ARPA

Agenzia Regionale per la Prevenzione e l'Ambiente

dell'Emilia - Romagna

* * *

Atti amministrativi

Deliberazione del Direttore Generale	n. DEL-2010-26 del 15/03/2010
Oggetto	Servizio Affari istituzionali, Pianificazione e Comunicazione. Approvazione protocollo di intesa sull'impiego del laboratorio della centrale di Pontelagoscuro (FE).
Proposta	n. PDEL-2010-27 del 01/03/2010
Struttura proponente	Servizio Affari Istituzionali, Pianificazione e Comunicazione
Dirigente proponente	Polacchini Vanna
Responsabile del procedimento	Fantini Giovanni

Questo giorno 15 (quindici) marzo 2010 (duemiladieci), presso la sede di Via Po n. 5, in Bologna, il Direttore Generale, Prof. Stefano Tibaldi, delibera quanto segue.

Oggetto: **Servizio Affari istituzionali, Pianificazione e Comunicazione. Approvazione Protocollo di intesa sull'impiego del laboratorio della centrale di Pontelagoscuro (FE).**

VISTA:

- la L.R. 19 aprile 1995, n. 44, che istituisce l'Agenzia Regionale per la Prevenzione e l'Ambiente dell'Emilia-Romagna (ARPA), quale ente strumentale della Regione Emilia-Romagna preposto all'esercizio delle funzioni tecniche per la prevenzione collettiva e per i controlli ambientali, nonché all'erogazione di prestazioni analitiche di rilievo sia ambientale che sanitario;

VISTI IN PARTICOLARE:

- l'art. 5, comma 1, lett. a, della L.R. n. 44/95 il quale prevede, tra l'altro, tra le funzioni, attività e compiti di Arpa, la realizzazione, anche in collaborazione con altri organismi ed istituti operanti nel settore, iniziative di ricerca applicata sui fenomeni dell'inquinamento , sulle condizioni generali dell'ambiente e di rischio per l'ambiente e per i cittadini, sulle forme di tutela degli ecosistemi;
- l'art. 5, comma 1, lett. h, il quale prevede, altresì, tra le funzioni, attività e compiti di Arpa, l'effettuazione di controlli di fattori fisici, geologici, chimici e biologici, di inquinamento delle acque;
- l'art. 5, comma 2, della medesima L.R. n. 44/95 in base al quale, per l'adempimento delle proprie funzioni, Arpa può definire accordi o convenzioni con Aziende ed Enti pubblici;

PREMESSO:

- che l'Autorità d'ambito di Ferrara (AATO 6), Arpa, l'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale di Ricerca (IRSA CNR) ed Hera S.p.A. intendono sviluppare collaborazioni reciproche in materia di analisi, ricerca e studi legati alla qualità delle acque e all'ecosistema del fiume Po, impiegando come base operativa il laboratorio della Centrale di Pontelagoscuro, già sede di un laboratorio di analisi di Hera Ferrara S.r.l.;
- che è stato concordato un Protocollo di intesa da sottoscriversi tra le parti sopra indicate, finalizzato ad individuare le competenze e le responsabilità dei soggetti e ad avviare le attività di collaborazione;
- che la società ACOSEA IMPIANTI S.r.l., proprietaria dei locali del laboratorio in oggetto, con lettera in data 5 marzo 2010, ha autorizzato l'uso della struttura per lo svolgimento delle attività previste dal Protocollo oggetto di questa deliberazione di approvazione;
- che in particolare sono state predisposte alcune linee progettuali, aventi ad oggetto l'individuazione generale delle attività di controllo e monitoraggio ambientale che saranno avviate nel laboratorio;

RILEVATO:

- che il Protocollo di intesa rinvia l'attuazione delle linee progettuali ad apposite convenzioni operative da sottoscriversi tra le parti;
- che le convenzioni operative stabiliranno l'oggetto dell'iniziativa, le finalità, le fasi e le modalità di realizzazione, i soggetti attuatori, le modalità di coordinamento e di compartecipazione di ciascuno di essi, i rapporti funzionali e finanziari tra le parti ed eventuali altri enti o organismi attuatori;
- che il Protocollo di intesa ha durata triennale decorrente dalla sottoscrizione ed è rinnovabile con il consenso esplicito delle parti;

RITENUTO:

- opportuno sottoscrivere il Protocollo di intesa in quanto coerente con le finalità istituzionali di Arpa;
- di individuare la Dott.ssa Annamaria Colacci, Responsabile del CTR Cancerogenesi Ambientale e Valutazione del Rischio, quale coordinatore delle attività previste nel Protocollo di intesa di cui trattasi;

SU PROPOSTA CONGIUNTA:

- del Direttore del Servizio Affari istituzionali, Pianificazione e Comunicazione, Dott.ssa Vanna Polacchini, e del Direttore Tecnico, Ing. Vito Belladonna, i quali, nel rispetto delle rispettive competenze, hanno espresso parere favorevole in merito alla regolarità amministrativa del presente provvedimento;

ACQUISITO:

- il parere favorevole del Direttore Tecnico, Ing. Vito Belladonna e del Direttore Amministrativo, Dott.ssa Massimiliana Razzaboni, ai sensi dell'art. 9 della L.R. n. 44/1995;

DATO ATTO:

- che si è provveduto a nominare responsabile del procedimento, ai sensi della L. n. 241/90 e della L.R. n. 32/93, l'Avv. Giovanni Fantini, Responsabile dell'Area Affari istituzionali e legali;

DELIBERA

1. di approvare, per le motivazioni esposte in premessa, il Protocollo di intesa tra l'Autorità d'ambito di Ferrara (AATO 6), Arpa, l'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale di Ricerca (IRSA CNR) ed Hera S.p.A. avente ad oggetto la collaborazione per lo svolgimento di analisi, ricerca e studi legati alla qualità delle acque e all'ecosistema del fiume Po, allegato sub A) al presente provvedimento quale parte integrante e sostanziale;
2. di individuare la Dott.ssa Annamaria Colacci quale rappresentante di Arpa nel comitato di

Coordinamento previsto dall'art. 7 del Protocollo di Intesa di cui trattasi;

3. di rinviare a successive convenzioni operative, da approvarsi con determinazione dei Direttori di Nodo interessati, la realizzazione delle specifiche iniziative previste nel Protocollo di Intesa e l'individuazione dei referenti dei singoli progetti.

PARERE: FAVOREVOLE

IL DIRETTORE TECNICO

(F.to Ing. Vito Belladonna)

IL DIRETTORE AMMINISTRATIVO

(F.to Dott.ssa Massimiliana Razzaboni)

IL DIRETTORE GENERALE

(F.to Prof. Stefano Tibaldi)

PROTOCOLLO DI INTESA SULL'IMPIEGO DEL LABORATORIO DELLA CENTRALE DI PONTELAGOSCURO (FE)

Bozza 22 febbraio 2010

Oggi … …… 2010

tra

- l'Autorità d'Ambito di Ferrara, di seguito AATO 6, rappresentata ai fini del presente atto da …… ……, nella sua qualità di ……..;
- l'Agenzia Regionale Prevenzione e Ambiente dell'Emilia Romagna, di seguito ARPA, rappresentata ai fini del presente atto dal direttore generale professor Stefano Tibaldi;
- l'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche, di seguito IRSA CNR, rappresentato ai fini del presente atto da …… ……, nella sua qualità di ……..;
- la società HERA s.p.a., di seguito Gestore, rappresentata ai fini del presente atto da …… ……, nella sua qualità di ……..;

premesso che

- nel comune di Ferrara, in località Pontelagoscuro considerata la stazione di chiusura del bacino idrografico del fiume Po, è ubicata la principale Centrale di potabilizzazione della provincia di Ferrara;
- tale Centrale è di proprietà di ACOSEA IMPIANTI s.r.l., società degli assets, totalmente pubblica dei Comuni di Argenta, Bondeno, Cento, Ferrara, Masitorello, Mirabello, Poggiorenatico, Portomaggiore, Vigarano, Voghiera, St.Agostino;
- attualmente questa Centrale è utilizzata dal Gestore per garantire l'approvvigionamento idropotabile alla utenza ferrarese mediante derivazione dal fiume Po, nell'ambito della Convenzione del servizio idrico integrato sottoscritta con l'Autorità d'ambito di Ferrara;
- presso la Centrale è presente un laboratorio che il Gestore ha utilizzato appieno per effettuare fino al settembre 2009 tutte le analisi necessarie sul ciclo delle acque: acquedotto-fognatura-depurazione;

- a seguito di una riorganizzazione laboratoristica del Gestore la quasi totalità delle attività di analisi sono state spostate presso il centro di Sasso Marconi, in Provincia di Bologna;
- tale riassetto ha determinato una riconversione delle attività da svolgere presso il laboratorio di analisi rendendo nel contempo disponibili spazi di laboratorio per svolgere altre attività non convenzionali sul controllo delle acque;
- a seguito di tali operazioni è quindi possibile impiegare il laboratorio della Centrale di Pontelagoscuro per nuove finalità che valorizzino l'attività del medesimo laboratorio coinvolgendo una pluralità di soggetti;
- a tal fine sono state elaborate le linee progettuali allegate sub. A e B, allegate al presente atto e di esso parte integrante, che definiscono le prime ipotesi operative per un nuovo utilizzo del laboratorio per finalità di monitoraggio e biomonitoraggio ambientale;
- per garantire il corretto svolgimento delle nuove attività all'interno del laboratorio ed una chiara e corretta ripartizione di competenze e responsabilità tra i soggetti coinvolti è necessario sottoscrivere il presente Protocollo d'intesa per articolare il ruolo dei soggetti interessati, rinviando a successive Convenzioni operative l'attivazione dei progetti definitivi derivanti dalle citate linee progettuali;
- ACOSEA IMPIANTI s.r.l. ha acconsentito l'utilizzo a titolo gratuito del laboratorio per le attività oggetto del presente protocollo, così come risulta dalla lettera, numero di protocollo …., conservata agli atti di AATO 6;

tutto ciò premesso

si conviene e si stipula quanto segue:

Articolo 1 – Oggetto, finalità e durata del protocollo

1. Il presente protocollo ha ad oggetto l'individuazione dei soggetti interessati alla utilizzazione del laboratorio della Centrale di Pontelagoscuro e la definizione delle attività che ciascuno potrà svolgere all'interno del medesimo.
2. Il protocollo mira a valorizzare il laboratorio della Centrale di Pontelagoscuro impiegandolo per attività di analisi, ricerca e studi legati alla qualità delle acque e all'ecosistema del fiume Po, al fine di renderla un punto di riferimento a livello nazionale.
3. Il presente protocollo ha durata triennale, decorrente dalla data della sua sottoscrizione, ed è rinnovabile con l'esplicito consenso delle parti.

Articolo 2 – Individuazione dei soggetti

1. Ai fini della sottoscrizione del presente protocollo ed al fine di avviare i progetti sul nuovo impiego del laboratorio della Centrale di Pontelagoscuro si individuano quali attori iniziali:

- AATO 6, in quanto finanziatore dell'avvio della realizzazione delle attività;
- il Gestore HERA, in quanto finanziatore dell'avvio della realizzazione delle attività;
- ARPA, in quanto proprietario e concedente della strumentazione di analisi denominata "Musselmonitor"
- CNR, in quanto titolare di conoscenze scientifiche di alto livello necessarie per ottimizzare le attività di ricerca.

2. Le parti concordano nella possibilità di allargare le linee progettuali, oggetto del presente protocollo, ad altri eventuali soggetti interessati e portatori di risorse utilizzabili alla loro realizzazione e/o al loro ampliamento.

Articolo 3 – Compiti e oneri di AATO 6

1. AATO 6 presidierà il coordinamento e si impegna a contribuire all'avvio della realizzazione delle attività, per i primi 3 anni, con un finanziamento annuo pari ad euro 10.000 (diecimila/00.).

Articolo 4 – Compiti e oneri del Gestore HERA s.p.a.

1. Il Gestore svolgerà le attività di supporto logistico alle attività indicate al successivo articolo 8.
2. Il Gestore si impegna a contribuire alle spese necessarie alla realizzazione delle attività corrispondendo per i primi 3 anni, una somma annua pari ad euro 50.000 (cinquantamila/00). Tali somme saranno versate ad AATO6.

Articolo 5 – Compiti e oneri di ARPA

1. ARPA svolgerà le attività di propria attinenza necessarie all'avvio dell'operatività del laboratorio.
2. ARPA metterà a disposizione, in concessione d'uso a titolo gratuito, la sonda biologica denominata "Musselmonitor" con i relativi accessori; tutte le spese necessarie per garantire l'avvio delle attività della strumentazione e la successiva manutenzione sono a carico dei finanziamenti erogati da AATO 6, dal Gestore e dagli altri eventuali finanziatori.
3. ARPA si impegna, altresì, a formare il personale che sarà utilizzato per garantire i corretto utilizzo della strumentazione di sua proprietà.

4. ARPA utilizzerà in collaborazione con IRSA-CNR i locali del laboratorio di Pontelagoscuro per attività di ecotossicologia e di sviluppo dei test alternativi previsti dalla normativa REACH.

Articolo 6 – Compiti e oneri di IRSA-CNR

1. IRSA-CNR svolgerà le attività di propria attinenza necessarie all'avvio dell'operatività del laboratorio.
2. IRSA-CNR utilizzerà in collaborazione con ARPA i locali del laboratorio di Pontelagoscuro per attività di ricerca dei contaminanti emergenti, in particolare degli interferenti endocrini, sull'ecosistema Po, mediante l'impiego dei pesci o altri elementi dell'ecosistema, in relazione agli obiettivi da conseguire.
3. IRSA-CNR si impegna, altresì, a mettere a disposizione le conoscenze, acquisite negli ultimi anni, sui test di tossicità con l'impiego dei pesci.

Articolo 7 – Coordinamento

1. Il coordinamento generale delle attività relative al presente Protocollo sarà effettuato da un comitato costituito da un rappresentante di ogni soggetto sottoscrittore e presieduto dal rappresentante di AATO 6.
2. I vari soggetti coinvolti nelle attività individueranno altresì, tramite le Convenzioni di cui al successivo articolo 8, un proprio referente per ciascuno dei singoli progetti definitivi ai quali verrà dato corso.
3. Il comitato, di cui al comma 1, deciderà anche sull'utilizzo dei risultati delle analisi effettuate nel laboratorio.

Articolo 8 - Convenzioni operative

1. La realizzazione delle linee progettuali di cui agli allegati sub A) e sub B), sarà regolata da apposite Convenzioni operative in relazione ai finanziamenti disponibili.
2. Tali Convenzioni definiranno le attività di ciascun soggetto, le risorse necessarie, la tempistica, le modalità e i termini dei flussi finanziari, i tempi di realizzazione.
3. I progetti definitivi, elaborati sulla base delle linee progettuali di cui al comma 1, potranno essere attivati solo dopo la sottoscrizione delle relative convenzioni.
4. Le somme disponibili di cui ai precedenti art. 3 e 4 saranno utilizzate da AATO6 che ne curerà la rendicontazione.

5. I soggetti sottoscrittori del presente atto si riservano la facoltà di ricercare, anche presso altre Istituzioni pubbliche, fonti di finanziamento integrative in relazione ai singoli progetti da attuare.

Articolo 9 – Clausola di reciprocità

1. Tutti i soggetti sottoscrittori del presente protocollo si impegnano a rendere disponibili i risultati del loro lavoro garantendo la collaborazione e il passaggio di conoscenze tecniche e scientifiche.

Articolo 10 – Privacy

1. I dati personali raccolti in occasione del presente protocollo saranno trattati nel rispetto del Decreto Legislativo 30 giugno 2003, n. 196 "Codice in materia di protezione dei dati personali".
2. AATO 6 è individuata titolare del trattamento dei dati, fatta salva la possibilità di nominare responsabili esterni nel rispetto della normativa vigente.

Articolo 11 – Foro competente

1. Per qualsiasi controversia relativa al presente protocollo, inclusa la sua interpretazione e/o esecuzione, si conviene di eleggere esclusivamente il foro di Bologna, salvo le competenze inderogabili previste dalla legge.

Articolo 12 – Recesso e scadenza

1. Alla scadenza del presente protocollo o in caso di recesso o di suo scioglimento anticipato, le eventuali somme corrisposte ai sensi dei precedenti articoli 3 e 4 non ancora spese o comunque utilizzate verranno restituite in proporzione a quanto erogato.

Articolo 13 - Legge applicabile

1. Il presente protocollo è regolato dalla legge italiana.

Allegati:

sub A) Linee guida progettuali "Sistema di monitoraggio con biosensori ";

sub B) Linee guida progettuali "Interferenti endocrini nell'ecosistema del fiume Po";

Autorità di Ambito di Ferrara

ARPA Emilia-Romagna

HERA S.p.A.

IRSA-CNR

Sub A)

LINEE GUIDA PROGETTUALI PER LO SVILUPPO E L'APPLICAZIONE DI UN SISTEMA DI MONITORAGGIO CON BIOSENSORI PER LE ACQUE IDROPOTABILI: IMPIEGO DI MOLLUSCHI E DI SPECIE ITTICHE QUALI ORGANISMI BERSAGLIO IN TEST ECOTOSSICOLOGICI E DI BIOCONCENTRAZIONE.

1. Premessa

La necessità della salvaguardia dei corpi idrici dall'inquinamento rappresenta una priorità ambientale, per la relativa scarsità della risorsa e per la difesa degli ecosistemi acquatici, importanti dal punto di vista ambientale e produttivo, ma soprattutto per l'approvvigionamento per la potabilizzazione.
Un aspetto molto importante, nelle attività di controllo della qualità delle acque è il rilevamento rapido della presenza di sostanze inquinanti e di tutte quelle variazioni di qualità dell'acqua che possono avere effetti indesiderati sul biota, costituendo quindi un rischio per l'ecosistema e per l'eventuale utilizzo nell'alimentazione umana.
Al riguardo diversi decreti legislativi nazionali evidenziano i parametri da considerare per il controllo, il monitoraggio e la classificazione delle acque in funzione degli obiettivi di qualità ambientale e la potabilizzazione. Ad integrazione delle analisi chimiche già previste per i corpi idrici superficiali, si evidenzia la necessità di individuare nuovi metodi per la valutazione degli effetti provocati sulle comunità biotiche degli ecosistemi, dalla presenza di sostanze chimiche pericolose, persistenti e bioaccumulabili.

2. Obiettivi

Le azioni di controllo e monitoraggio ambientale sono sempre riferite a campioni prelevati a cadenza predefinita, mentre sarebbe importante poter condurre indagini su campioni prelevati simultaneamente al verificarsi delle condizioni di criticità. L'inquinamento, infatti, sia di origine antropica che naturale è, nella maggior parte dei casi, un fatto accidentale e quindi non prevedibile.
Un sistema per il controllo delle variazioni in tempo reale è dato dal monitoraggio strumentale "in continuo" che però è generalmente limitato ai soli parametri chimico-fisici.
Il recente sviluppo di sistemi per il monitoraggio biologico o Biological Early Warning Systems (BEWS), fornisce un prezioso strumento per la segnalazione in tempo reale delle situazioni di criticità.
La caratteristica del monitoraggio biologico è quella di utilizzare organismi viventi come sensori, in grado di segnalare (preallarme biologico) in tempi molto rapidi (minuti) l'insorgenza di una condizione di sofferenza o danno per l'organismo stesso.
Condurre campionamenti a fronte di segnali di preallarme biologico, affiancati a prove ecotossicologiche in campo con specie ittiche, consentirebbe di effettuare indagini mirate e più efficaci per individuare le cause che sono alla base delle situazioni di criticità.
L'elemento che condiziona la scelta dei pesci quale organismo bersaglio è la disponibilità di protocolli standardizzati. Per le considerazioni sopra esposte, la ricerca affronterà la messa a punto di una stazione di monitoraggio con biosensori e la messa a punto di saggi ecotossicologici e di bioconcentrazione in laboratorio, mediante i quali gli organismi verranno sottoposti a condizioni estreme, improbabili in natura; tali procedure rappresentano fondamentali strumenti previsionali poiché consentono di individuare situazioni potenzialmente critiche prima che esse si manifestino in maniera irreparabile (CTM AIM, 2000).

3. Risultati attesi

Per quanto riguarda il sistema per il controllo delle variazioni in tempo reale, dato dal monitoraggio strumentale "in continuo" (Biological Early Warning Systems), il risultato atteso è la realizzazione di un sistema che segnali l'insorgenza di situazioni di criticità e consenta di identificarne rapidamente le cause per la salvaguardia delle risorse idropotabili.
Per quanto riguarda l'utilizzo dei pesci quale organismo bersaglio, da affiancare al sistema di preallarme, il risultato atteso è la predisposizione di protocolli per l'esecuzione di saggi

ecotossicologici acuti e cronici e test di bioconcentrazione per la valutazione della bioaccumulabilità delle sostanze pericolose, sia in laboratorio che in campo.

4. Metodologia

L'apparecchiatura che verrà impiegata nella messa a punto è costituita da una sonda biologica *Mosselmonitor*® (Deltaconsult, NL) con molluschi sentinella (*Unio sp.*, *Dreissena polymorpha*) da una sonda multiparametrica e da un campionatore semi-automatico di acque, che permette il prelievo dell'acqua contestualmente al rilevamento della problematica ambientale rilevata dalle sonde. Verrà quindi realizzato un *Sistema Complesso*, che integri le diverse tecniche di monitoraggio, sia biologiche sia chimico-fisiche. La strumentazione è di proprietà di ARPA-ER ed è già stata collaudata in condizioni di laboratorio e in campo.

Il *Mosselmonitor*® è una sonda biologica per la valutazione della qualità delle acque attraverso organismi viventi. La sonda accoglie a bordo otto esemplari adulti di molluschi, ad ognuno dei quali viene applicata una coppia di elettrodi. Il funzionamento dello strumento è legato alla valutazione percentuale dell'apertura e chiusura delle valve di tali organismi, effettuata tramite una registrazione *in continuo*.

L'elaborazione di tale informazione produce allarmi di diverso tipo: in caso di chiusura prolungata delle valve, decremento o incremento anomali dell'attività oppure di morte. Pertanto, attraverso la registrazione dei movimenti delle valve e l'esecuzione di specifici calcoli su questi dati, è possibile valutare il comportamento del mollusco.

Il *Sistema complesso* è costituto da:

- un BEWS (Biological Early Warning System[b]), *Mosselmonitor*®, con funzioni di preallarme biologico, che utilizza come organismo sensore il mollusco bivalve *Dreissena polymorpha*;

- una sonda multiparametrica, per la misura in continuo dei parametri chimico-fisici (ossigeno disciolto, pH, temperatura, conducibilità, etc.);

- un campionatore semi-automatico per le acque, in grado di prelevare fino a 24 campioni d'acqua al giorno, successivamente all'innesco del segnale d'allarme ;

- un sistema computerizzato in grado di acquisire i dati, mettere in relazione i diversi parametri, identificare l'insorgenza di situazioni anomale ed associare ad ogni evento una serie di azioni (modificare la frequenza di acquisizione dei dati, azionare il campionatore automatico, inviare messaggi di allarme ad uno o più destinatari) e produrre un report di analisi che può essere gestito a distanza tramite computer.

Di seguito vengono descritti sinteticamente la struttura e il funzionamento del sistema di monitoraggio Tale sistema fa riferimento a metodologie impiegate in monitoraggi ambientali eseguiti negli Stati Uniti secondo metodiche descritte nei manuali EPA (EPA, 2001). Verrà allestito e adattato un container refrigerato (in grado di garantire una temperatura da -20 a +15 °C; consumi da 4 a 10 Kw; costruito in acciaio) in modo da alloggiare le sonde multiparametriche, la sonda biologica e i pesci sentinella in vasche (con impianto idraulico per l'ingresso e l'uscita dell'acqua; sistema di troppo pieno e di antiallagamento) alimentate da acqua del fiume Po prelevata dai bacini di lagunaggio attraverso un sistema di prelievo adeguato. L'utilizzo di una struttura come quella descritta si rende necessaria per standardizzare le letture in continuo delle sonde biologiche e per rendere omogeneo il dato, che si otterrà nella campagna di

lettura, con quello registrato da studi condotti in laboratorio. In questo modo sarà altresì possibile mantenere *in loco* una struttura laboratoristica, allo scopo di facilitare le attività di ricerca e ottimizzarne le tempistiche.

I flussi di apporto di acqua saranno regolati in modo da garantire le adeguate condizioni al contorno ed un'attendibile lettura delle reazioni comportamentali e fisiologiche a parte degli organismi sentinella impiegati, secondo protocolli utilizzati da ARPA Ferrara in precedenti indagini di monitoraggio.

All'interno del container saranno standardizzati parametri quali temperatura interna, umidità, fotoperiodo e disturbo rumoroso. La lettura in continuo dei dati chimico fisici e biologici verrà graficata quotidianamente e sarà disponibile in remoto tramite l'accesso ad un sito protetto. I possibili allarmi, che si potranno generare al verificarsi di situazioni di anomalia o di criticità ambientale, saranno gestiti da due PC installati nel container. Alla generazione di ogni allarme verrà effettuato un campionamento di acqua automatico ed istantaneo, tramite l'attivazione di un autocampionatore a cui seguirà una immediata segnalazione via SMS e/o E-mail ad operatori ARPA. Sui campioni d'acqua che si otterranno saranno condotte analisi di laboratorio chimiche, fisiche ed ecotossicologiche.

Analisi ecotossicologica

Una molecola dannosa per l'ecosistema deve trovarsi in forma biodisponibile: i *test di tossicità* evidenziano la *biodisponibilità* di un contaminante. Tali saggi rilevano l'*effetto aggregato* di tutti i componenti del campione; la tossicità aggregata, di solito, non è la somma aritmetica delle attività di un certo insieme di composti. Essa risente delle caratteristiche chimico/fisiche della matrice (pH, granulometria, potenziale di ossido/riduzione, ecc.) e delle interazioni tra le sostanze presenti. Questo tipo di test rileva gli effetti biologici di *sostanze* anche *non caratterizzate in precedenza*: vale a dire, sostanze di cui non si conosce la presenza o di cui non è accertato il grado di pericolosità (Tab. 1).

Tab. 1 – Confronto tra i sistemi di valutazione che si possono applicare ad un campione

Analisi chimica e/o chimico fisica	**Test di tossicità**	**Rilevamento biologico**
Rileva la presenza di specie chimiche preselezionate. Non rileva gli effetti	Rileva, su singoli individui o piccoli gruppi, l'effetto aggregato di tutte le sostanze presenti, anche quelle non preselezionate.	Rileva in campo, nelle sue estreme conseguenze sulla varietà e numerosità della popolazione, l'effetto aggregato di tutte le sostanze presenti, anche quelle non preselezionate.
Identifica le singole specie chimiche	Non identifica lo specifico agente causativo	Non identifica lo specifico agente causativo
Ignora le sinergie	Rileva le sinergie	Rileva le sinergie
Accuratezza e precisione alta	Accuratezza e precisione medio-alta	Accuratezza e precisione medio-bassa
Risposta in tempi brevi (ore – minuti)	Risposta in tempi brevi (ore – minuti) o medi (giorni) a seconda dell'organismo test	Risposta in tempi lunghi (settimane – mesi)

Fonte. Oddo N. (2001)

Da quanto evidenziato sarebbe dunque auspicabile effettuare in prima istanza un'approfondita *analisi ecotossicologica*. Successivamente, in base al risultato, potrebbero essere eseguite analisi specifiche per individuare le specie responsabili dell'attività tossica rilevata; l'applicazione di questo criterio consente infatti di evitare l'esecuzione di numerose e costose analisi chimiche.

I risultati delle attività condotte dal gruppo di lavoro (ARPA ER-Ferrara, Università di Bologna) negli ultimi anni, hanno messo in luce che, nonostante i dati di valutazione chimico-fisici risultino da analisi standardizzate e sicure, non sono comunque sufficienti per descrivere la qualità ed il rischio di un ambiente ad elevata complessità quale è l'acqua idropotabile. In particolare, è opportuno applicare i saggi biologici a più tipi di matrici, compatibilmente con le caratteristiche delle specie testate. Ciò consente di ottenere diverse informazioni sulla qualità e comportamento delle miscele di contaminanti eventualmente presenti. Infatti, per ottenere una valutazione quanto più reale possibile dei livelli di tossicità degli inquinanti presenti in ambienti di questo tipo, si propone di utilizzare *batterie di test ecotossicologici*, per studiare la sensibilità di organismi identificativi dei livelli tassonomici e trofici delle matrici da monitorare, in associazione con dettagliate analisi chimico-fisiche e biochimiche.

Con tale approccio ecotossicologico integrato, sarà predisposta una batteria composta da organismi appartenenti a differenti livelli trofici: batteri bioluminescenti, microalghe, rotiferi, crostacei, molluschi e pesci. L'esperienza maturata ha portato, infatti, alla scelta ed alla gestione di una gamma estremamente ampia di organismi impiegati nello svolgimento di tali prove, correlata alla volontà di eseguire i test su specie animali autoctone .

Sub B)

LINEE GUIDA PROGETTUALI PER LA REALIZZAZIONE DEL PROGETTO SUGLI INTERFERENTI ENDOCRINI NELL'ECOSISTEMA DEL FIUME PO

PREMESSA

Studi recenti hanno dimostrato che diverse sostanze inquinanti, estranee al sistema endocrino, possono modificarne il normale funzionamento, inducendo alterazioni e danni che sono stati documentati per via chimica, clinica ed epidemiologica (Degen e Bolt, 2000; Dolk et al., 2004; Yang et al., 2008; Joensen et al., 2009). Ciò ha generato comprensibilmente grande allarme sia nella comunità scientifica che nell'opinione pubblica, dal momento che il sistema endocrino ha compiti fondamentali per la vita di un organismo in quanto gli ormoni prodotti dalle ghiandole e dai tessuti che lo compongono, controllano fenomeni delicati e complessi quali la riproduzione, l'accrescimento, lo sviluppo, nonché l'utilizzo delle sostanze alimentari.

Gli studi sinora condotti mettono in evidenza un quadro molto articolato e per certi versi preoccupante. Infatti, la complessità del sistema endocrino e la molteplicità dei punti di possibile interazione, fanno sì che le sostanze capaci di alterare i meccanismi ormonali siano numerose ed appartengano a gruppi chimici eterogenei. Queste sostanze hanno sia origine naturale che sintetica, e hanno usi quanto mai diversificati: si va dalla detergenza industriale al diserbo in agricoltura, dai plastificanti ai filtri UV dei prodotti cosmetici, dagli elementi in tracce ai fungicidi, dai biocidi sino ai farmaci contraccettivi (Metcalfe et al., 2001; Lichtensteiger et al., 2002; Nellemann et al., 2003; Sumpter e Johnson, 2005; Vetillard e Bailhache, 2005; Zha et al., 2008). Per tutti questi inquinanti è stata coniata la nuova categoria degli "interferenti endocrini" (*endocrine disrupters*) e alcuni di essi hanno caratteristiche tali (volumi di produzione, tossicità, persistenza, bioaccumulabilità etc.) da essere stati inclusi nella lista degli inquinanti prioritari della Direttiva Acque (2000/60/EC e DM 56/2009).

Per quanto riguarda il Fiume Po, le informazioni disponibili sono ancora limitate. Nel tratto intermedio del fiume, l'IRSA ha documentato sia la presenza di interferenti endocrini che i loro effetti nella fauna ittica. Tali effetti sono riconducibili alla formazione di gonadi intersessuali e cioè, contemporaneamente maschili e femminili (Puzzi et al., 2005). Il numero di inquinanti potenzialmente coinvolti è elevato e, aspetto non secondario, la loro identità è talvolta ancora sconosciuta (Urbatzka et al., 2007; Viganò et al., 2008a). Inoltre, sono ancora molti gli aspetti del problema che necessitano di essere approfonditi o addirittura soltanto esaminati (Mills e Chichester, 2005; Urbatzka et al., 2007; Jobling et al., 2009). In ogni caso, alla luce degli studi svolti sia in laboratorio che in campo è ragionevole affermare che l'alterazione gonadica più comune sia quella di "femminilizzazione" e cioè esemplari di sesso maschile il cui testicolo subisce una trasformazione ad ovario (Viganò et al., 2001; Sumpter e Johnson, 2005 Kidd et al., 2007). Tale trasformazione può essere più o meno estesa, ed eventualmente completa. Gli esemplari pescati nel Fiume Po sarebbero pertanto maschi femminilizzati (Viganò et al., 2001; 2006).

Il numero di specie potenzialmente interessate dal problema degli interferenti endocrini può essere, in realtà, più ampio e non limitato ad una componente strettamente acquatica dell'ecosistema quale è la comunità ittica. Parliamo di danni ad anfibi, uccelli etc. (Fry et al., 1981; Hayes et al., 2002; Gunderson et al., 2004) come è stato ben evidenziato in studi condotti in aree fortemente antropizzate come quella del bacino padano.

PROPOSTE OPERATIVE

Contaminazione da polibromodifenileteri (PBDE), altri ritardanti di fiamma e inquinanti organoalogenati

A parte i PCB e i DDT (DDT, DDE, DDD) dei quali molto si è scritto e per i quali vi sono evidenze sperimentali di azione sul sistema ormonale, c'è un altra classe di inquinanti che sta ricevendo grande attenzione e purtroppo su scala globale. Si tratta dei ritardanti di fiamma e precisamente di un loro gruppo, quello dei polibromodifenileteri (PBDE; Schecter et al., 2006; Vonderheide et al., 2008). Causa l'infiammabilità di svariati materiali sintetici di largo consumo, e quindi per intuibili motivi di sicurezza, la produzione e gli impieghi di questi inquinanti sono fortemente aumentati negli ultimi anni (La Guardia et al., 2006). I PBDE sono stati utilizzati come additivi in diversi polimeri presenti in cavi elettrici, in schiume poliuretaniche, in tessuti sintetici e nelle plastiche di computer, televisori e autoveicoli. Questi composti sono tossici, molto persistenti ed è stato dimostrato che si accumulano lungo la catena alimentare raggiungendo sicuramente l'essere umano (Schecter et al., 2006; Xiang et al., 2007; Viganò et al., 2008b, 2009; Yu et al., 2009). Il fiume Po ha a questo proposito un primato negativo in quanto vi sono stati trovati livelli di PBDE molto elevati, confrontabili con alcuni tra i siti europei più contaminati (Viganò et al., 2009). Per questo gruppo di inquinanti e soprattutto per alcuni congeneri e loro metaboliti ci sono pesanti sospetti di interferenza con il sistema endocrino e dunque evidenti necessità di approfondimento (Stapleton et al., 2006; Hamers et al., 2006; Muirhead et al., 2006). Alcuni congeneri dei PBDE sono stati inclusi tra gli inquinanti pericolosi prioritari della Direttiva Acque (2000/60/EC e DM 56/2009).

Sempre tra i ritardanti di fiamma è importante ricordare l'esabromociclododecano (HBCD), il tetrabromobisfenolo A (TBBPA) e il corrispondente tetracloro (TCBPA). Unitamente al decaBDE dei polibromodifenileteri questi sono tra i ritardanti di fiamma di più largo impiego e per alcuni di essi sono già stati evidenziati effetti sul sistema endocrino o su suoi elementi saggiati in vitro. Non ultimo possiamo ricercare i livelli di decabromodifeniletano (DBDPE). Su questo ritardante di fiamma, possibile candidato alla sostituzione del decaBDE, si sta concentrando l'attenzione del mondo scientifico perché sembra dimostrare problemi ambientali simili al decaBDE, il che significa persistenza e accumulo sia in alcuni comparti ambientali che in organismi viventi (per quest'ultimo inquinante abbiamo in programma la messa a punto del metodo analitico).

In merito a questo gruppo di inquinanti manca qualsiasi informazione sui livelli presenti nella sezione di chiusura e nell'area del delta del Po, come pure nella fascia marina costiera che il fiume influenza direttamente. In altre parole, mancano informazioni sull'azione di trasporto che il fiume svolge verso le aree costiere del Mare Adriatico e sui livelli di contaminazione della catena alimentare che risulterebbero da tale azione di trasporto. Ciò può avere conseguenze, da un lato, sull'ecosistema e, dall'altro, sulla salute umana in seguito alla contaminazione molto probabile dei prodotti ittici. Diverse tra queste sostanze sono caratterizzate da lipofilicità elevata ed è stato osservato che si accumulano a più livelli della catena alimentare.

Saggi in vitro per la presenza di effetti estrogenici complessivi

In un sistema complesso come il Fiume Po, la ricerca analitica degli interferenti endocrini, per quanto raffinata potrà essere, ben difficilmente raggiungerà la caratterizzazione completa della serie di inquinanti presenti. Per diversi motivi l'entità della frazione che in tal modo verrebbe ignorata è in gran parte sconosciuta e pertanto resterebbe esclusa da qualsiasi valutazione di rischio. Per ovviare ai limiti di un approccio cosiddetto "chimico specifico", è opportuno utilizzare dei saggi che quantificano la risposta complessiva a tutti gli inquinanti biodisponibili, e ciò è normalmente possibile mediante l'applicazione di saggi in vivo o in vitro.

In questo caso, l'ipotesi di lavoro riguarderebbe l'impiego di saggi che utilizzano la risposta di cellule di lievito ricombinante. Cellule contenenti il recettore estrogenico umano, sarebbero

utilizzate per saggiare la presenza di inquinanti ad attività estrogenica in campioni di sedimento e/o acqua del Fiume Po. Questo tipo di saggio permetterebbe di quantificare il rischio estrogenico complessivo presente nei distretti/comparti di interesse.

In collaborazione con i colleghi di un istituto di ricerca Europeo abbiamo la possibilità di indagare anche gli effetti anti-androgenici. Si sa ancora pochissimo sugli inquinanti capaci di agire secondo questa modalità, tuttavia il sospetto che la loro azione sia importante anche nei più noti processi di femminilizzazione è molto elevato. Nei nostri studi più recenti abbiamo determinato che questi effetti potrebbero essere importanti anche nel fiume Po: si tratterebbe ora di proseguire quel tipo di studi, approfondendone le cause e le conseguenze almeno in fauna ittica (Urbatzka et al., 2007; Jobling et al., 2009).

Contaminazione da estrogeni naturali e xeno-estrogeni

Poiché i laboratori HERA sono già in grado di determinare nella colonna d'acqua (sia in acque grezze che trattate) un gruppo di interferenti endocrini che sono sicuramente di interesse, può essere opportuno estendere il quadro informativo al comparto dei sedimenti del fiume. Parliamo di un gruppo di molecole, alcune delle quali sono caratterizzate da un potenziale d'azione molto elevato, e cioè etinilestradiolo (EE2), estrone (E1), 17β-estradiolo (E2), bisfenolo A (BPA), 4-octilfenolo (OP), nonilfenolo (NP), e tra breve PFOA. Questi ed altri inquinanti hanno lipofilicità medie e pertanto tendono anche ad accumularsi nel materiale organico particolato. Nella nostra esperienza, l'acqua è una matrice potenzialmente più semplice del sedimento, ma offre risultati alquanto variabili e con livelli di concentrazione molto spesso prossimi ai limiti di quantificazione. In ogni caso la scarsità/assenza di informazioni in chiusura di bacino e nel delta, rendono anche questi dati potenzialmente utili almeno in una prima fase conoscitiva. Secondo la nostra esperienza, anche l'estriolo (E3) andrebbe preso in considerazione oltre alle sostanze già citate (Viganò et al., 2006; 2008b).

Andamento temporale di alcuni interferenti endocrini nell'ecosistema Po

Per molti inquinanti che sono di interesse per gli effetti sul sistema endocrino, esistono informazioni ambientali a dir poco preliminari, e quando disponibili esse sono circoscritte a singole sezioni del fiume e generalmente non sono oggetto di aggiornamenti. La mancanza di informazioni complete ed aggiornate rende molto difficile se non impossibile la ricostruzione delle cause di degrado dell'ecosistema. E' molto difficile comprendere, ad esempio, se i cambiamenti della comunità ittica del Po siano imputabili principalmente all'inquinamento da sostanze tossiche, piuttosto che agli effetti dei nutrienti (azione eutrofizzante) o ancora, all'introduzione di specie ittiche aliene. La mancanza di informazioni organiche impedisce inoltre la comprensione dell'andamento temporale della contaminazione. In altre parole, non è possibile stabilire se i livelli di taluni inquinanti sono in fase stazionaria, piuttosto che in favorevole riduzione o peggio in preoccupante aumento all'interno dell'ecosistema.

Una risposta possibile a questa grave lacuna, che tra l'altro ha evidenti riflessi gestionali, consisterebbe nel prelevare delle carote di sedimento da aree idonee ed analizzarle chimicamente (e se il caso non solo chimicamente) meglio dopo datazione mediante la determinazione di alcuni isotopi radioattivi (Cs, Pb?). In questo modo potremmo descrivere il cosiddetto "time-trend" di tutti gli inquinanti analizzabili per un arco di tempo tanto più ampio quanto più in profondità può spingersi il campionamento, nel rispetto ovviamente della rappresentatività dello stesso (15-50 anni?).

Ruolo degli eventi di piena nel trasporto di interferenti endocrini

Il fatto che molti degli inquinanti di interesse tendano ad adsorbirsi al materiale particolato in modo più o meno cospicuo, suggerisce che gli stessi inquinanti nel loro cammino all'interno dell'asta fluviale subiscano a più riprese processi di sedimentazione e risospensione.

In concomitanza con i periodici eventi di piena possiamo attenderci che i processi di risospensione e trasporto raggiungano la loro massima entità con gravi riflessi per la qualità delle acque marine costiere esposte al *plume* del fiume Po. A mia conoscenza non abbiamo informazioni sull'entità dei processi di trasporto di inquinanti organici né tanto meno di interferenti endocrini.

Ricerca di "personal care products" (PCPs) (Triclosan, triclocarban, galaxolide)

Al gruppo dei cosiddetti prodotti per la cura personale appartengono diverse sostanze chimiche che possono rientrare tra quelle di nostro interesse. Questi prodotti vengono utilizzati quotidianamente in grandi quantità ed alcuni dei più comuni hanno evidenziato la capacità di interagire con il sistema endocrino. Il Triclosan, uno tra i biocidi di più ampio impiego, è un inquinante cui la comunità scientifica sta dedicando particolare attenzione. La categoria dei biocidi è indicata, unitamente ai prodotti fitosanitari, tra gli inquinanti dell'Allegato VIII della Direttiva Acque (2000/60/EC e DM 56/2009). Anche in questo caso mancano completamente informazioni.

Ruolo dei prodotti fitosanitari quali interferenti endocrini

Secondo la letteratura, il numero di pesticidi che meriterebbero attenzione e approfondimenti in quanto potenziali interferenti endocrini è relativamente ampio. A differenza delle sostanze citate nei paragrafi precedenti, i pesticidi sono monitorati da tempo e in molti punti del bacino padano. Si hanno inoltre informazioni dettagliate in merito alle quantità utilizzate e quindi immesse in ambiente nelle diverse regioni del bacino del Po. Il quadro informativo andrebbe tuttavia ampliato e completato sia per quanto riguarda il destino ambientale nell'ecosistema del Po e sia per quanto riguarda gli effetti sul sistema endocrino almeno della fauna ittica. Proprio in base alle informazioni disponibili si tratterebbe di scegliere alcune dei principi attivi maggiormente interessanti e su questi fare degli approfondimenti. Come ricordato al punto precedente esiste un elenco di queste molecole nella Direttiva Acque (2000/60/EC e DM 56/2009), sia tra le sostanze prioritarie che tra gli inquinanti da monitorare.

Sperimentazione con pesci in laboratorio e in campo

La sperimentazione con pesci, sia in laboratorio che in campo, è fortemente condizionata dal tipo di risultati ottenuti in merito ai gruppi di sostanze dei punti precedenti, o almeno di alcuni di essi. Può essere, comunque, prospettata l'ipotesi di fare in questo triennio sperimentazione dedicata a singoli inquinanti come pure a miscele di alcuni tra questi, andando ad indagare le risposte anche in termini di espressione genica (Tossicogenomica) oltre che di sviluppo gonadico e di quadro ormonale.

Bibliografia

Degen GH, Bolt HM (2000). Endocrine disruptors: update on xenoestrogens. International Archives of Occupational and Environmental Health 73, 433-441.

Dolk H, Vrijheid M, Scott JE, Addor MC, Botting B, de Vigan C, de Walle H, Garne E, Loane M, Pierini A, Garcia-Minaur S, Physick N, Tenconi R, Wiesel A, Calzolari E, Stone D (2004). Toward the effective surveillance of hypospadias. Environmental Health Perspectives 112, 398–402.

Fry DM, Toone CK (1981). DDT-induced feminisation of gull embryos. Science 213, 922–924.

Gunderson MP, Bermudez DS, Bryan TA, Degala S, Edwards TM, Kools SAE, Milnes MR, Woodward AR, Gillette LJ (2004). Variation in sex steroids and phallus size in juvenile American alligators (*Alligator mississippiensis*) collected from 3 sites within the Kissimmee-Everglades drainage in Florida (USA). Chemosphere 56, 335-345.

Hamers T, Kamstra JH, Sonneveld E, Murk AJ, Kester MHA, Andersson PL, Legler J, Brouwer, A. (2006). In vitro profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants. Toxicological Sciences 92, 157-173.

Hayes TB, Collins A, Lee M et al (2002). Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 99(8): 5476–5480.

Jobling S, Burn RW, Thorpe K, Williams R, Tyler C (2009). Statistical modelling suggests that antiandrogens in effluents from wastewater treatment works contribute to widespread sexual disruption in fish living in English rivers. Environmental Health Perspectives 117, 797–802.

Joensen UN, Bossi R, Leffers H, Jensen AA, Skakkebæk NE, Jørgensen N (2009). Do perfluoroalkyl compounds impair human semen quality? Environmental Health Perspectives 117, 923-927.

Kidd KA, Blanchfield PJ, Mills KH, Palace VP, Evans RE, Lazorchak JM, Flick RW (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. Proceedings of the National Academy of Sciences 104, 8897-8901.

La Guardia MJ, Hale RC, Harvey E (2006). Detailed polybrominated diphenyl ether (PBDE) congener composition of the widely used penta-, octa-, and deca-PBDE technical flame-retardant mixtures. Environmental Science Technology 40, 6247-6254.

Lichtensteiger W, Ceccatelli R, Conscience M, Cotton B, Durrer S, Faass O, Fleischmann I, Ma R, Maerkel K, Schlumpf M (2002). Newly arising endocrine disruptors: UV Screens and PBDE. Reproductive Toxicology 16, 397–398.

Metcalfe CD, Metcalfe TL, Kiparissis Y, Koenig BG, Khan C, Hughes RJ, et al. (2001). Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Environmental Toxicology and Chemistry 20, 297–230.

Mills LJ, Chichester C (2005). Review of evidence: are endocrine disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? Science of the Total Environment 343, 1-34.

Muirhead EK, Skillman AD, Hook SE, Schultz IR (2006). Oral exposure of PBDE-47 in fish: toxicokinetics and reproductive effects in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and fathead minnow (*Pimephales promelas*). Environmental Science Technology 40, 523-528.

Nellemann C, Dalgaard M, Lam HR, Vinggaard AM (2003). The combined effects of vinclozolin and procymidone do not deviate from expected additivity *in vitro* and *in vivo*. Toxicological Sciences 71, 251–262 (2003).

Puzzi C, Bottero S, Cevasco A, Massari A, Monteverde M., Pedemonte F., Bertolotti R., Viganò L, Mandich A (2005). Fish community characterization in two stretches upstream and downstream of the Lambro River confluence with the Po River. Annals of the New York Academy of Sciences 1040, 439-443.

Schecter A, Päpke O, Harris TR, Tung KC, Musumba A, Olson J, Birnbaum L (2006). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in an expanded market basket survey of U.S. food and estimated PBDE dietary intake by age and sex. Environmental Health Perspectives 114, 1515-1520.

Stapleton H, Brazil B, Holbrook RD, Mitchelmore C, Benedict R, Konstantinov A, Potter D, (2006). In vivo and in vitro debromination of decabromodiphenyl ether (BDE 209) by juvenile rainbow trout and common carp. Environmental Science Technology 40, 4653-4658.

Sumpter JP, Johnson AC (2005). Lessons from endocrine disruption and their application to other issues concerning trace organics in the aquatic environment. Environmental Science Technology 39, 4321-4332.

Urbatzka R., Van Cauwenberge A., Maggioni S., Viganò L., Mandich A., Benfenati E., Lutz I., Kloas W. (2007) Androgenic and antiandrogenic activities in water and sediment samples from the river Lambro, Italy, detected by yeast androgen screen and chemical analyses. Chemosphere 67, 1080-1087.

Vetillard A, Bailhache V (2005). Cadmium: An endocrine disrupter that affects gene expression in the liver and brain of juvenile rainbow trout. Biology of Reproduction 72, 119–126.

Viganò L, Arillo A, Bottero S, Massari A, Mandich A (2001). First observation of intersex cyprinids in the Po River (Italy). Science of the Total Environment 269, 189-194.

Viganò L, Mandich A, Benfenati E, Bertolotti R, Bottero S., Porazzi E, Agradi A (2006). Investigating the estrogenic risk along the Po River and its intermediate section. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 51, 641-651.

Viganò L, Farkas A, Guzzella L, Roscioli C, Erratico C (2007). The accumulation levels of PAHs, PCBs and DDTs are related in an inverse way to the size of a benthic amphipod (*Echinogammarus stammeri* Karaman) in the River Po. Science of the Total Environment 373, 131-145.

Viganò L, Benfenati E, van Cauwenberge A, Eidem JK, Erratico C, Goksøyr A, Kloas W, Maggioni S, Mandich A, Urbatzka R (2008a). Estrogenicity profile and estrogenic compounds determined in river sediments by chemical analysis, ELISA and yeast assays. Chemosphere 73, 1078-1089.

Viganò L, Roscioli C, Erratico C, Guzzella L (2008b). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in 0+ juvenile cyprinids and sediments of the River Po. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 55, 282-294.

Viganò L, Roscioli C, Erratico C, Guzzella L, Farkas A (2009). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in gammarids, caddisflies, and bed sediments of the lowland River Po. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 82, 200-205.

Vonderheide AP, Mueller KE, Meija J, Welsh G L (2008). Polybrominated diphenyl ethers: causes for concern and knowledge gaps regarding environmental distribution, fate and toxicity. Science of the Total Environment 400, 425–436.

Xiang CH, Luo XJ, Chen SJ, Yu M, Mai BX, Zeng EY (2007). Polybrominated diphenyl ethers in biota and sediments of the Pearl River estuary, south China. Environ Toxicol Chem 26:616-623.

Yang CY, Wang YJ, Chen PC, Tsai SJ, Guo YL (2008). Exposure to a mixture of polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans resulted in a prolonged time to pregnancy in women. Environmental Health Perspectives 116, 599-604.

Yu M, Luo XJ, Wu JP, Chen SJ, Mai BX (2009). Bioaccumulation and trophic transfer of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in biota from the Pearl River Estuary, South China. Environment International http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2009.06.007.

Zha J, Sun L, Zhou Y, Spear PA, Ma M, Wang Z (2008). Assessment of 17α-ethinylestradiol effects and underlying mechanisms in a continuous, multigeneration exposure of the Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*). Toxicology and Applied Pharmacology 226, 298-308