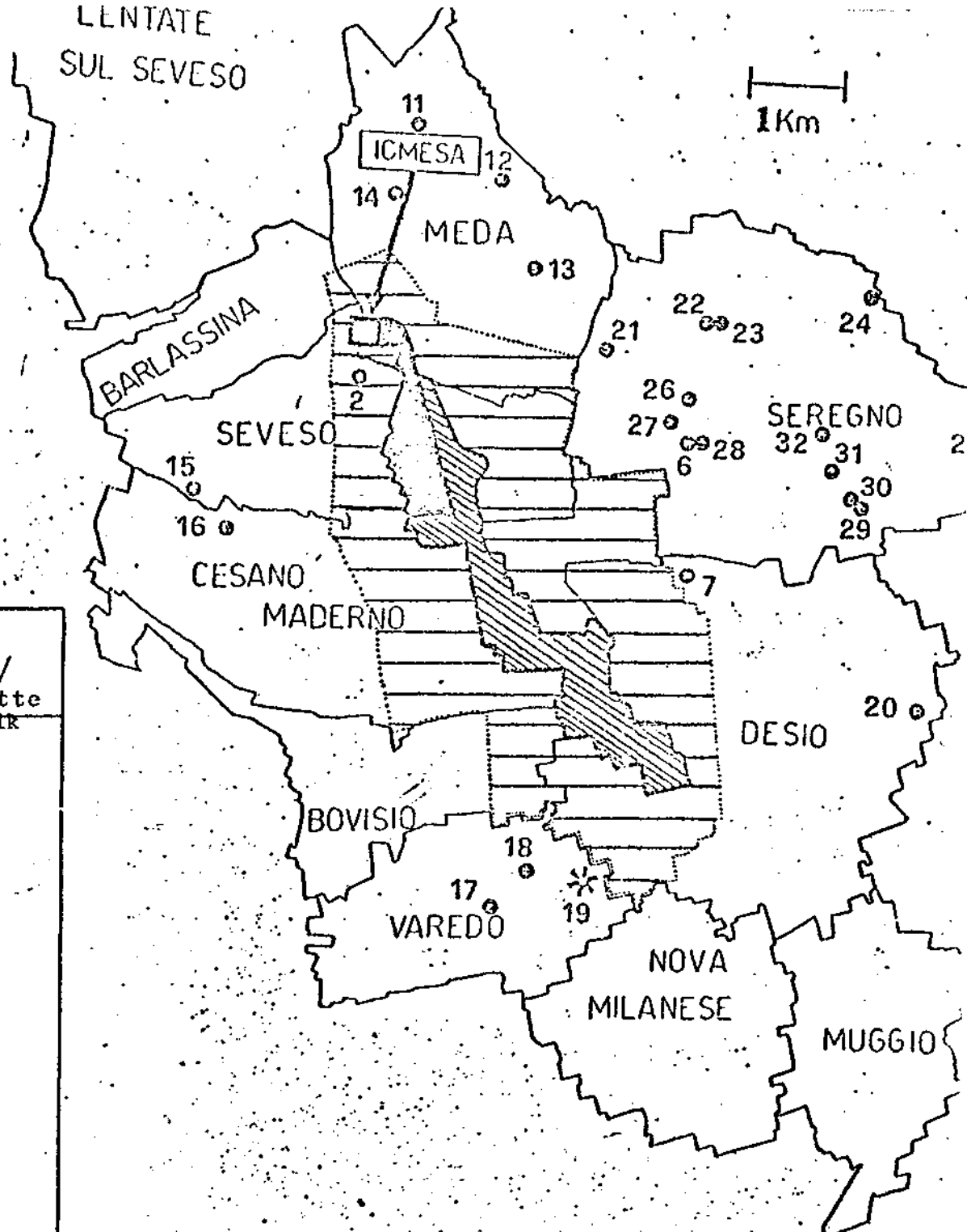


n. mappa	data prelievo	ng TCDD/ litro latte
1	28.7.76	76
2	28.7.76	7919
	2.8.76	5128
	10.8.76	2483
3	28.7.76	469
	2.8.76	1593
	10.8.76	496
4	10.8.76	1000
5	29.7.76	116
6	29.7.76	59
7	3.8.76	80
8	3.8.76	94
9	27.7.76	180
	3.8.76	75
10	5.8.76	nv

nv < 40

MAP OF THE TOXICOLOGICAL SURVEYS (TCDD) OF SPECIMENS OF COWS MILK EXTRACTED DURING THE PERIOD JULY-AUGUST 1976

MAPPA DEI RILIEVI TOSSICOLOGICI (TCDD) SU CAMPIONI DI LATTE BOVINO PRELEVATI NEL PERIODO LUGLIO-AGOSTO 1976



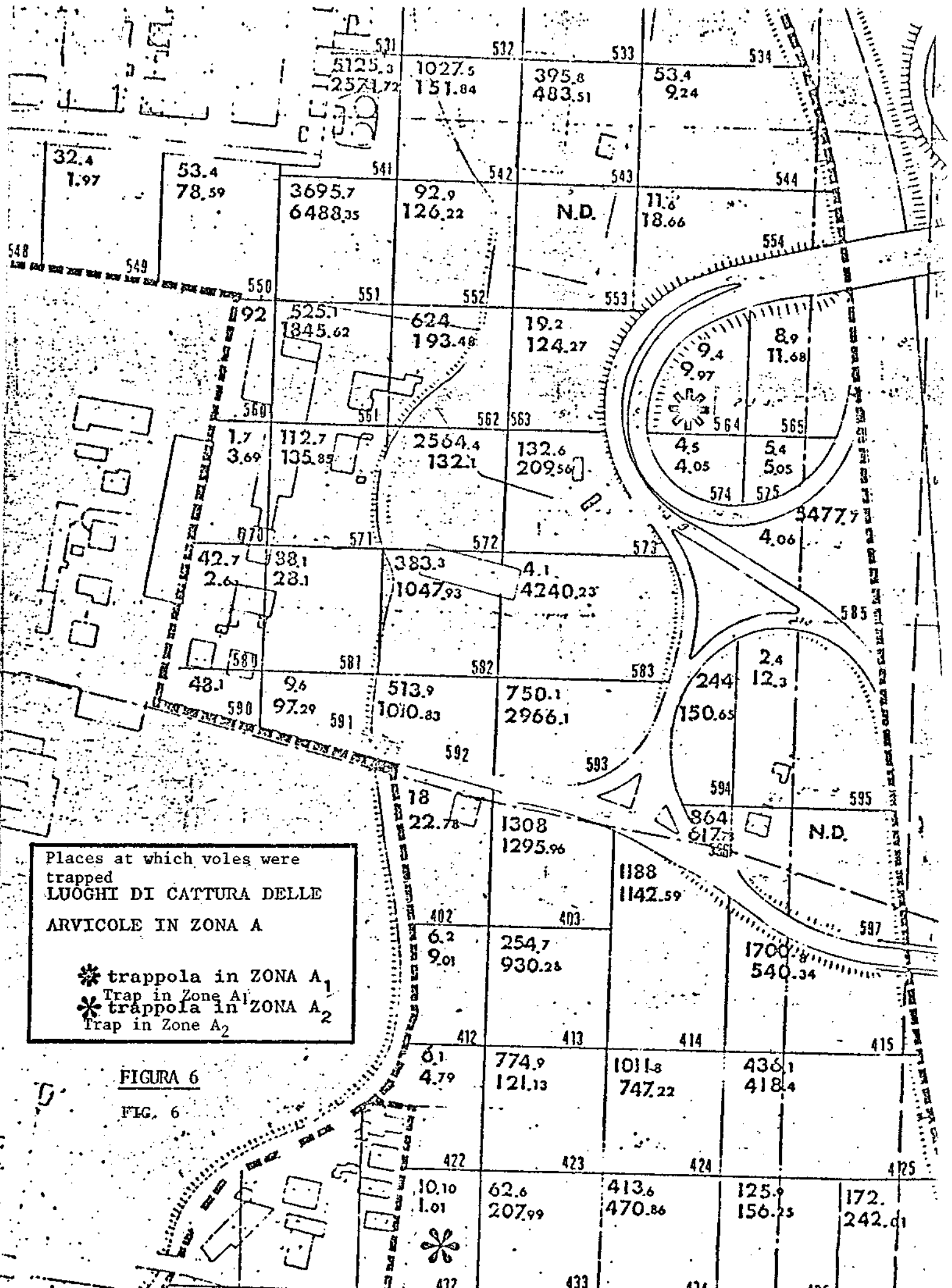
n. mappa	ng TCDD/ litro latte
map	liter milk
2	<58
2	<55
2	<40
2	<71
2	<51
2	<95
2	<20
2	<18
2	<22
2	<38
2	<60
2	<47
6	<18
7	<85
11	<19
12	<39
13	<52
14	<32
15	<40
16	<46
17	<15
18	<18
19	18
19	28
19	26
19	20
19	32
20	<18
21	<14
22	<15
23	<20
24	<28
25	<18
26	<37
27	<39
28	<16

MAP OF THE TOXICOLOGICAL SURVEYS (TCDD) ON SPECIMENS OF COWS MILK EXTRACTED IN 1978

FIG. 5

MAPPA DEI RILIEVI TOSSICOLOGICI (TCDD) SU CAMPIONI DI LATTE BOVINO PRELEVATI NEL 1978

FIGURA 5



Places at which voles were trapped  
**LUOGHI DI CATTURA DELLE ARVICOLE IN ZONA A**

\* trappola in ZONA A<sub>1</sub>  
 \* Trappola in Zone A<sub>1</sub>  
 \* trappola in ZONA A<sub>2</sub>  
 \* Trappola in Zone A<sub>2</sub>

FIGURA 6  
 FIG. 6

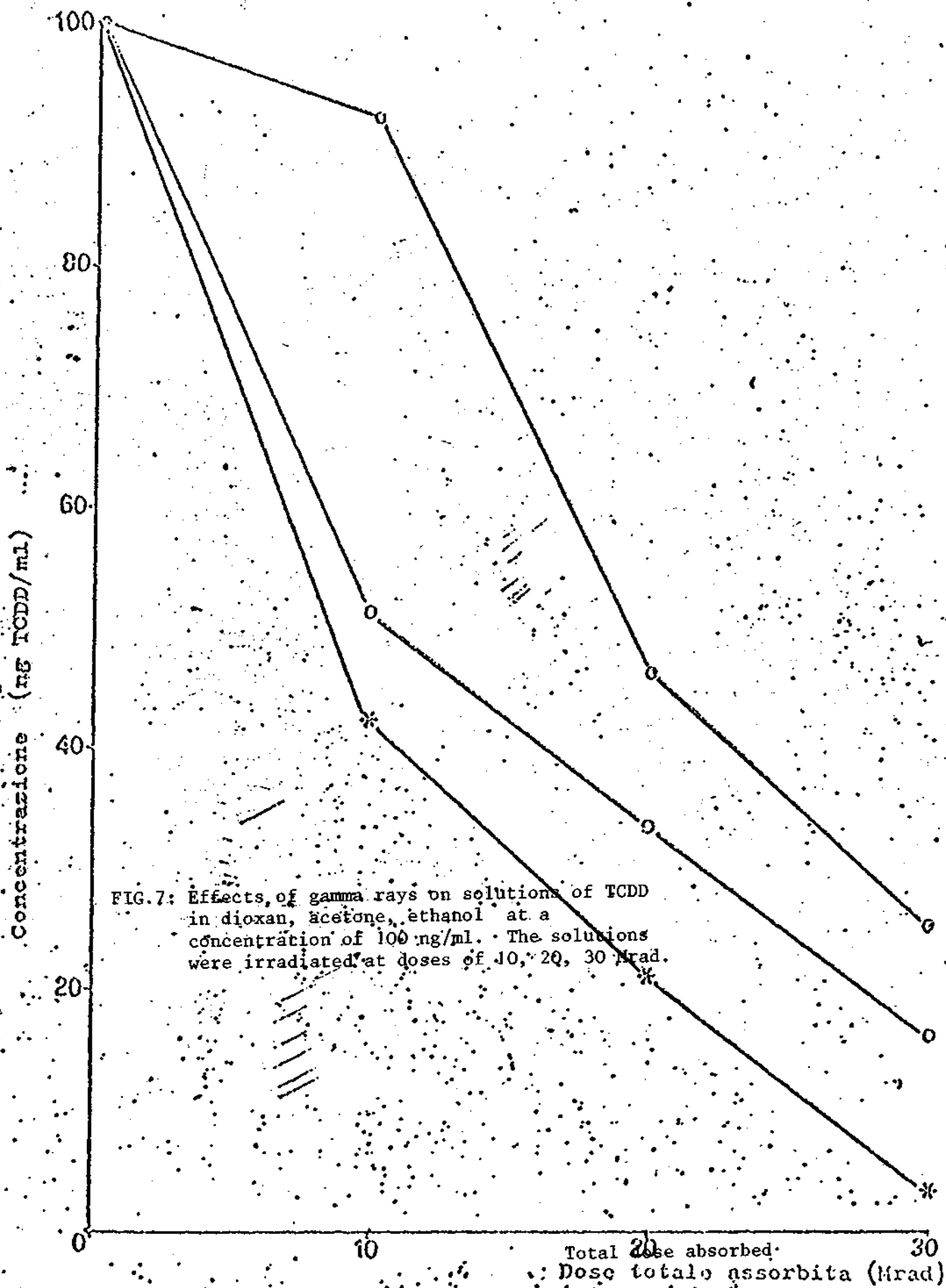


FIG.7: Effects of gamma rays on solutions of TCDD in dioxan, acetone, ethanol at a concentration of 100 ng/ml. The solutions were irradiated at doses of 10, 20, 30 Mrad.

FIGURA 7 Effetto dei raggi gamma su soluzioni di TCDD

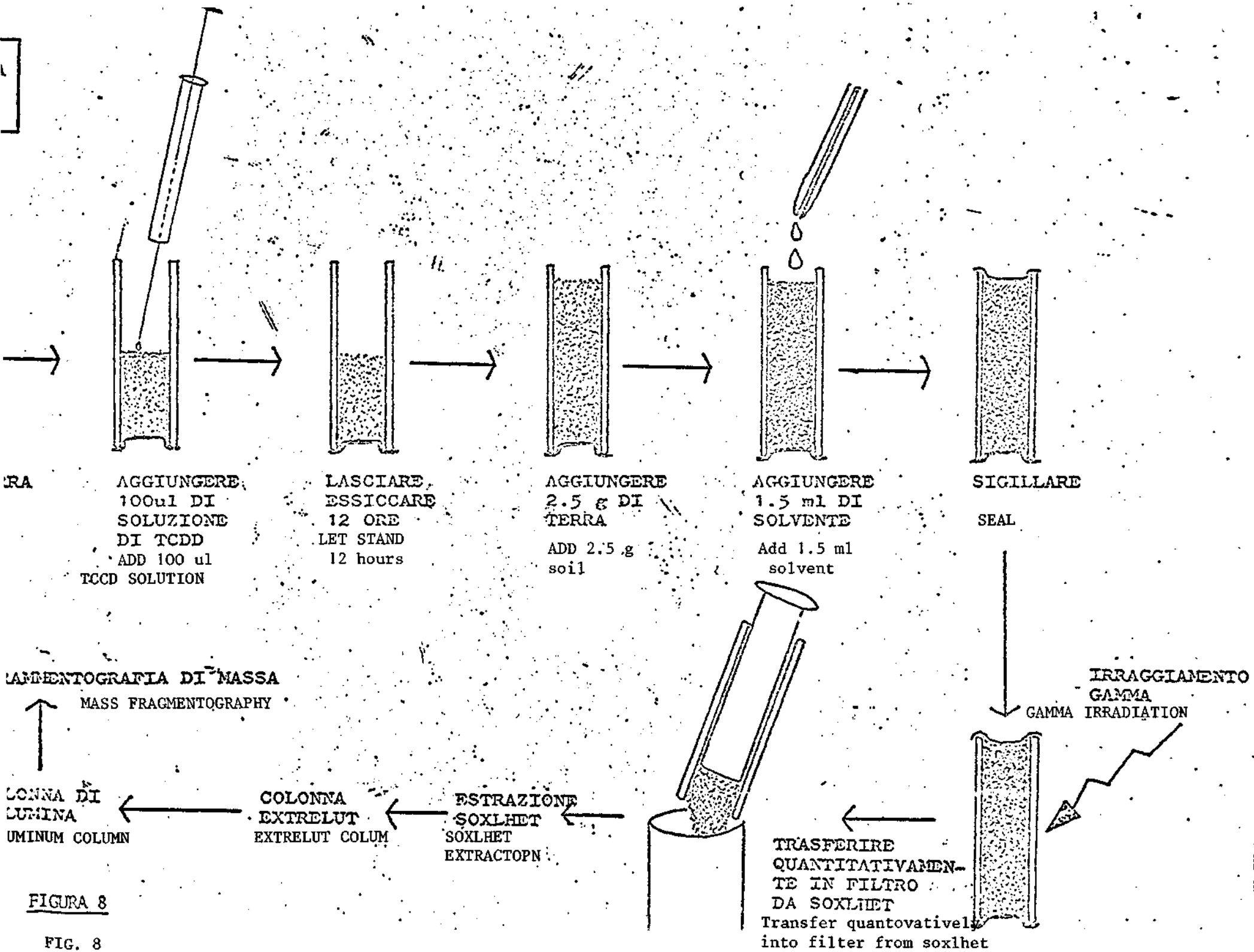


FIGURA 8

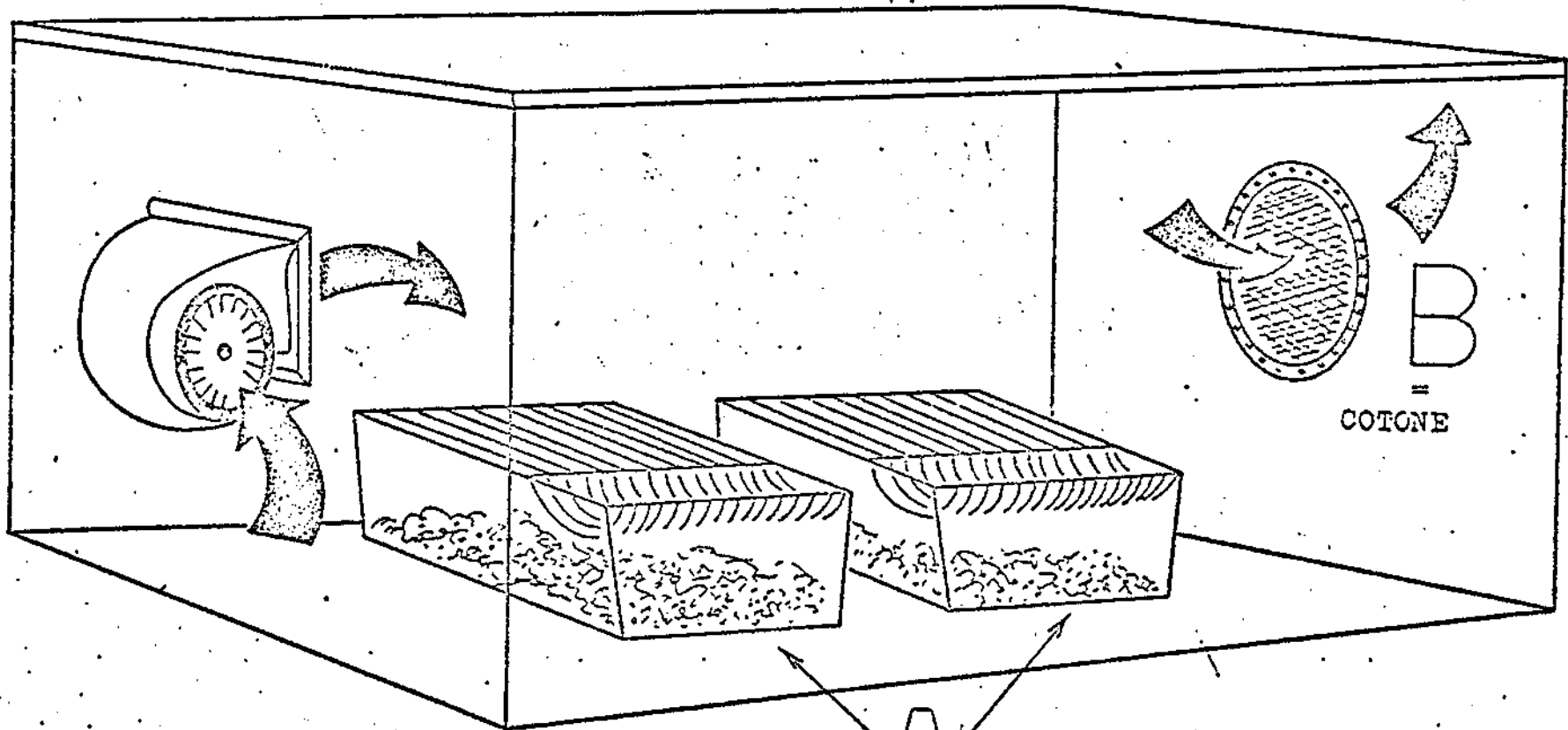
FIG. 8

A  $\frac{40.3}{100}$

FRAZIONE DOSE FRACTION DOSE  
 ESCRETA IN 13 gg  
 EXCRETED IN 13 gg

B  $\frac{3}{100'000}$

FRAZIONE DOSE  
 TRATTENUTA IN 13gg



A

LITTER  
 = LETTIERA  
 50 % DELLA DOSE OF THE DOSE EXCRETED  
 ESCRETA IN 16.3<sup>OR 16.3</sup> gg  
 (estrapolazione)  
 (Extrapolation)

FIGURA 9



PROFILO TOSSICOLOGICO DEL TCDD NELL'ANIMALE

S. GARATTINI

SEMINARIO PER LA STAMPA

Milano, luglio 1978

# ISTITUTO DI RICERCHE FARMACOLOGICHE "MARIO NEGRI,"

FONDAZIONE PER RICERCHE ERETTA  
IN ENTE MORALE CON D. P. R. 361  
DEL 5 APRILE 1931 - REG. PERSONE  
GIUR. TRIB. MILANO N. 162, VOL. 5  
CONTO CORRENTE IOST. N° 0339071

RECOGNIZED AS A TAX EXEMPT  
ORGANIZATION UNDER SECTION 501  
(c) (3) OF THE UNITED STATES OF  
AMERICA INTERNAL REVENUE CODE

L'Istituto Mario Negri ha partecipato al programma di interventi in seguito all'evento Icmesa occupandosi, nel primo periodo di emergenza di problemi diversi, e tornando successivamente al suo ruolo di ricerca.

In questa presentazione vorrei dapprima illustrare i dati conclusivi ottenuti dal lavoro analitico svolto in questi due anni; nella seconda parte vorrei dare un'idea delle ricerche attualmente in corso e presentare alcuni dei dati preliminari; infine vorrei fare alcune considerazioni generali. La tabella 1 dà un quadro generale delle analisi tossicologiche effettuate sul fegato di diverse specie animali. Questi dati sono stati ottenuti grazie ad una intensa collaborazione con il Servizio Veterinario Regionale e con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia. Per ogni specie viene indicato il numero dei reperti positivi, negativi e dubbi.

La maggior parte delle analisi è stata eseguita sul coniglio e sul pollo, poichè queste due specie erano le più numerose nella zona e furono quelle più colpite dal fenomeno della mortalità. Il coniglio si è rivelato, dopo le prime analisi, la specie ideale da considerare come indicatore biologico della contaminazione ambientale, per la sua notevole capacità di accumulo della TCDD nel fegato, attraverso il foraggio raccolto nelle zone contaminate.

Le analisi sul pollo si sono rivelate di limitato interesse pratico perchè, come si vede nella tabella, si avevano rari riscontri positivi negli animali morti; probabilmente, dato il tipo di alimentazione (mangimi etc.) la quantità di TCDD assunta era troppo

bassa per essere rivelata coi metodi disponibili, ma sufficiente per provocare effetti tossici in questa specie molto sensibile. Un'altra specie erbivora in cui si è riscontrata un'alta percentuale di positività è la capra, il che sembra confermare l'importanza del tipo di alimentazione nell'assunzione della TCDD da parte degli animali della zona.

Le altre specie animali sono riportate soltanto a titolo indicativo, poichè per alcune specie i reperti non erano abbastanza numerosi da permettere valutazioni generali.

Fino dall'inizio si è posto il problema di utilizzare i dati tossicologici sugli animali per stabilire l'entità e l'estensione dell'inquinamento da TCDD, cercando di stabilire una relazione fra la contaminazione del territorio e la contaminazione animale.

Vanno però tenute presenti tutte le limitazioni dovute alla disomogeneità dei campioni: diversi fattori come l'alimentazione, il tempo di permanenza nelle zone contaminate, la morte spontanea o l'abbattimento, rendono difficile l'interpretazione dei dati.

D'altra parte l'analisi negli animali e in particolare nel coniglio, che accumula TCDD nei tessuti, diventa un utile complemento alla analisi del terreno in zone ad inquinamento discontinuo o sotto i limiti della sensibilità analitica.

Tenendo conto di questi fattori limitanti ma anche dell'interesse che questi dati rivestono ai fini di valutare l'esposizione della popolazione, abbiamo tentato di interpretare in modo molto schematico i dati relativi ai conigli, che erano sufficientemente numerosi da compensare almeno in parte la disomogeneità dei campioni.

La figura 1 rappresenta una mappa dei reperti tossicologici positivi e negativi: si può notare che la maggior parte dei reperti positivi si trovano nelle zone A, B e R; qualche campione positivo è stato trovato ai limiti o appena fuori dalla terza fascia, e questo va tenuto presente nel valutare i rischi per la popolazione.

Nelle figure 2 e 3 sono indicati gli assi direzionali su cui sono stati trovati campioni positivi, prima e dopo il settembre 1976, prendendo come origine l'ICMESA e considerando tre fasce di distanza

(fino a 1.5 Km, da 1.5 a 3 Km e oltre 3 Km). L'asse su cui si sono trovati i livelli di TCDD più alti sembra essere quello di direzione SSE; i livelli decrescono con l'aumentare della distanza dal luogo dell'incidente. Dopo il 30 settembre '76 l'andamento è simile, ma i livelli sono ovviamente molto inferiori, poichè a quell'epoca la maggior parte dei capi presenti in luglio '76 era stato abbattuto e si erano già poste limitazioni per l'allevamento e l'alimentazione degli animali.

Le percentuali dei reperti positivi e negativi trovati nelle zone A, B, R e circostanti sono indicate nella tabella 2. Come si può notare la positività decresce col decrescere della contaminazione del terreno.

Nella tabella 3 sono indicati i valori minimi e massimi trovati nel fegato di coniglio e di capra nelle 4 zone. Si può notare l'estrema variabilità dei dati all'interno di ogni zona, il che, come abbiamo detto, si può spiegare tenendo conto delle differenze di alimentazione, di mobilità degli animali, di condizioni ambientali e soprattutto di tempo intercorso fra l'assunzione di TCDD e l'uccisione dell'animale. Nonostante questa variabilità, la tendenza dei livelli a decrescere, col decrescere della contaminazione del terreno sembra anche qui confermata.

L'attività analitica svolta dal '76 ad oggi ha riguardato anche campioni di tessuti umani, di provenienza sia autoptica che bioptica.

Nella tabella 4 sono elencati i campioni esaminati, che sono risultati tutti negativi. Vicino ad ogni tipo di tessuto è indicato il relativo limite di sensibilità analitica; anche qui, come per i campioni animali, va ricordato che un risultato analitico negativo è sempre un risultato relativo, che può anche diventare positivo se si spinge a livelli inferiori il limite di sensibilità del metodo.

L'attività di controllo sul latte bovino, a cui ha già fatto riferimento il dott. Marazza, è schematizzata nelle figure 4 e 5. Le analisi sono state rese possibili grazie allo sviluppo di un metodo molto sensibile per la misura della TCDD nel latte. Nelle mappe sono indicati gli allevamenti campionati nel '76 e nel '78, e i relativi reperti tossicologici.

Per i prelievi effettuati nel '76, si nota che i livelli più alti si trovano negli allevamenti più vicini all'ICMESA e che nello stesso allevamento c'è una tendenza dei livelli ad abbassarsi in tempi successivi.

Tutti i prelievi effettuati nel '78, anche negli allevamenti già campionati nel '76, hanno dato esito negativo, tranne quelli eseguiti nell'allevamento siglato con n.19. In questo allevamento, dove i livelli erano intorno alle 20 ppt, cioè piuttosto bassi, si è potuto accertare che i bovini venivano alimentati con foraggio proveniente dalle zone contaminate.

Per verificare in che misura animali che vivono liberi su terreno contaminato assumano TCDD dall'ambiente, è stato iniziato uno studio su arvicole catturate in zona A nel periodo maggio-giugno 1978. Nella figura 6 si vede la localizzazione della trappola e i livelli di TCDD nel terreno circostante, misurati nel 1976 e 1978.

Si è voluto mettere in relazione il livello medio di TCDD nelle arvicole, espresso in nanogrammi per grammo di peso corporeo, con i livelli medi trovati nel terreno, espressi in nanogrammi per grammo. Tutte le arvicole cadute nella trappola avevano livelli di TCDD variabili da 0.4 a 50 ng/g di peso, mentre nel terreno circostante la mappatura del '78 aveva rivelato da 0.01 a 11.6 ng/g. Pur tenendo presente tutte le limitazioni di questo modello, si può osservare che se il livello medio nel terreno era di 3.5 ng/g e il livello medio nelle arvicole era di 5.3 ng/g, questi animali devono avere una notevole capacità di accumulare TCDD dall'ambiente. La conclusione da trarre, in ogni caso, è che non va sottovalutato il potenziale tossico esistente in questa area, dal momento che animali che vivono e che si cibano sul terreno, possono facilmente assumere TCDD.

Queste sono alcune delle ricerche in parte concluse; vorrei ora illustrare le ricerche che sono in corso e il tipo di problemi che cerchiamo di affrontare. Il primo problema che ci si è posto, dovendo fare della sperimentazione sulla TCDD, è stato quello di una sede adatta che garantisse tutte quelle precauzioni indispensabili per

i ricercatori, per l'ambiente e per la riuscita stessa degli esperimenti. E' stato quindi allestito presso l'ICMESA, d'intesa con la Regione, uno stabulario costituito da 3 roulotte attrezzate in modo tale da ospitare animali e laboratori per l'esecuzione degli esperimenti.

Uno degli argomenti di ricerca che è stato affrontato è quello della degradazione della TCDD, per cercare di contribuire al grave ed urgente problema della decontaminazione del terreno di Seveso.

Questo studio ha dimostrato che è possibile degradare la TCDD per mezzo di radiazioni gamma, in presenza di solventi organici.

I risultati riportati nella figura 7 dimostrano che la scomparsa della TCDD è direttamente correlata alla dose totale di radiazioni assorbita, e che il tipo di solvente usato è importante per l'efficienza del processo di degradazione.

L'etanolo risulta essere il solvente che facilita maggiormente il processo di degradazione.

Per stabilire se questo metodo fosse applicabile al terreno di Seveso, è stato studiato un modello per dimostrare la degradabilità della TCDD adsorbita su terreno in presenza di etanolo; le condizioni sperimentali sono illustrate nella figura 8.

I risultati riportati nella tabella 5 dimostrano che l'efficienza della degradazione è indipendente dalla concentrazione, considerando un "range" di concentrazioni paragonabile a quello delle zone più inquinate. Nella tabella 6 sono riportate le percentuali di degradazione ottenute variando la dose di irraggiamento; alla dose di 20 Mrad si ottiene già la massima degradazione, che è dell'ordine dell'80%.

Nella tabella 7, infine, viene dimostrata l'importanza dell'etanolo ai fini della degradazione, e l'effetto negativo di quantità crescenti di acqua su questo processo.

Questo metodo, pur essendo stato realizzato in laboratorio, non è lontano da possibili applicazioni pratiche, dato che esistono impianti che permettono di irraggiare tonnellate di materiale.

Altri tipi di esperimenti che sono in corso riguardano lo sviluppo di modelli per stabilire qual'è la possibilità di contatto per l'uomo che vive in un ambiente contaminato da TCDD.

Un problema molto importante è quello di stabilire se la TCDD che si trova sul terreno possa passare nell'atmosfera attraverso il pulviscolo, aumentando enormemente il rischio di contaminazione per l'uomo. Un modello attraverso il quale abbiamo cercato di ottenere questi dati, è illustrato nella figura 9: animali trattati con TCDD vengono stabularizzati in gabbie a loro volta incluse in un ambiente chiuso con ventilazione forzata.

Si può osservare in questo modo che dopo 13 giorni il 40% della dose somministrata si ritrova nella lettiera e che, nelle relative condizioni di turbolenza del sistema, sul filtro di uscita si depositano circa 3 parti su 100.000 della TCDD presente.

Certamente, anche se questo indica una relativa stabilità della TCDD nella zona in cui si è depositata, è necessario sviluppare molti altri modelli sperimentali prima di poter arrivare a conclusioni valide anche per l'uomo.

Un altro problema che deve essere affrontato è quello di stabilire il tempo di eliminazione della TCDD nelle varie specie animali, sempre per potere poi utilizzare le informazioni per l'uomo.

La figura 10 mostra un esperimento condotto nel topo: in questo caso occorrono 13.5 giorni perchè il livello di TCDD nel fegato diminuisca del 50%.

Questa lenta scomparsa dall'organismo rende estremamente pericolosa anche una assunzione continuata di piccole quantità di TCDD, poichè ogni nuova dose va a sommarsi alle concentrazioni che non sono state ancora eliminate.

La tabella 8 dimostra come l'accumulo della diossina avvenga in forte percentuale nel fegato: somministrando anche una dose elevata come 30 µg/kg di TCDD, se ne trova circa la metà nel fegato. Questo fatto è a sostegno del motivo per cui il fegato è stato il tessuto di elezione per svolgere le analisi tossicologiche di cui abbiamo parlato.

Sempre per studiare l'assunzione della TCDD dall'ambiente da parte dell'organismo, è stato condotto un esperimento preliminare sul topo per verificare se la TCDD adsorbita su terreno e somministrata all'animale, fosse "assorbibile" dall'organismo come la TCDD somministrata in sospensione oleosa.

I dati preliminari mostrerebbero differenze che vanno confermate: li citiamo solo per esemplificare il tipo di problemi che si devono chiarire prima di poter valutare i rischi a cui è sottoposta la popolazione delle zone contaminate. La tabella 9 illustra un esempio degli effetti biochimici più significativi della TCDD sull'animale.

È stato misurato il citocromo P448, che nei conigli di controllo non è presente, ma che nei conigli delle zone contaminate, con riscontro tossicologico positivo, aumenta in modo proporzionale al grado di contaminazione.

Questo parametro potrebbe essere quindi utilizzato per valutare il grado di esposizione alla TCDD.

Per concludere con la parte sperimentale, vorrei mostrare i dati della tabella 10, per sottolineare un punto che è stato oggetto di dibattito, e cioè che non possa esistere patologia da TCDD se non esiste cloracne. Penso che questo tipo di affermazioni debbano essere rifiutate sul piano delle conoscenze scientifiche: nella tabella sono infatti illustrati i risultati di un trattamento con dosi molto basse di TCDD.

Nonostante non vi siano segni apparenti di tossicità esterna, questi animali hanno subito una notevole riduzione del peso del timo, un danno certamente considerevole.

Vorrei ora concludere con alcune riflessioni, a distanza di due anni da questo tragico avvenimento. Vorrei innanzitutto sottolineare, essendo questo un seminario rivolto prevalentemente ai giornalisti, come ancora oggi, se vogliamo continuare a fare dosaggi attendibili di TCDD, dobbiamo continuare ad usare la gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa, nonostante tutte le furibonde polemiche che molti di voi hanno registrato circa l'esistenza di un gran numero di metodi alternativi meno costosi e più validi di questo: a distanza di due anni, nessuno ha potuto ancora rendere funzionante uno solo di questi metodi miracolosi. La seconda considerazione che volevo fare è che abbiamo bisogno molto più di dati che non di parole; purtroppo l'accendersi delle discussioni



intorno a delle impressioni è terribilmente deviante rispetto allo obbiettivo che tutti ci poniamo. E' necessario che vengano prodotti dei dati, perchè soltanto attraverso dei dati scientifici si può arrivare a formulare un intervento che abbia una base logica.

Un'altra considerazione, sempre rivolta prevalentemente all'ambiente giornalistico è che vorrei che fossero ricordati i ricercatori che ogni giorno rischiano letteralmente la propria vita per fare questo tipo di analisi. Fare questo tipo di lavoro è estremamente pericoloso; sono pochi che hanno voglia di farlo e questi pochi dovrebbero essere adeguatamente incoraggiati a continuare.

Sappiamo tutti che i dati sono ancora troppo pochi per quanto riguarda l'uomo; le incertezze sono ancora moltissime, per questo bisognerebbe evitare sia di drammatizzare dati che non sono sicuri, sia l'estremo opposto-forse ancora più pericoloso- che è quello di minimizzare come se non fosse successo niente. Quando non si conosce a sufficienza, la prudenza è sempre il modo migliore per procedere e la prudenza deve generare tutta una serie di ricerche che noi ci auguriamo continuino a ritmo accelerato.

Purtroppo in questi due anni è mancata l'interdisciplinarietà nella ricerca; ogni gruppo di ricercatori, secondo le proprie vocazioni, è andato un po' per suo conto ed è mancato un momento di riflessione in cui tutti i dati venissero valutati criticamente e potessero divenire complementari l'uno all'altro.

Se questo è deprecabile, dobbiamo apprendere a fare meglio questo tipo di lavoro in futuro. Ma dobbiamo anche ricordare lo stato miserabile della ricerca italiana. E' molto difficile pretendere da un organismo agonizzante, che improvvisamente possa dare risultati ad alto livello; se non migliorano le condizioni della ricerca non potremo aspettarci molto di più nemmeno per il futuro.

Finalmente vorrei che i dati presentati aumentassero la preoccupazione per la continua presenza della TCDD nelle zone contaminate, sia in quelle a livelli relativamente alti, sia in quelle a livelli meno alti.

Abbiamo visto che questo materiale in certe condizioni può essere biòdisponibile, cioè può essere assunto da animali e quindi non c'è ragione per credere che non possa inquinare anche l'uomo.

TABELLA 1

ANIMALI	TOTALE FEGATI ANALIZZATI	TCDD +	TCDD -	DUBBI
CONIGLIO	355	217	120	18
LEPRE	6	4	2	-
POLLO	31	2	25	4
GALLINA	7	2	5	-
ANATRA	6	-	6	-
FAGIANO	1	-	1	-
PAVONE	1	-	1	-
CAPRA	19	13	5	1
BOVINI	24	2	21	1
CAVALLO	10	2	8	-
ASINO	1	-	1	-
SUINI	11	-	11	-
CAVIA	3	-	3	-
GATTO	1	-	1	-
TOTALE	476	242	210	24

TABELLA 2

ZONA	FEGATI DI CONIGLIO	
	%TCDD +	%TCDD -
A	97	3
B	84	16
R	80	20
AREE CIRCOSTANTI	12	88

TABELLA 3

VALORI MINIMI E MASSIMI TROVATI NEI FEGATI POSITIVI PER TCDD (ng/g)				
ANIMALI (N°)	ZONA A	ZONA B	ZONA R	AREE CIRCOSTANTI
CONIGLI (270)	3.7-633 (63)	7-838 (16)	0.27-293 (117)	0.32-55 (11)
CAPRE (12)	442-1253 (3)	8.1-57 (3)	0.26-4.1 (4)	11.4-13 (2)

TABELLA 4

TESSUTI O FLUIDI UMANI ANALIZZATI			
	N.	ng/g o ng/ml	
SANGUE	7	-	10.00*
FEGATO	15	-	0.25
CUTE	3	-	8.00
TESSUTO ADIPOSO	3	-	0.40
PLACENTA	1	-	0.25
LIQUOR	2	-	0.40
COLOSTRO	2	-	0.10
LATTE	2	-	0.10

\* ng/g o ml

TABELLA 5

DEGRADAZIONE DELLA TCDD ADSORBITA SU TERRENO MEDIANTE IRRADIAZIONE GAMMA

Effetto dell'irradiazione su concentrazioni crescenti di TCDD

(5 g terra; 1.5 ml EtOH)

DOSE (Mrad)	TCDD ADSORBITA		% DEGRADAZIONE
	(ng)	(ppb)	
0	25	5	0
30	25	5	85
0	50	10	0
30	50	10	82
0	100	20	0
30	100	20	91
0	250	50	0
30	250	50	81

TABELLA 6

DEGRADAZIONE DELLA TCDD ADSORBITA SU TERRENO MEDIANTE IRRADIAZIONE GAMMA

Effetto della dose di irradiazione gamma sull'efficienza di degradazione  
(5g terra; 1.5 ml etanolo)

DOSE (Mrad)	TCDD adsorbita (ng)	% Degradazione
0	50	0
10	50	69
20	50	84
30	50	82
40	50	88



TABELLA 7

DEGRADAZIONE DELLA TCDD ADSORBITA SU TERRENO MEDIANTE IRRADIAZIONE GAMMA

Effetto di diversi rapporti H<sub>2</sub>O/EtOH sull'efficienza di degradazione  
(5g terra; 1.5 ml solvente)

DOSE (Mrad)	H <sub>2</sub> O/EtOH	TCDD adsorbita (ng)	% Degradazione
0	0/1	50	0
30	0/1	50	82
0	1/2	50	0
30	1/2	50	44
0	2/1	50	0
30	2/1	50	21

TABELLA 8

Livelli di TCDD nel fegato di coniglio (30 µg/kg p.o.)

GIORNO	TCDD nel fegato (% della dose somministrata)
1	10-14
2	27-36
4	39-56
7	33-40

TABELLA 9

Conigli (positivi per TCDD*)	N	Citocromo P448	
		nmoli/g fegato	nmoli/mg proteine microsomiali
Controlli	6	n.d.	n.d.
Zona A*	10	14.8 ± 2.9	1.46 ± 0.16
Zona B*	5	13.8 ± 4.4	1.59 ± 0.35
Zona R*	12	5.1 ± 0.8	0.45 ± 0.08

A = B; A ≠ B; B ≠ R. test di Kramer  
(p 0.02) (p 0.05)

n.d. = non dosabile.

TABELLA 9

Conigli (positivi per TCDD)	N	Citocromo P448	
		nmoli/g fegato	nmoli/mg proteine microsomiali
Controlli	6	n.d.	n.d.
Zona A*	10	14.8 ± 2.9	1.46 ± 0.16
Zona B*	5	13.8 ± 4.4	1.59 ± 0.35
Zona R*	12	5.1 ± 0.8	0.45 ± 0.08

A = B; A ≠ B; B ≠ R. test di Kramer

(p 0.02) (p 0.05)

n.d. = non dosabile.

TABELLA 10

Effetto della TCDD sul peso del timo di topo valutato a diversi tempi dopo il trattamento.

TCDD ( $\mu$ /kg)	PESO DEL TIMO AI GIORNI: (mg)			STIMOLAZIONE CON ConA AI GIORNI: (CPM/campione)		
	+ 7	+ 14	+ 21	+ 7	+ 14	+ 21
0	80.2 ( 5.4)	37.5 ( 4.7)	33.5 ( 4.8)	59,400 ( 15,260)	331,256 ( 58,585)	91,693 ( 44,486)
1.2	49.0 * ( 4.8)	40.2 ( 5.0)	38.8 ( 3.1)	52,654 ( 18,430)	258,133 ( 60,329)	N.T.
6.0	48.7 * ( 7.4)	21.5 * ( 1.5)	30.4 ( 5.2)	72,484 ( 26,386)	295,477 ( 55,390)	104,771 ( 31,324)
30	29.5 ** ( 1.6)	25.5 * ( 1.2)	6.7 ** ( 0.5)	92,710 ( 15,319)	309,645 ( 61,950)	118,330 ( 25,029)

1 Km

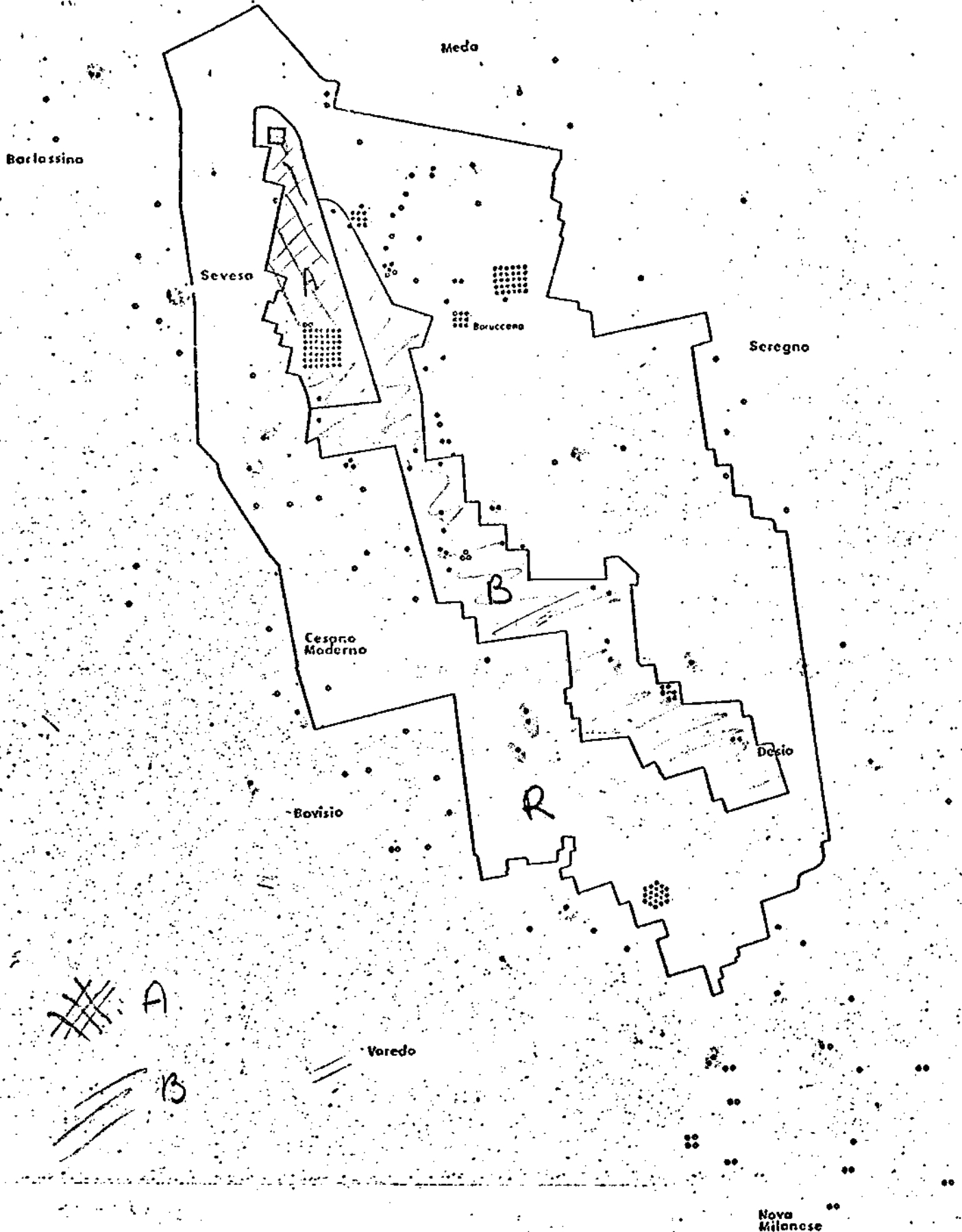
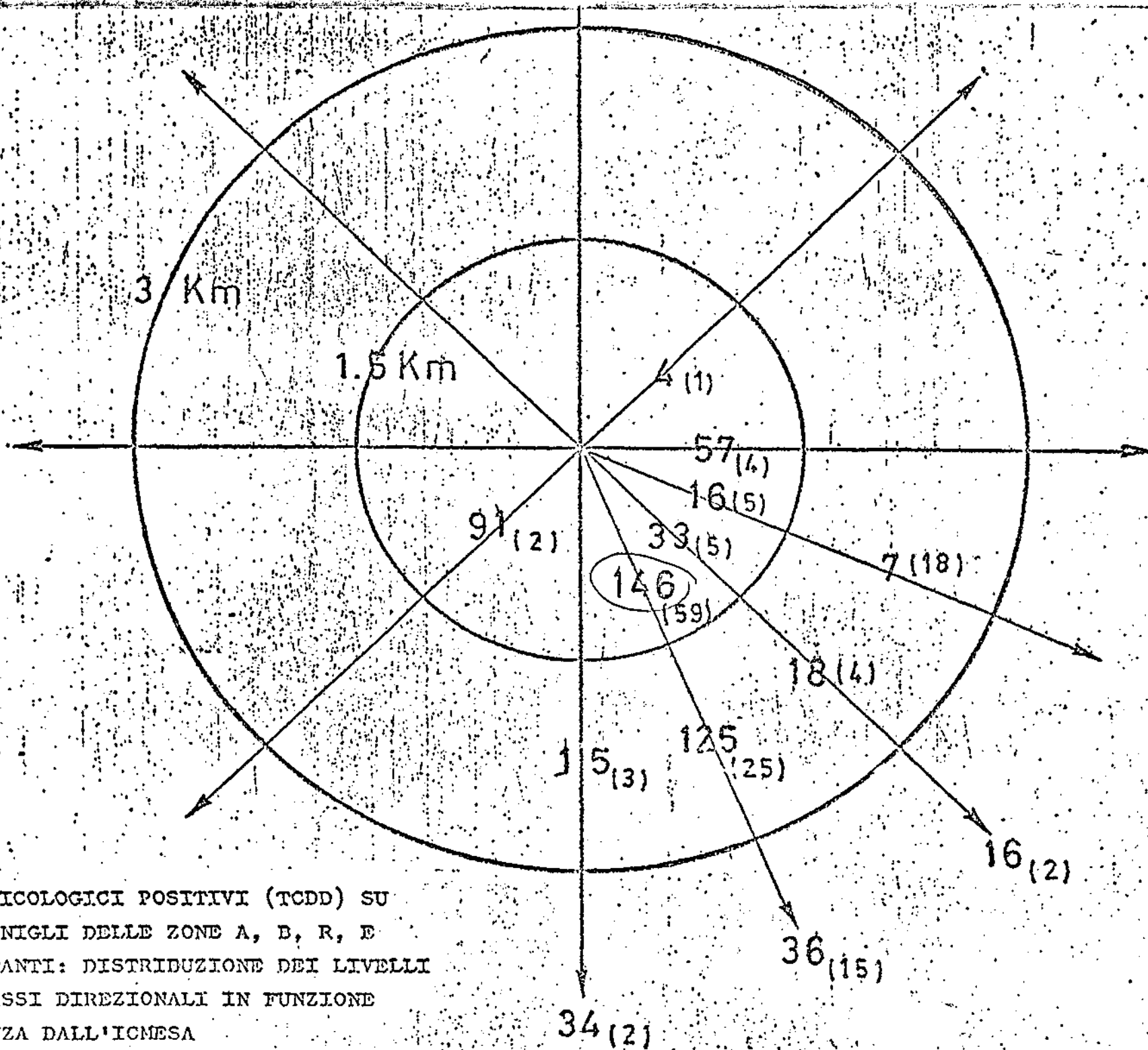


FIGURA 1

MAPPA DEI RILIEVI TOSSICOLOGICI (TCDD)  
SU FEGATI DI CONIGLIO.



ng/g  
(n. reports)

2  
 OSSICOLOGICI POSITIVI (TCDD) SU  
 CONIGLI DELLE ZONE A, B, R, E  
 OSTANTI: DISTRIBUZIONE DEI LIVELLI  
 O ASSI DIREZIONALI IN FUNZIONE  
 TANZA DALL'ICMESA

10 LUGLIO 1976 - 30 SETTEMBRE 1976

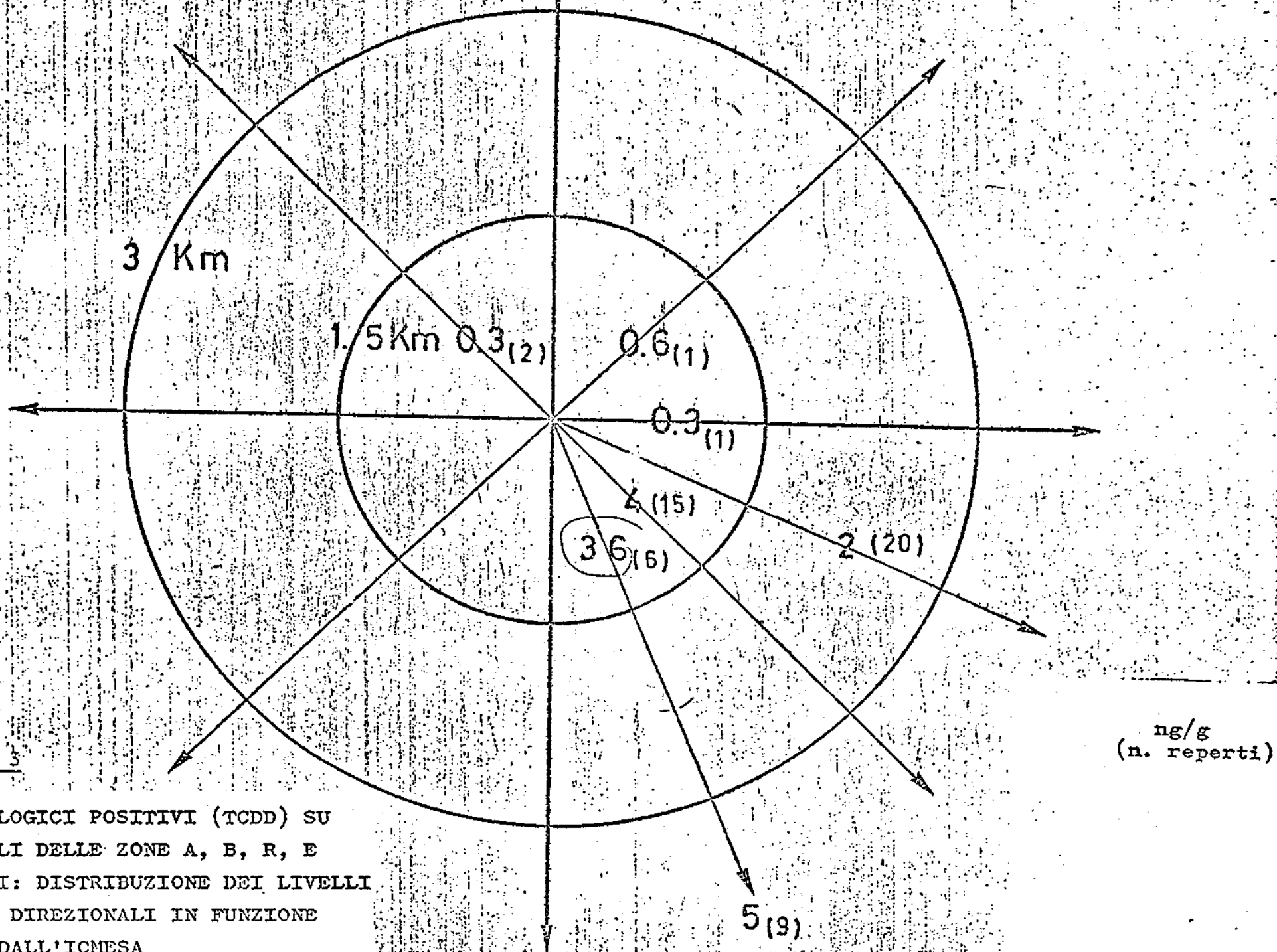
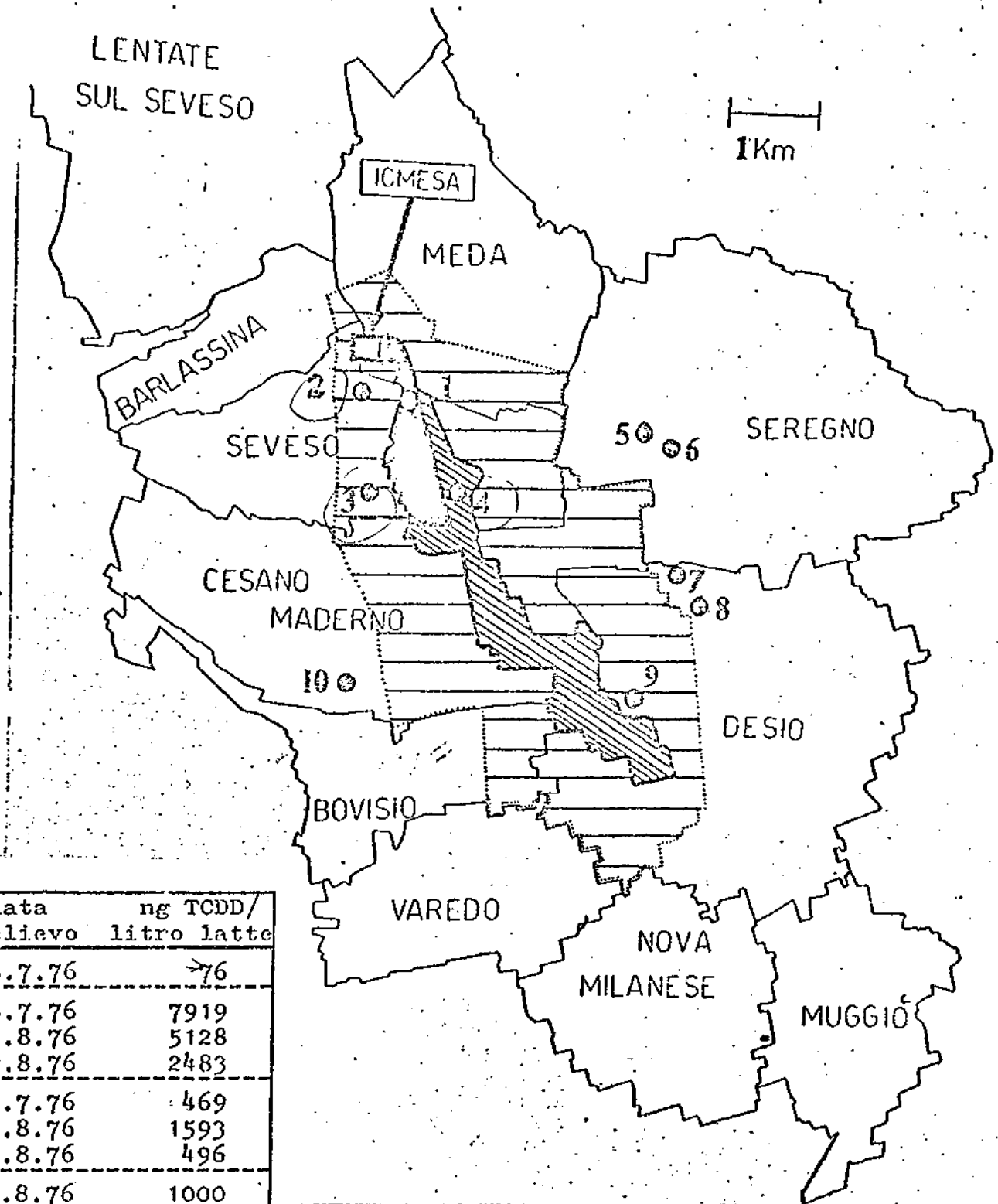


FIGURA 3

TOSSICOLOGICI POSITIVI (TCDD) SU  
 CONIGLI DELLE ZONE A, B, R, E  
 OSTANTI: DISTRIBUZIONE DEI LIVELLI  
 O ASSI DIREZIONALI IN FUNZIONE  
 TANZA DALL'ICMESA  
 I OTTOBRE 1976 AD OGGI

ng/g  
 (n. reperti)

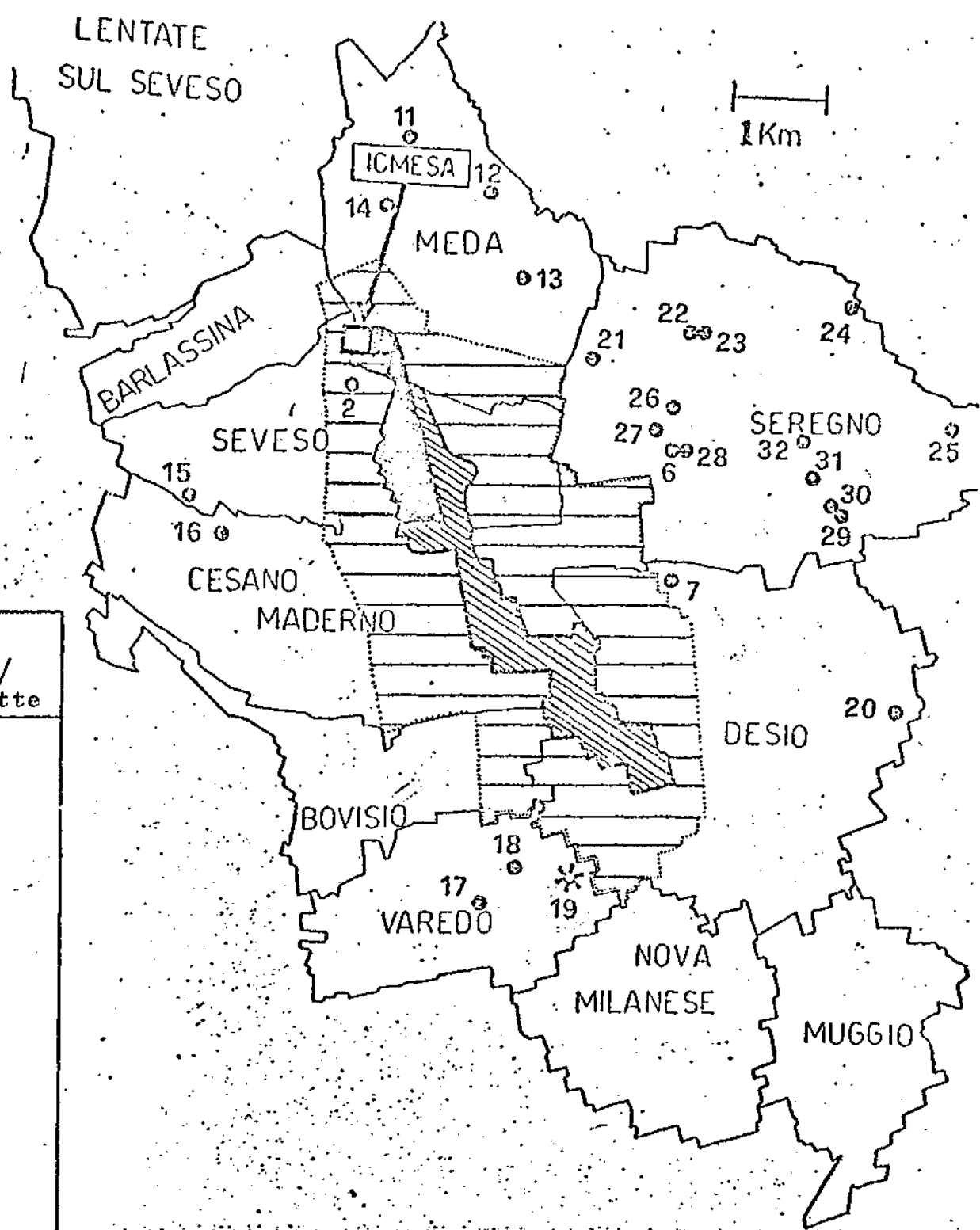




n. mappa	data prelievo	ng TCDD/litro latte
1	28.7.76	>76
2	28.7.76	7919
	2.8.76	5128
	10.8.76	2483
3	28.7.76	469
	2.8.76	1593
	10.8.76	496
4	10.8.76	1000
5	29.7.76	116
6	29.7.76	59
7	3.8.76	80
8	3.8.76	94
9	27.7.76	180
	3.8.76	75
10	5.8.76	nv

nv < 40

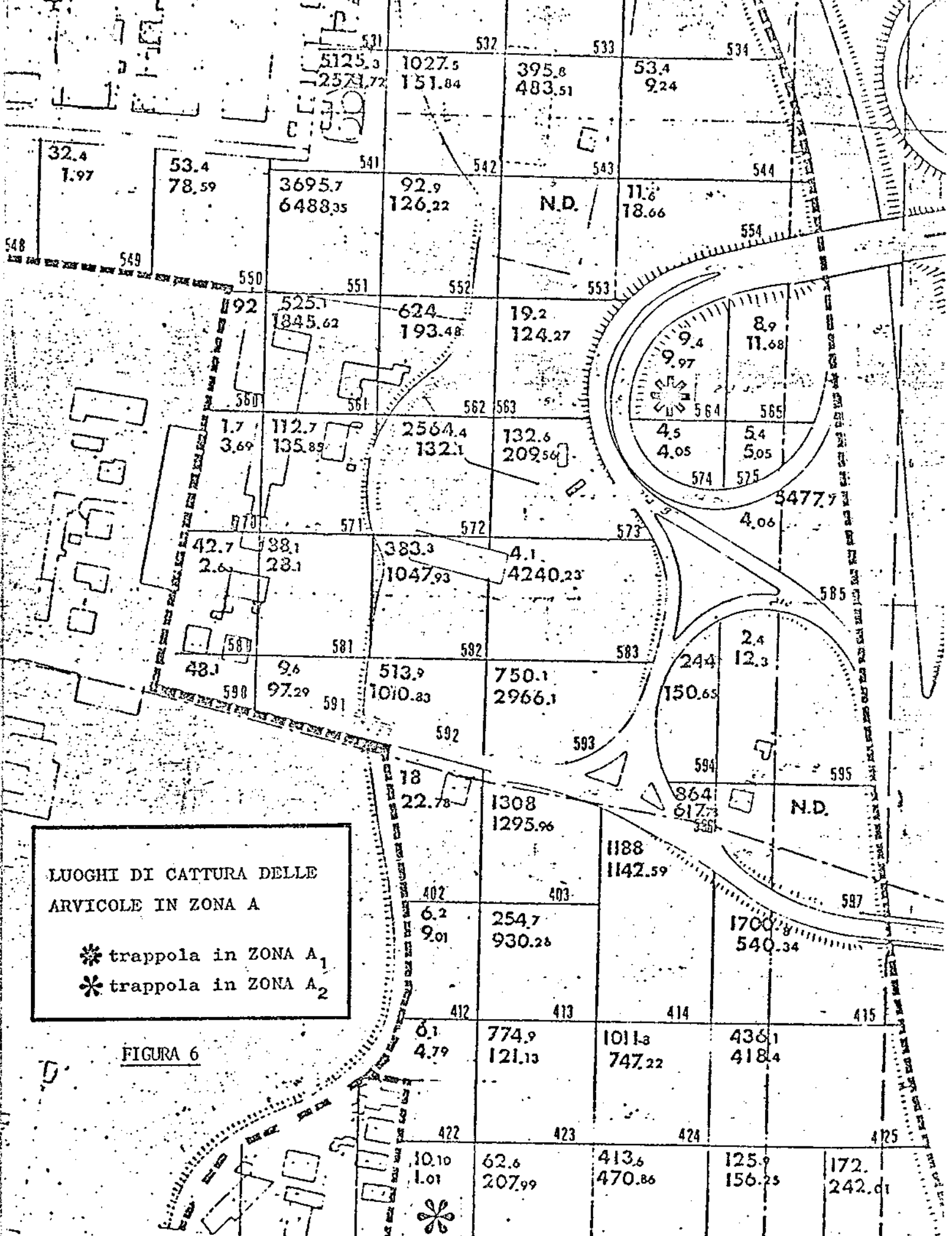
MAPPA DEI RILIEVI TOSSICOLOGICI  
(TCDD) SU CAMPIONI DI LATTE  
BOVINO PRELEVATI NEL PERIODO  
LUGLIO-AGOSTO 1976



n. mappa	ng TCDD/ litro latte
2	<58
2	<55
2	<40
2	<71
2	<51
2	<95
2	<20
2	<18
2	<22
2	<38
2	<60
2	<47
6	<18
7	<85
11	<19
12	<39
13	<52
14	<32
15	<40
16	<46
17	<15
18	<18
19	18
19	28
19	26
19	20
19	32
20	<18
21	<14
22	<15
23	<20
24	<28
25	<18
26	<37
27	<39

MAPPA DEI RILIEVI TOSSICOLOGICI  
(TCDD) SU CAMPIONI DI LATTE  
BOVINO PRELEVATI NEL 1978

FIGURA 5



LUOGHI DI CATTURA DELLE  
ARVICOLE IN ZONA A

- \* trappola in ZONA A<sub>1</sub>
- \* trappola in ZONA A<sub>2</sub>

FIGURA 6



32.4 1.97	53.4 78.59	3695.7 6488.35	92.9 126.22	N.D.	11.8 18.66
525.1 1845.62	624 193.48	19.2 124.27	8.9 11.68		
1.7 3.69	112.7 135.89	2564.4 132.1	132.6 209.56	4.5 4.05	5.4 5.05
42.7 2.6	38.1 28.1	383.3 1047.93	4.1 4240.23	5.74 5.75	4.06
48.1	9.6 97.29	513.9 1010.83	750.1 2966.1	2.4 12.3	150.65
18 22.78	1308 1295.96	1188 1142.59	864 617.3	N.D.	
6.2 9.01	254.7 930.28	1700.8 540.34			
6.1 4.79	774.9 121.13	1011.8 747.22	436.1 418.4		
10.10 Lot	62.6 207.99	413.6 470.86	125.9 156.25	172. 242.01	

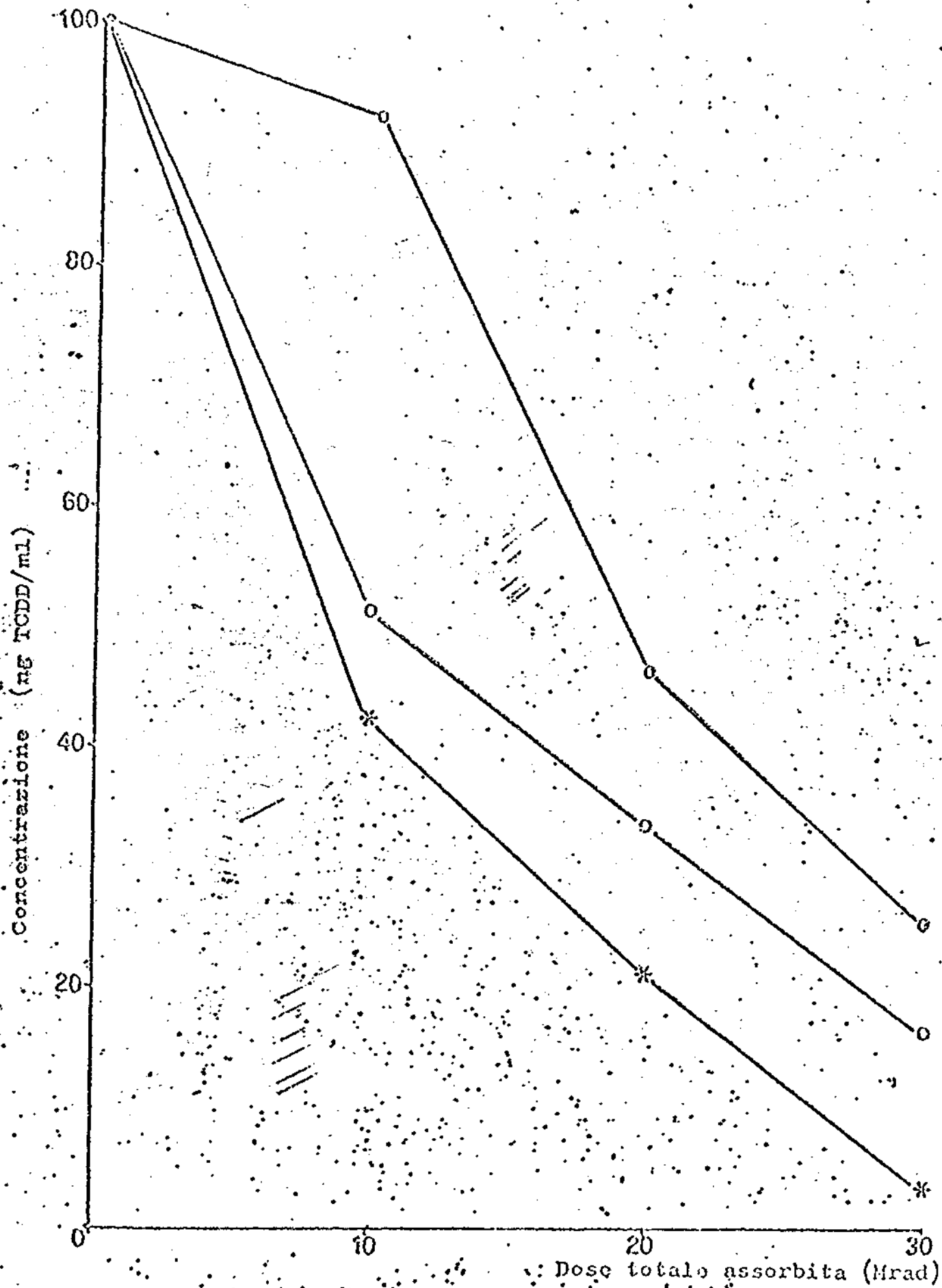
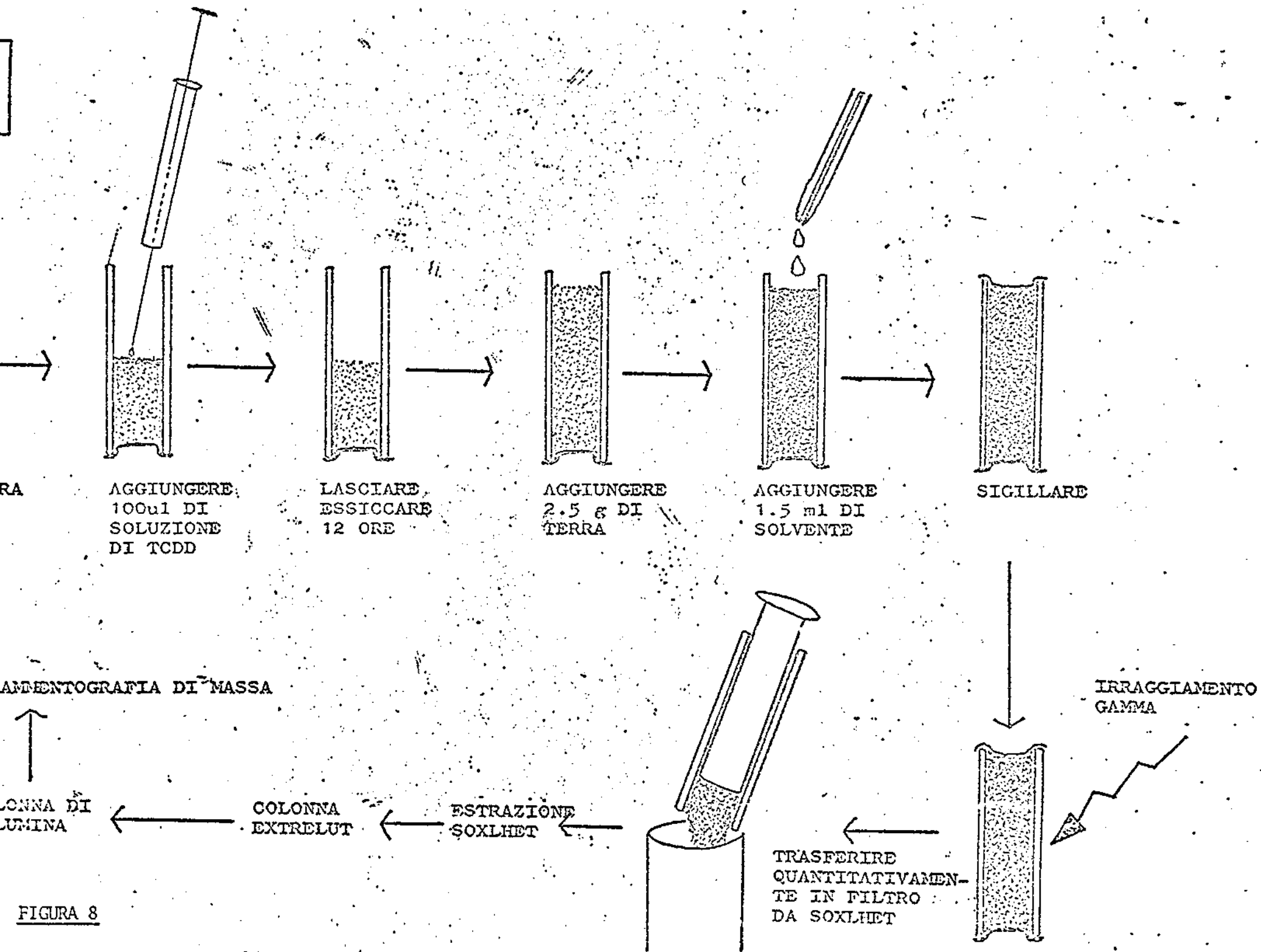


FIGURA 7

Effetto del

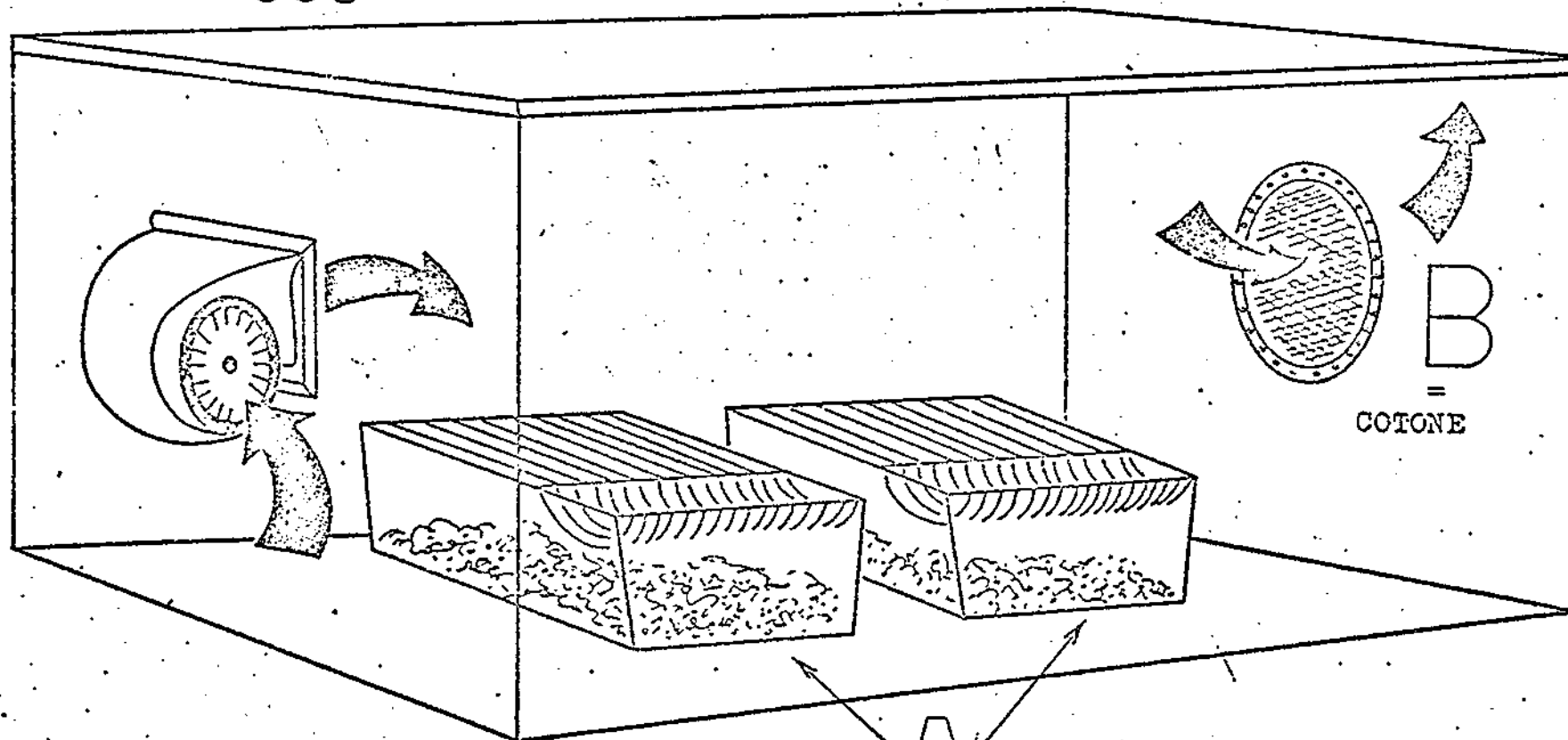


$$A \quad \frac{40.3}{100}$$

FRAZIONE DOSE  
ESCRETA IN 13 gg

$$B \quad \frac{3}{100'000}$$

FRAZIONE DOSE  
TRATTENUTA IN 13gg



A

= LETTIERA  
50 % DELLA DOSE  
ESCRETA IN 16.3. gg  
(estrapolazione)

FIGURA 9