



Primi risultati aggiornati al 14.12.2017 relativi all'applicazione del II livello previsto dal protocollo di screening della popolazione esposta a sostanze perfluoroalchiliche a seguito dell'utilizzo della plasmaferesi per i soggetti con alte concentrazioni di PFAS.

Premessa

Le sostanze perfluoroalchiliche (PFAs) sono una famiglia di composti chimici, prodotti dall'uomo, utilizzati nell'industria per rendere i materiali resistenti ai grassi e all'acqua; vengono anche usati nella produzione di cosmetici e di alcuni farmaci.

Sono costituiti da catene di atomi di carbonio a lunghezza variabile (da 4-16), legate ad atomi di fluoro e ad altri gruppi funzionali. Per molti anni i PFAs più utilizzati sono stati quelli a 8 atomi di carbonio come l'acido perfluorooctansolfonico (PFOS) e l'acido perfluorooctanoico (PFOA). A causa della loro persistenza ambientale e della possibilità di accumularsi nell'organismo, dove permangono per periodi prolungati, a partire dagli anni 2000 alcune ditte produttrici hanno previsto l'interruzione della produzione di PFAs a catena lunga e la loro sostituzione con PFAs a catena più corta (6 o 4 atomi di carbonio).

I PFAs sono sostanze con proprietà molto significative:

- chimicamente stabili nell'ambiente;
- resistenti ai naturali processi di degradazione;
- con capacità di bioaccumulo nell'uomo;
- con caratteristiche idrofile (affini all'acqua) e lipofile (affini ai grassi).

In alcuni Comuni del Veneto si è verificato un inquinamento da PFAs delle acque a partire dagli anni '70. Le Strutture regionali della Sanità sono venute a conoscenza di tale fenomeno nel 2013 attraverso la relazione elaborata dall'Istituto di Ricerca sulle Acque – CNR, trasmessa dal Ministero della Salute. Da allora la Regione Veneto ha messo in atto numerose azioni, come l'individuazione dell'area di contaminazione e della principale fonte responsabile, la messa in sicurezza della distribuzione dell'acqua potabile e la mappatura ed il controllo dei pozzi privati, l'avvio di uno studio di biomonitoraggio, l'avvio di studi retrospettivi ed ecologici sulle patologie tumorali, l'istituzione di Gruppi di lavoro e di una specifica Commissione sul tema.

Il Piano di Sorveglianza sulla Popolazione Esposta alle sostanze Perfluoroalchiliche.

All'esito dei risultati prodotti dalle analisi sierologiche condotte sulla popolazione, nell'ambito dello studio di "Biomonitoraggio di sostanze perfluoroalchiliche (PFAs) in alcuni ambiti del territorio della Regione del Veneto", realizzato in collaborazione tra l'Istituto Superiore di Sanità e la Regione Veneto, quest'ultima ha avviato un "Piano di Sorveglianza sulla Popolazione Esposta alle sostanze Perfluoroalchiliche".

Il Piano, approvato con la **D.G.R. n. 2133 del 23/12/2016**, si pone come obiettivo generale "la prevenzione delle malattie croniche degenerative dovute all'esposizione alle sostanze perfluoroalchiliche ed agli scorretti stili di vita, attraverso la presa in carico della popolazione

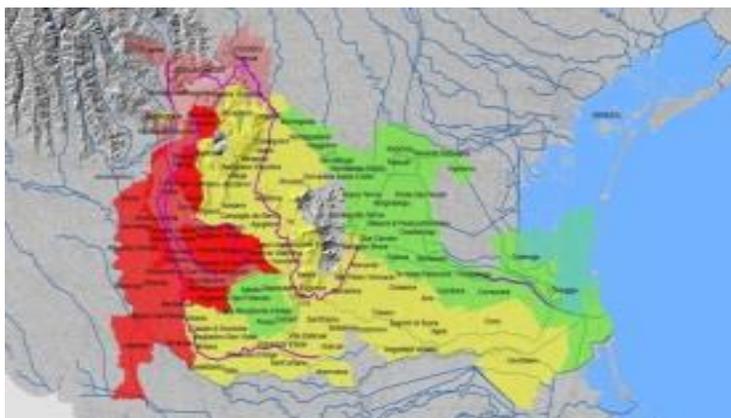
esposta” e si basa sulla considerazione che la popolazione esposta ai PFAs possa presentare un maggior rischio di incorrere in malattie croniche determinate non solo dai quattro principali fattori di rischio (fumo, alcool, sedentarietà e sovrappeso), ma anche dall’esposizione a queste sostanze, che si configurano, pertanto, come il “quinto” fattore di rischio.

In particolare il Piano si propone di:

- caratterizzare l’esposizione a PFAs delle persone che risiedono nelle aree contaminate;
- valutare gli effetti delle esposizioni a PFAs sulla salute dei soggetti esposti;
- identificare i comportamenti a rischio per le malattie croniche degenerative.

All’interno del Piano è stata definita, attraverso l’analisi dei dati, la graduazione delle aree in: Area Rossa, Area Arancione, Area Gialla, Area Verde.

L’Area Rossa è l’area di maggior impatto sanitario prima della apposizione dei filtri, sulla base dei risultati del biomonitoraggio, partendo dai Comuni con la più significativa concentrazione di PFOA nel sangue, e dove si riscontrano elevate concentrazioni di queste sostanze nelle acque sotterranee e superficiali. In tale Area, è stato possibile differenziare un’area dove è maggiore la concentrazione di sostanze perfluoroalchiliche in tutte le acque, denominata “Area Rossa A”, ed un’area dove la contaminazione delle acque superficiali e sotterranee è minore, denominata “Area Rossa B”.



Gli obiettivi del Piano si coordinano con il monitoraggio dello stato di salute dei soggetti esposti, attraverso l’offerta terapeutica affidata alla medicina di famiglia, e con l’attivazione ed il potenziamento delle attività di prevenzione affidate ai Dipartimenti di Prevenzione presenti sul territorio, per il contrasto degli stili di vita scorretti.

Il Piano è stato esteso alle cinque Aziende ULSS coinvolte (**ULSS 6 Euganea** - ex ULSS 17, **ULSS 8 Berica** - ex ULSS 5 ed ex ULSS 6 ed **ULSS 9 Scaligera** - ex ULSS 20 ed ex ULSS 21) ed ha interessato quasi 85.000 persone, comprese tra i 14 ed i 65 anni.

La fase operativa iniziale è stata coordinata dall’Azienda ULSS 8 Berica.

La chiamata è strutturata come uno screening oncologico, convocando i singoli cittadini, con chiamata attiva e con periodicità biennale. L’inizio dell’invio degli inviti a partecipare allo screening, che è partito con i più giovani (14enni), è avvenuta a dicembre 2016; lo screening per la popolazione target è completamente **gratuito**.

La scelta di iniziare con i più giovani è stata dettata dal fatto che l’eventuale alta concentrazione di PFAs e/o di rilevanti alterazioni metaboliche in tali soggetti potrebbe rappresentare motivo utile ad approfondimenti in termini di coorti interessate e di correlazione sanitaria all’esposizione alle

sostanze in oggetto, in quanto gli scorretti stili di vita risultano meno associati ai soggetti appartenenti alle coorti più giovani (14-15enni).

La Regione del Veneto si è inoltre fornita di un Sistema Informativo Regionale Screening PFAs con il quale ottimizzare tutto il processo dell'indagine dagli inviti alla registrazione dei referti agli invii dei risultati ed alla elaborazione degli indicatori di salute più rappresentativi.

Per le donne in gravidanza e per i lavoratori dell'azienda produttrice di queste sostanze verrà avviato un piano di sorveglianza ad hoc.

Lo screening prevede:

- un'intervista per individuare abitudini di vita non salutari e informazioni e consigli su come proteggere la propria salute;
- misurazione della pressione arteriosa;
- alcuni semplici esami del sangue e delle urine per valutare lo stato di salute di fegato, reni e tiroide e l'eventuale presenza di alterazioni del metabolismo dei grassi e degli zuccheri;
- il dosaggio di dodici sostanze PFAs nel siero.

Se dai risultati dello screening di I livello emerge che:

- i PFAs e gli esami ematochimici sono nella norma, il soggetto viene richiamato per un successivo screening dopo 24 mesi;
- i PFAs sono elevati, il soggetto può usufruire del "trattamento per alte concentrazioni di PFAs" (D.G.R. n. 851/2017), che prevede la PLASMAFERESI o lo SCAMBIO PLASMATICO come possibili trattamenti per ridurre le concentrazioni di queste sostanze;
- i PFAs e gli esami ematochimici sono alterati, il soggetto viene preso in carico per lo SCREENING DI II LIVELLO (D.G.R. n. 851/2017).

La Plasmaferesi e lo Scambio plasmatico.

E' un dato certo che nei soggetti dell'area di massimo impatto sanitario PFOA e PFOS sono presenti nel sangue circolante, in forma legata alle proteine e in particolare all'albumina. Tale condizione costituisce il razionale di intervento con tecniche di sola rimozione o di scambio del plasma per abbassare il livello di PFAs nei soggetti con valori ematici particolarmente elevati.

La **Plasmaferesi** è una procedura che consiste nella rimozione del plasma senza necessità di sostituzione per il basso volume sottratto. Essa viene utilizzata routinariamente nei donatori a scopo produttivo con un volume massimo di raccolta previsto dalla Legge Italiana (D.M. 02/11/2015) di 12 litri/anno (con intervallo minimo tra 2 plasmaferesi di 14 giorni). In Italia vengono effettuate più di 400.000 procedure di plasmaferesi per anno (in Veneto 54.000 procedure nel 2016).

Lo **Scambio plasmatico (Pex)**, consiste invece nella rimozione di elevati volumi di plasma con sostituzione di equivalente volume di soluzione di sostituzione (fisiologica albuminata 4%) ed è una procedura utilizzata a scopo terapeutico. In Italia ogni anno vengono effettuate oltre 27.000 aferesi terapeutiche, di cui il 15% Pex (in Veneto 4.025 aferesi terapeutiche, delle quali 2.212 Pex nel 2016).

Le linee guida della Società Americana di Aferesi (ASFA 2016)¹ prevedono l'utilizzo dello Scambio plasmatico nel trattamento di avvelenamento da funghi o da sostanze chimiche o da farmaci che si

leghino a proteine plasmatiche: il grado di evidenza e la forza della raccomandazione, Cat. II-III, 2C, sono ovviamente bassi, in quanto tali situazioni per motivi etici non si prestano a studi randomizzati e controllati, unico strumento per raggiungere evidenze superiori.

Come già detto, PFOA e PFOS non sono specificamente citati tra le sostanze tossiche suscettibili di rimozione e d'altra parte nessuna sostanza è citata; peraltro i casi di contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche sono stati finora un numero limitato.

Non possono esistere evidenze scientifiche circa l'efficacia della plasmateresi sulla rimozione delle sostanze PFAs, in quanto in letteratura non è presente una offerta di presa in carico sanitario dei soggetti esposti con un secondo livello come quello avviato nella Regione Veneto, che ha una situazione di contaminazione e di bioaccumulo nelle persone esposte tra le più alte al mondo.

L'unica segnalazione, presente in letteratura, è relativa a un nucleo familiare particolarmente esposto all'assunzione di tali sostanze e sottoposto a salassoterapia: in queste persone i tempi di eliminazione delle sostanze si sono dimostrati notevolmente ridotti rispetto al rimanente della popolazione esposta, non trattata (Phlebotomy treatment for elimination of perfluoroalkyl acids in a highly exposed family: a retrospective case-series. Genuis SJ, et al. PLoS One. 2014). Ovviamente il limite della salasso terapia è dato dalla piccola quantità di plasma sottratto ad ogni salasso e dalla necessità di limitare il numero delle procedure per evitare l'anemizzazione dei soggetti. Nelle procedure di salasso terapia, posto un ematocrito di 45%, la quantità di plasma sottratto a fronte di un salasso di 450 ml è pari a circa 250 ml; nelle procedure di plasmateresi, per soggetti di peso superiore a 50 kg, secondo quanto previsto dalle normative che regolano la donazione di sangue ed emocomponenti (D.M. 02/11/2015), è possibile sottrarre fino a 600 ml di plasma ad ogni procedura e tali procedure possono essere ripetute a distanza di 14 giorni per un volume massimo annuale pari a 12 L. Anche nelle procedure di scambio plasmatico il volume sottratto e, in questo caso, sostituito, varia a seconda del peso e dell'ematocrito del soggetto: in un adulto con parametri medi normali (65 Kg di peso corporeo, 45% di ematocrito) il volume plasmatico è pari a 2300 mL: ad ogni procedura viene rimosso l'80% del plasma circolante (1850 mL), determinando, per il fattore diluizione, uno scambio effettivo pari al 55% del volume plasmatico.

In base a quanto detto finora, nell'ambito del II livello sono stati previsti quali possibili procedure di riduzione della concentrazione di PFAs, a seconda dei livelli di PFOA rilevati allo screening, lo scambio plasmatico o la plasmateresi.

Il programma regionale, al quale l'adesione è su base volontaria, è così articolato:

- i soggetti che presentano valori di PFOA allo screening maggiori di 200 ng/ml sono invitati tramite consegna al soggetto di un'informazione a contattare il Centro Trasfusionale di Padova per una valutazione in merito alla procedura di SCAMBIO PLASMATICO. Lo schema di trattamento prevede 3 procedure di scambio plasmatico, 1 a settimana. Ad ogni procedura la rimozione di plasma è pari all'80% del volume plasmatico e il liquido rimosso viene sostituito con soluzione fisiologica più albumina al 4%.
- I soggetti maggiorenni che presentano valori di PFOA allo screening compresi tra 150 e 200 ng/ml e i soggetti minorenni (nati prima del 31/12/2002) che presentano valori di PFOA allo screening compresi tra 100 e 200 ng/ml sono invece invitati a contattare il Centro

Trasfusionale di Vicenza per una valutazione in merito alla procedura di PLASMAFERESI. Lo schema di trattamento prevede 6 Plasmaferesi, 1 ogni 15 giorni. Ad ogni seduta la rimozione di plasma è pari a 616 ml nei soggetti di peso \geq 50Kg e proporzionalmente inferiore per peso corporeo minore.

I soggetti trattati sono sottoposti nel corso del trattamento a ripetuti dosaggi plasmatici per la determinazione della concentrazione dei PFAs.

- Nei soggetti in trattamento con plasmaferesi il dosaggio è eseguito prima di ogni procedura di plasmaferesi;
- nei soggetti in trattamento con scambio plasmatico il dosaggio è eseguito prima e dopo ogni procedura.

Il follow up è previsto a 30 giorni e a 6 mesi dall'ultimo trattamento.

Il percorso di offerta della plasmaferesi o scambio plasmatico è descritta nella **DGR 851 del 13/6/2017**: il documento è stato sottoposto a valutazione del Comitato Etico Regionale che ha espresso parere in merito (allegato2).

I soggetti di età inferiore a 14 anni non rientrano nel protocollo in oggetto.

Analisi preliminare (dati aggiornati al 14/12/2017)

PLASMAFERESI

Sono stati valutati (colloquio e visita preliminare) 111 soggetti, 70 hanno intrapreso ad oggi il trattamento per un totale di 330 procedure:

- **Età:**
 - 28 nati prima del 31/12/1999 (maggioirenni)
 - 21 nati nell'anno 2000
 - 12 nati nell'anno 2001
 - 9 nati nell'anno 2002
- **Sesso:** 19 femmine, 51 maschi
- **Numero di procedure effettuate/soggetto:**
 - 30 soggetti hanno effettuato 6 procedure
 - 17 soggetti hanno effettuato 5 procedure
 - 9 soggetti hanno effettuato 4 procedure
 - 5 soggetti hanno effettuato 3 procedure
 - 5 soggetti hanno effettuato 2 procedure
 - 4 soggetti hanno effettuato 1 procedura

Dosaggi PFOA

		Media	Mediana
	Soggetti	PFOA ng/ml	PFOA ng/ml
pfoa_t0	111	153,3	157,4
pfoa_t1	70	118,4	113,6
pfoa_t2	66	108,8	103,8
pfoa_t3	61	103	100,2
pfoa_t4	56	94,1	92,2
pfoa_t5	47	70,2	67,5

- t0: valore rilevato allo screening
- t1-t5: valore rilevato prima di ogni procedura di plasmateresi
ne consegue che t0-t1 rappresenta la variazione “naturale” e senza intervento, t1-t5 rappresenta la variazione dopo una procedura.

	Calo medio PFOA ng/ml
t0 → t1	31,7
t1 → t2	9,6
t2 → t3	5,8
t3 → t4	8,9
t4 → t5	23,9
t1 → t5	40,1

Il calo medio dopo quattro procedure pari a 40,1 ng/ml corrisponde al 35% di calo rispetto al valore iniziale.

SCAMBIO PLASMATICO

Sono stati valutati (colloquio e visita preliminare) 49 soggetti, 16 hanno completato il trattamento (1 ha sospeso dopo 2 procedure), 3 sono in corso di trattamento, 16 sono in lista e 8 sono in attesa per accertamenti sanitari.

- **Età:**
 - 14 nati prima del 31/12/1999 (maggiorescenti)
 - 2 nati nell'anno 2000
- **Sesso:** 2 femmine, 14 maschi

Nella Tabella che segue sono riportate le percentuali di riduzione di PFOA e PFOS per ogni singola procedura, tra l'inizio e la fine del trattamento e tra l'inizio e il controllo a 30 giorni.

RIDUZIONE MEDIA PFOA /PFOS 1° SCAMBIO PLASMATICO	46,9/42,7
RIDUZIONE MEDIA PFOA /PFOS 2° SCAMBIO PLASMATICO	47,3/43,1
RIDUZIONE MEDIA PFOA/PFOS 3° SCAMBIO PLASMATICO	47,2/42,0
RIDUZIONE MEDIA PFOA/PFOS 1°-3° SCAMBIO PLASMATICO	68,4/61,0
RIDUZIONE MEDIA PFOA /PFOS 1° SCAMBIO PLASMATICO-CONTROLLO 30 gg	56,3/43,7

Andamento PFOA in 4 soggetti trattati con Pex

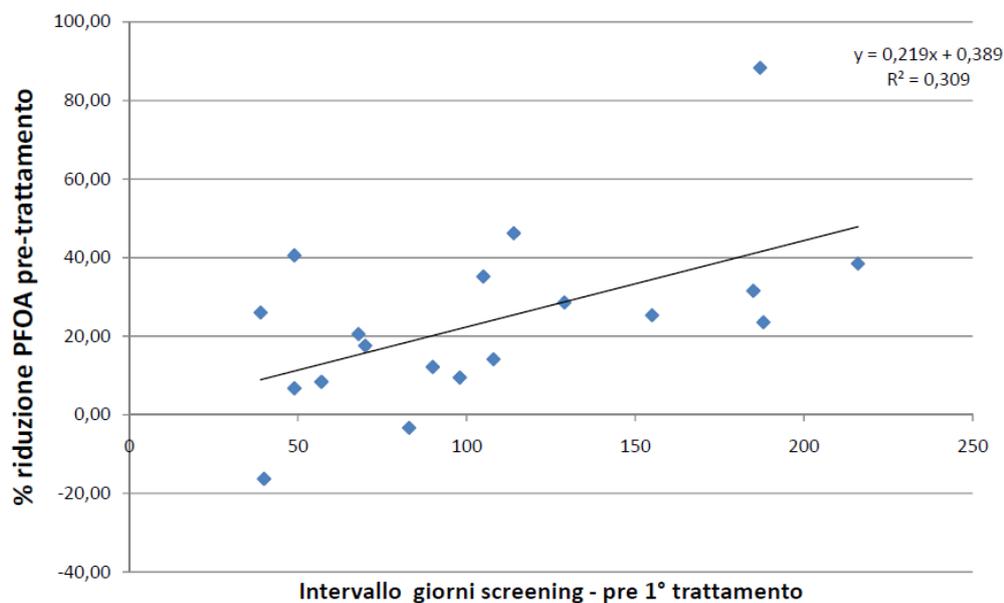
(PFOA allo screening > 200 ng/mL)



CONSIDERAZIONI PRELIMINARI:

- Vi è un naturale calo delle concentrazioni ($t_0 - t_1$) prima dell'intervento sanitario, **molto probabilmente legato alle misure di sanità pubblica che hanno portato alla riduzione dell'esposizione**, ma anche alla fisiologica eliminazione della sostanza: l'analisi dei dati cumulativi evidenzia una diminuzione media del 31,7% dal momento dello screening al momento del dosaggio preliminare alla prima procedura. Inoltre, il test di regressione lineare eseguito sui dati di un campione di 19 soggetti dimostrerebbe che c'è una significatività tra giorni intercorsi e diminuzione dei valori. E' probabile che una numerosità maggiore potrebbe dare maggior peso al risultato.
- Nei soggetti trattati con Plasmaferesi la concentrazione media di PFOA scende ma non in maniera lineare. **Dopo 4 procedure vi è comunque un calo medio di 40,1 ng/ml che mi corrisponde al 35% di calo rispetto al valore iniziale.**
- Come atteso, nei soggetti trattati con Scambio plasmatico la diminuzione è molto più evidente. Si osserva una risalita della concentrazione plasmatica tra il post di una procedura e il pre della successiva: ugualmente, nei controlli a 30 giorni vi è una risalita delle concentrazioni, a conferma dell'ipotesi preliminare al programma di trattamento, di possibile rimozione dai depositi tissutali.
- Nei soggetti trattati con Plasmaferesi o Scambio Plasmatico in relazione alla quantità di sostanza rimossa, se la sostanza fosse solo presente solo nel plasma, la procedura applicata avrebbe dovuto portare a completa eliminazione della sostanza stessa. Il fatto che le concentrazioni plasmatiche si riducano, ma non si azzerino, è verosimilmente imputabile ad una mobilizzazione verso lo spazio intravascolare di sostanza presente nei tessuti. Tale mobilizzazione probabilmente è favorita dalla rimozione attiva dei PFAs circolanti mediante plasmaferesi e scambio plasmatico.
- Il calo delle concentrazioni ($t_0 - t_1$) prima dell'intervento sanitario potrebbe suggerire l'opportunità di un monitoraggio dei soggetti non trattati: sulla scorta di questi dati potrà essere compreso quale sia il metabolismo fisiologico di queste sostanze e il reale tempo necessario alla loro eliminazione.
- I dati si riferiscono ancora a un campione numericamente poco rappresentativo, verranno successivamente stratificati per sesso, età e, soprattutto, per tempo trascorso e georeferenziati.

Riduzione PFOA (dallo screening al primo trattamento)



Intervallo medio screening – pre 1° trattamento: 114 giorni	% riduzione screening – pre 1° trattamento <u>PFOA</u> 27,7%	% riduzione screening – pre 1° trattamento <u>PFOS</u> 15%
-------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------

Il grafico evidenzia (su 19 soggetti) la correlazione tra calo della concentrazione dei Pfas e tempo intercorso tra lo screening ed il dosaggio successivo.

BIBLIOGRAFIA

¹ Gli articoli riportati nelle Linee Guida ASFA 2016 relativi al trattamento aferetico in casi di avvelenamenti/intossicazioni sono :

- Abraham M, Tilzer L, Hoehn KS, Thornton SL. Therapeutic plasma exchange for refractory hemolysis after brown recluse spider (*loxosceles reclusa*) envenomation. *J Med Toxicol* 2015;**11**:364–367
- Dişel NR, Akpınar AA, Sebe A, Karakoç E, Sürer S, Turhan FT, Matyar S. Therapeutic plasma exchange in poisoning: 8 years' experience of a university hospital. *Am J Emerg Med* 2015;**33**:1391–1395.
- Ho WK, Verner E, Dauer R, Duggan J. ADAMTS-13 activity, microangiopathic haemolytic anaemia and thrombocytopenia following snake bite envenomation. *Pathology* 2010;**42**:200–202.
- Ibrahim RB, Balogun RA. Medications and therapeutic apheresis procedures: are we doing our best? *J Clin Apher* 2013;**28**:73–77.
- Ibrahim RB, Balogun RA. Medications in patients treated with therapeutic plasma exchange: prescription dosage, timing, and drug overdose. *Semin Dial* 2012;**25**:176–189.
- Pahwa N, Bharani R, Jain M, Argal S, Soni H, Kosta S, Kumar R. Therapeutic plasma exchange: an effective treatment in ethylene dibromide poisoning cases. *J Clin Apher* 2013;**28**:374–377.
- Pantanowitz L, Andrzejewski C. Plasma exchange therapy for victims of envenomation: is this reasonable? *J Clin Apher* 2006;**21**:215–218.

- Patel N, Bayliss GP. Developments in extracorporeal therapy for the poisoned patient. *Adv Drug Deliv Rev* 2015;**90**:3–11.
- Sari I, Turkcuer I, Erurker T, Serinken M, Seyit M, Keskin A. Therapeutic plasma exchange in amitriptyline intoxication: case report and review of the literature. *Transfus Apher Sci* 2011;**45**:183–185.
- Schutt RC, Ronco C, Rosner MH. The role of therapeutic plasma exchange in poisonings and intoxications. *Semin Dial* 2012;**25**:201–206.
- Valavi E, Ahmadzadeh A, Amoori P, Daneshgar A. High frequency of acquired ADAMTS13 deficiency after hemolysis in *Hemiscorpius Lepturus* (scorpion) stung children. *Indian J Pediatr* 2014;**81**:665–669.
- Wang CF, Nie XJ, Chen GM, Yu ZH, Li Z, Sun ZW, Weng ZF, Yang YY, Chen SL, Zheng SR, Luo YY, Lu YT, Cao HQ, Zhan HX. Early plasma exchange for treating ricin toxicity in children after castor bean ingestion. *J Clin Apher* 2015;**30**:141–146.
- Yesilbas O, Kihitir HS, Altiti M, Petmezci MT, Balkaya S, Bursal Duramaz B, Ersoy M, Sevketoglu E. Acute severe organophosphate poisoning in a child who was successfully treated with therapeutic plasma exchange, high-volume hemodiafiltration, and lipid infusion. *J Clin Apher*. 2015 Aug 14. [Epub ahead of print].
- Yildirim C, Bayraktaroglu Z, Gunay N, Bozkurt S, Kose A, Yilmaz M. The use of therapeutic plasmapheresis in the treatment of poisoned and snake bite victims: an academic emergency department's experiences. *J Clin Apher* 2006;**21**:219–223.
- Zengin S, Yilmaz M, Al B, Yildirim C, Yarbil P, Kilic H, Bozkurt S, Kose A, Bayraktaroglu Z. Plasma exchange as a complementary approach to snake bite treatment: an academic emergency department's experiences. *Transfus Apher Sci* 2013;**49**:494–498

A cura di:

Dr.ssa Alberta Alghisi
 Direttore UOC Medicina TrASFusionale
 Dipartimento Interaziendale di Medicina
 TrASFusionale (DIMT) - Azienda ULSS 8 Berica

Dr.ssa Giustina De Silvestro
 Direttore Reparto ImmunotrASFusionale
 Azienda Ospedaliera di Padova