



## Livelli di piombo nel sangue conseguenti al consumo di selvaggina in Italia



Silvia Fustinoni<sup>a,b</sup>, Sabrina Sucato<sup>a</sup>, Dario Consonni<sup>b</sup>, Pier Mannuccio Mannucci<sup>c</sup>, Angelo Moretto<sup>d,\*</sup>

<sup>a</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università degli Studi di Milano, Via S. Barnaba 8, 20122 Milano, Italia

<sup>b</sup> Unità di epidemiologia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Via S. Barnaba 8, 20122 Milano, Italia

<sup>c</sup> Centro di Emofilia e Trombosi Angelo Bianchi Bonomi, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico e Università degli Studi di Milano, Via Francesco Sforza 35, 20122 Milano, Italia

<sup>d</sup> Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, e Centro Internazionale Pesticidi and Protezione Rischi della Salute (ICPS), ASST-Fatebenefratelli, Ospedale "Luigi Sacco", Via GB Grassi 74, 20157 Milano, Italia

### INFORMAZIONI

#### Parole chiave:

Consumo di carne di selvaggina  
Piombo nel sangue  
Cacciatori  
Esposizione al piombo

### RIASSUNTO

Lo scopo di questo studio è stato quello di misurare i livelli di piombo (Pb) nel sangue dei consumatori di carne di selvaggina, tenendo conto di altre possibili fonti di esposizione al piombo. Un campione di sangue è stato prelevato da 95 individui ed è stato somministrato loro un questionario per raccogliere informazioni generali e dati sul consumo di selvaggina, la pratica della caccia, il consumo di vino e altre possibili fonti di esposizione al piombo. Il piombo nel sangue è stato misurato mediante spettrometria di massa del plasma ad accoppiamento induttivo. La presenza di piombo nel sangue non è risultata influenzata da età, sesso, residenza in un'area urbana o rurale, consumo di carni di selvaggina, fumo di tabacco o hobby associati a una potenziale esposizione al piombo. La mediana dei valori di Pb nel sangue è risultata pari a 1,7 (5°- 95° percentile 1,0-5,3 ) µg/dL e 3,4 (0,9-6,1) µg/dL rispettivamente per non consumatori e consumatori di carne di selvaggina. L'analisi di regressione lineare multipla (che contiene le variabili sesso, età, pratica venatoria, consumo di vino, consumo di carni di selvaggina, fumo di tabacco, pratica del tiro, esposizione nei luoghi di lavoro) ha mostrato un'associazione con la caccia (Pb quasi doppio nei cacciatori) e consumo di vino (40% più elevato nei bevitori), ma non con il consumo di carne di selvaggina o con altri parametri. Non è stato possibile accertare se il più alto livello di Pb nel sangue dei cacciatori sia dovuto alla inalazione di fumi di piombo oppure al maneggio delle munizioni contenenti piombo, o entrambi.

### 1. Introduzione

Il piombo è un contaminante ambientale inevitabile e la sua presenza capillare è una conseguenza delle passate e, in misura minore, presenti attività umane. In genere le fonti di esposizione al piombo per la popolazione comprendono cibo, acqua, terreno e polvere, aria, ma la fonte principale è il cibo (acqua inclusa). L'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA, 2012), sulla base di quasi 150.000 dati analitici provenienti da vari paesi europei, ha concluso che i principali apporti provengono da cereali (16,1%), latte e prodotti lattiero-caseari (10,4%), bevande non alcoliche (10,2%), ortaggi e loro derivati (8,4%), acqua (7,0%) e bevande alcoliche (6,7%). Pertanto, sei gruppi di prodotti, che non comprendono carne e altri derivati animali (<6%), rappresentano quasi il 60% dell'assorbimento totale. Tuttavia, è stata sollevata la questione del rischio di un'eccessiva assunzione di piombo associata al consumo di carne di selvaggina abbattuta con proiettili in piombo (Birgisdottir et al., 2013; Bjerme et al., 2013; Bjerregaard et al., 2004; Danieli et al., 2012; Green and Pain, 2012; Guitart et al., 2002; Haldiman et al., 2002; Hunt et al., 2009; Iqbal et al., 2009; Johansen et al., 2001, 2004, 2006; Kosnett, 2009; Pain et al., 2010; Sevillano

Morales et al., 2011; Tsuji et al., 1999, 2008a, 2008b). E' stato pertanto suggerito che ci dovrebbe essere un divieto dell'uso di proiettili in piombo, o almeno una loro parziale sostituzione (es.: AESAN, 2012; Kosnett, 2009; Tsuji et al., 1999, 2008). La maggior parte di questi studi, sulla base di indagini alimentari sul consumo di carni di selvaggina e sul contenuto di piombo nella carne, ha stimato un eccesso di assorbimento di piombo rispetto ai gruppi di controllo costituiti da chi non mangia carne di selvaggina (es.: Danieli et al., 2012; Mateo et al., 2007; Sevillano Morales et al., 2011; Hunt et al., 2009; Tsuji et al., 1999; Kosnett, 2009; Green and Pain, 2012; Guitart et al., 2002). Tuttavia, solo pochi studi hanno confrontato i livelli di piombo nel sangue dei soggetti che hanno consumato carne di selvaggina rispetto ai non-consumatori presi come controllo. In Svizzera, Haldiman et al. (2002) hanno confrontato i livelli di piombo nel sangue in cacciatori che hanno dichiarato di consumare carne di selvaggina con i livelli in soggetti di controllo, non-cacciatori e non consumatori di carne di selvaggina. Non sono state trovate differenze fra i due gruppi, né alcun rapporto fra i livelli di piombo nel sangue dei cacciatori e il numero di pasti consumati a base di selvaggina.

\* Contatti: Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Ospedale Sacco, Via GB Grassi 74, 20157 Milano, Italy.

E-mail: [silvia.fustinoni@unimi.it](mailto:silvia.fustinoni@unimi.it) (S. Fustinoni), [sabrina.sucato@unimi.it](mailto:sabrina.sucato@unimi.it) (S. Sucato), [dario.consonni@unimi.it](mailto:dario.consonni@unimi.it) (D. Consonni), [pm.mannuccio@policlinico.mi.it](mailto:pm.mannuccio@policlinico.mi.it) (P.M. Mannucci), [angelo.moretto@unimi.it](mailto:angelo.moretto@unimi.it) (A. Moretto).

L'ingestione di pallini o, più spesso, di frammenti di piombo non rimossi durante la preparazione della carne di selvaggina è stata rilevata da alcuni studi. Nei casi analizzati l'ingestione ha causato alti livelli di piombo nel sangue e, talvolta, segni di avvelenamento da piombo quando il metallo è rimasto bloccato nel tratto digestivo (di solito l'appendice) (si veda, per esempio: Cox e Pesola, 2006; Gustafsson e Gerhardsson, 2005; Madsen et al, 1988).

Con queste premesse e data la scarsa conoscenza a livello locale, questo studio ha esaminato i livelli di piombo nel sangue in relazione al consumo di carne di selvaggina in Italia, tenendo conto della pratica venatoria, dell'uso di munizioni contenenti piombo e di altri fattori, come il tipo di occupazione, gli hobby e altre abitudini di vita che potenzialmente possono causare esposizione al piombo.

## 2. Strumenti e metodi

### 2.1. Soggetti studiati e raccolta dei campioni

Lo studio ha riguardato 95 individui reclutati dalle sezioni locali della Federazione Italiana della Caccia (Federcaccia) in diverse città del Nord e Centro Italia (Brescia, Verona, Cesena, Forlì, Roma, Terni, Macerata). Gli individui che avevano mangiato carne di selvaggina nella settimana prima del prelievo di sangue sono stati esclusi per evitare l'effetto del picco di esposizione al piombo che può seguire tali pasti e che avrebbe alterato i risultati (Hunt et al., 2009). Tutti i partecipanti hanno dato il loro consenso informato scritto (vedi Materiale supplementare 1 per la versione in inglese del modulo di consenso informato). Il campione di sangue è stato ottenuto durante la primavera-estate 2015 da parte di medici o infermieri opportunamente addestrati. Da ciascun soggetto è stato estratto mediante prelievo venoso un campione di sangue di 5 mL e posto in una provetta sterilizzata contenente litio-eparina come anticoagulante (Vacutainer). I campioni sono stati conservati a 4° C fino all'invio in laboratorio entro due giorni dal prelievo, dove sono stati conservati a -20° C fino all'analisi.

Un questionario auto-somministrato è stato utilizzato per ottenere dagli individui analizzati informazioni personali rilevanti al fine di analizzare l'esposizione al piombo fra cui: il sesso, l'età, il luogo di residenza (rurale, piccola città, urbana), il consumo di vino e birra, lo status di fumatore, di cacciatore (giornate di caccia ogni anno) il consumo di selvaggina (numero di pasti per anno), il tipo di carne consumata nell'ultimo pasto a base di selvaggina (uccelli, mammiferi, entrambi), la relativa cottura (arrosto, marinata, entrambi i tipi), possibile esposizione al piombo dovuta ad attività professionale o agli hobby (vedi materiale supplementare 2 per la versione inglese del questionario). I campioni di sangue e i questionari sono stati codificati in modo che fossero analizzati in forma anonima e il laboratorio di analisi non ha avuto accesso alle informazioni sullo status di ciascun soggetto (vedi materiale supplementare 3 per la versione inglese della raccolta dei dati e la codifica).

### 2.2. Misurazione del piombo nel sangue

Prima delle analisi i campioni di sangue sono stati portati a temperatura ambiente e agitati accuratamente; 100 µL di sangue intero sono stati trasferiti in una provetta di polietilene di 10 ml e miscelato con 4,9 mL di soluzione acquosa contenente acido nitrico ultrapuro 0,05% V/V (69% TraceSelect, Fluka, Francia), 0,05% V/V Triton X-100 (Calbiochem, Darmstadt, Germania) e 75 ng/mL In (Inorganic Ventures, Inc., Lakewood, NJ, USA) come standard interno. Il campione è stato centrifugato a 3500 rpm per 15 min e 3,5 ml del surnatante è stato trasferito in una provetta di polietilene di 10 mL. I campioni sono stati analizzati con uno spettrometro di massa del plasma ad accoppiamento induttivo X Series II (Thermo Electron Corporation, Rodano, Italia) interfacciato con un campionatore automatico ASX-100 (Teledyne CETAC Technologies, Omaha, NE, Stati Uniti). Prima di ogni sezione

analitica lo strumento è stato calibrato con la soluzione acquosa ottenuta diluendo 1:50 il multi-elemento Tune A (contenente Ba, Be, Ce, Co, In, Li, Ni, Pb ciascuno a 10 mg / mL in 5% HNO<sub>3</sub>) (Analytika, Praga, Repubblica Ceca). Lo strumento è stato attivato nella modalità standard. La curva di calibrazione è stata ottenuta diluendo la soluzione standard multi-elemento 71 A (10 mg Pb/mL) (Inorganic Ventures, Inc., Lakewood, NJ, USA), alle concentrazioni desiderate con In come standard interno.

Dei misuratori di metallo nel sangue Seronorm<sup>TM</sup>, livello 1 e livello 2 (Sero As, Billingstad, Norvegia) sono stati utilizzati per garanzia interna di qualità, dopo la ricostituzione secondo le istruzioni del produttore. Abbiamo ottenuto 0,95 µg/dL (6; SD 0,12 µg/dL) per il livello 1 e 28,0 µg/dL (6; SD 3,19 µg/dL) per il livello 2, rispetto a valori nominali, rispettivamente, di 1,02 e 31,0 µg/dL. Tutte le soluzioni sono state preparate utilizzando acqua ultrapura Milli-Q<sup>®</sup> (conduttività 0,056 µS/cm) (Merck, Darmstadt, Germania). Il limite di quantificazione di Pb nel sangue 0,05 µg/dL, basato su dieci volte la deviazione standard dal dato privo di parametro.

### 2.3. Analisi statistica

Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando l'applicativo SPSS per Windows (versione 23.0, SPSS Statistics, IBM, Italia). I livelli di piombo nel sangue sono stati trasformati in log<sub>10</sub> per assicurare una distribuzione normale. Sono stati realizzati il t-test di Student per campioni indipendenti e l'analisi della varianza per confrontare le variabili continue tra i gruppi, e il test chi-quadro per confrontare le variabili categoriche tra i gruppi.

Un modello di regressione lineare multipla è stato realizzato per analizzare gli effetti del consumo di carne di selvaggina (si/no), il sesso (maschio/femmina), l'età (anni), la pratica venatoria (si/no), il consumo di vino (si/no), l'abitudine al fumo (si/no), l'attività di tiro (si/no) e la possibile esposizione al piombo nei luoghi di lavoro (si/no) rapportato sul log<sub>10</sub> dei livelli di Pb ematico. Il coefficiente angolare dell'antilogaritmo è stato calcolato per ottenere il rapporto di media geometrica (GMR). Il modello finale è stato:  $\text{Log}_{10}(\text{Pb ematico}) = \text{intercetta} + \beta_1(\text{sesso}) + \beta_2(\text{età}) + \beta_3(\text{consumo carni di selvaggina}) + \beta_4(\text{caccia}) + \beta_5(\text{consumo vino}) + \beta_6(\text{fumo}) + \beta_7(\text{tiro}) + \beta_8(\text{esposizione luoghi di lavoro})$ .

## 3. Risultati

La Tabella 1 riporta le principali caratteristiche personali degli individui analizzati, suddivisi fra consumatori e non consumatori di carne di selvaggina. Differenze sono emerse in base al sesso, con una maggiore percentuale di maschi tra coloro che consumano carne di selvaggina, ed è emersa una maggiore percentuale di soggetti che vivono in aree urbane e quelli che non bevono vino tra i non consumatori di selvaggina. Le altre caratteristiche sono risultate simili.

La Tabella 2 riassume le informazioni sulle possibili determinanti dei livelli Pb ematico nei consumatori e nei non consumatori di selvaggina. Gran parte dei consumatori di selvaggina sono cacciatori che per la maggior parte cacciano più di dieci volte l'anno, e 20 di loro frequentano anche un campo da tiro, ma solo otto lo fanno una volta o più ogni mese. Non è emerso nessun tipo di carne preferita (uccelli o mammiferi). La maggior parte dei consumatori di selvaggina mangia la carne marinata oppure sia alla griglia/arrosto che marinata. Sette soggetti (uno non consumatore di selvaggina e sei consumatori) hanno riportato una possibile esposizione professionale legata a saldatura, verniciatura o lavori nell'industria ceramica o del cristallo. Inoltre, 16 individui (1 non consumatore di selvaggina e 15 consumatori) hanno dichiarato un hobby con possibile esposizione al piombo come la pesca con piombo, ricarica fai-da-te di cartucce e lavorazione artistica del vetro. I livelli di Pb-blood nei soggetti dello studio divisi in consumatori e non consumatori di selvaggina

Tabella 1

Caratteristiche personali dei soggetti studiati divisi per consumo di selvaggina

	Non consumatori di selvaggina		Consumatori di selvaggina		T di Student o $\chi^2$ p value	
	NUMERO	%	NUMERO	%		
<b>Tutti i soggetti</b>	25	100	70	100		
<b>Età (anni), media (SD)</b>	53.4 (16.8)		50.2 (16.4)		0.799	
<b>Sesso</b>	Femmina	11	44.0	10	14.3	0.002
	Maschio	14	56.0	60	85.7	
<b>Residenza</b>	Città	16	64.0	18	25.7	0.001
	Piccola città	3	12.0	36	51.4	
	Rurale	6	24.0	16	22.9	
<b>Consumo di vino (bicch/giorno)</b>	0	15	60.0	31	44.3	0.296
	1–2	9	36.0	26	37.4	
	2–4	1	4.0	10	14.3	
	> 4	0	0.0	3	4.3	
<b>Consumo di birra (lattine/giorno)</b>	0	22	88.0	54	77.1	0.526
	< 1	3	12.0	11	15.7	
	1–2	0	0.0	4	5.7	
	> 2	0	0.0	1	1.4	
<b>Fumatore</b>	No	21	84.0	58	82.9	0.896
	Si	4	16.0	12	17.1	
<b>Sigarette/giorno</b>	Non fumatore	21	84.0	58	82.9	0.930
	1–10	2	8.0	4	5.7	
	10–20	1	4.0	3	4.3	
	> 20	1	4.0	5	7.1	

sono riportati nella Tabella 3. Fra i non consumatori, la mediana dei valori di Pb ematico è risultata 1,7 (5° – 95° percentile 1,0-5,3)  $\mu\text{g}/\text{dL}$ ; nei consumatori la mediana è stata di 3,4 (0,9-6,1)  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . I livelli di Pb nel sangue sono risultati più alti nei maschi e nei cacciatori in entrambi i gruppi.

Considerando tutte le caratteristiche personali e le possibili determinanti dei livelli di Pb ematico, non sono state trovate associazioni per il consumo di birra, il fumo, il tipo di selvaggina consumata abitualmente, la modalità di cottura, la pratica del tiro. Gli hobby che potrebbero aver comportato l'esposizione al piombo hanno mostrato una significativa associazione tra coloro che non consumano carne di selvaggina, ma non tra i consumatori (Tabella 3).

I risultati della regressione lineare multipla sono riportati nella Tabella 4. Caccia e consumo di vino sono stati gli unici fattori significativi, con Pb nel sangue quasi doppio nei cacciatori rispetto ai non cacciatori, e di 1,4 volte nei bevitori di vino. In contrasto con l'analisi univariata, mangiare carne di selvaggina e avere un'occupazione con esposizione al piombo non ha avuto impatto significativo sul valore di Pb ematico. L'esclusione dall'analisi dei soggetti professionalmente esposti al piombo non ha modificato queste associazioni in modo significativo (dati non riportati). In entrambi i non consumatori e consumatori di carne di selvaggina la durata dei periodi di caccia ha influenzato i livelli di piombo nel sangue (Tabella 2).

Tabella 2

Possibili determinanti dell'esposizione al piombo nei soggetti studiati divisi per consumo di carne di selvaggina

	Non consumatori di selvaggina		Consumatori di selvaggina		$\chi^2$ test p value	
	Numero	%	Numero	%		
<b>Tutti i soggetti</b>	25	100	70	100		
<b>Consumo di carne di selvaggina (n. pasti/anno)</b>	< 5	–	11	15.7	NA	
	6–10	–	17	24.3		
	> 10	–	42	60.0		
<b>Ultimo pasto con selvaggina</b>	Entro 1–4 settimane	–	46	65.7	NA	
	> 4 settimane	–	24	34.3		
<b>Tipo di selvaggina</b>	Uccelli	–	29	41.4	NA	
	Mammiferi	–	13	18.6		
	Uccelli + mammiferi	–	28	40.0		
<b>Tipo di cottura</b>	Griglia/arrostato	–	13	18.6	NA	
	Marinated	–	31	44.3		
	Griglia + marinata	–	26	37.1		
<b>Cacciatore</b>	No	18	72.0	8	11.4	< 0.001
	Si	7	28.0	62	88.6	
<b>Frequenza caccia (battute/anno)</b>	Mai	18	72.0	8	11.4	< 0.001
	< 5	1	4.0	1	1.4	
	5–10	0	0.0	0	0.0	
	> 10	6	24.0	61	87.1	
<b>Frequenza tiro poligono (sessioni/mese)</b>	Mai	25	100.0	50	71.4	0.029
	< 1	–	–	12	17.1	NA
	1–4	–	–	5	7.1	
	> 4	–	–	3	4.3	
<b>Possibile esposizione al piombo nei luoghi di lavoro</b>	No	24	96.0	64	91.4	0.453
	Si	1	4.0	6	8.6	
<b>Possibili hobby con esposizione al piombo</b>	No	24	96.0	55	78.6	0.046
	Si	1	4.0	15	21.4	

NA= non applicabile

Tabella 3

Pb ematico ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) nei soggetti studiati divisi per consumo di carne di selvaggina

		Non consumatori di selvaggina			Consumatori di selvaggina			t-test p value
		Pb ematico $\mu\text{g}/\text{dL}$			Pb ematico $\mu\text{g}/\text{dL}$			
		Mediana	5° percentile	95° percentile	Mediana	5° percentile	95° percentile	
<b>Tutti i soggetti</b>		1.7	1.0	5.3	3.4	0.9	6.1	0.012
<b>Sesso</b>	Femmina	1.2	0.7	2.5	1.4	0.6	7.4	0.456
	Maschio	2.3	1.1	5.9	3.6	1.2	6.1	0.266
		0.001			0.004			
<b>Residenza</b>	Urbano	1.8	1.0	5.9	2.9	0.6	5.2	0.272
	Piccola città	2.5	1.2	4.5	3.5	0.6	5.8	0.702
	Rurale	1.5	0.7	5.3	3.6	1.3	24.0	0.059
		0.695			0.263			
<b>Consumo di vino</b>	No	2.0	0.7	5.3	2.0	0.6	7.4	0.566
	Sì	1.6	1.2	5.9	3.9	1.3	6.1	0.005
		0.704			0.001			
<b>Consumo di birra</b>	No	1.9	1.0	5.3	3.3	0.6	6.1	0.091
	Sì	1.5	1.2	1.7	3.6	1.3	24.0	0.037
		0.350			0.112			
<b>Fumatore</b>	No	2.0	1.1	5.3	3.5	0.6	6.1	0.080
	Sì	1.2	1.0	1.9	3.2	1.4	11.6	0.018
		0.113			0.726			
<b>Consumo di selvaggina (pasti/anno)</b>	Mai	1.7	1.0	5.3	0	0	0	NA
	< 5	–	–	–	1.5	0.6	3.9	
	6–10	–	–	–	3.9	0.3	11.6	
	> 10	–	–	–	3.5	1.3	6.1	
		NA			0.016			
<b>Ultimo pasto con selvaggina</b>	< 1–4 settimane	–	–	–	3.5	1.3	6.1	NA
	> 4 settimane	–	–	–	2.9	0.6	6.1	NA
		NA			0.143			
<b>Tipo di selvaggina</b>	Uccelli	–	–	–	3.4	0.6	7.4	NA
	Uccelli + mammiferi	–	–	–	3.4	0.9	5.8	NA
	Mammiferi	–	–	–	3.5	1.3	6.1	NA
		NA			0.713			
<b>Tipo di cottura</b>	Griglia/arrostato	–	–	–	2.4	1.3	5.8	NA
	–	–	–	–	3.4	0.6	11.6	NA
	Griglia + marinato	–	–	–	3.6	1.4	5.5	NA
		NA			0.750			
<b>Cacciatore</b>	No	1.5	0.7	3.0	1.4	0.6	7.4	0.976
	Sì	4.0	1.7	5.9	3.6	1.3	6.1	0.518
		< 0.001			0.004			
<b>Frequenza caccia (battute/anno)</b>	Mai	1.5	0.7	3.0	1.4	0.6	7.4	0.976
	< 5	1.7	–	–	1.3	–	–	NA
	5–10	–	–	–	–	–	–	NA
	> 10	4.2	2.5	5.9	3.7	1.5	6.1	0.302
		< 0.001			0.006			
<b>Tiro in poligono</b>	No	1.7	1.0	5.3	3.4	0.6	7.4	0.020
	Sì	–	–	–	3.8	1.1	5.7	NA
		NA			0.860			
<b>Esposizione al piombo nel luogo di lavoro</b>	No	1.6	1.0	4.5	3.4	0.9	6.1	0.012
	Sì	5.9	–	–	4.1	3.3	5.2	0.116
		0.037			0.001			
<b>Hobby con esposizione al piombo</b>	No	1.6	1.0	4.5	3.4	0.6	7.4	0.025
	Sì	5.9	–	–	3.7	1.4	6.1	0.234
		0.037			0.060			

#### 4. Discussione

I livelli di Pb nel sangue dei soggetti analizzati sono risultati generalmente bassi, al di sotto del valore di riferimento del nostro laboratorio ( $5,0 \mu\text{g}/\text{dL}$ ). Solo tredici casi (14%) hanno mostrato livelli più elevati. Uno di questi era una femmina non cacciatrice, che ha dichiarato 5-10 pasti di selvaggina l'anno, con l'ultimo pasto consumato entro 1-4 settimane precedenti il prelievo di sangue: il suo Pb ematico è risultato pari a  $7,4 \mu\text{g}/\text{dL}$ . Fra i cacciatori, i livelli di Pb nel sangue sono stati al di sotto di  $6,1 \mu\text{g}/\text{dL}$ , fatta eccezione per due individui (entrambi cacciatori e consumatori di selvaggina) che avevano livelli pari a  $11,6$  e  $24,0 \mu\text{g}/\text{dL}$ . I motivi possibili per questi più alti livelli di Pb sono sotto indagine, ma la presenza di frammenti di pallini di piombo ingeriti durante i pasti di cacciagione non può essere esclusa.

Abbiamo trovato che le due determinanti principali del livello di Pb-blood sono la pratica della caccia e, in misura minore, il consumo di

vino. Mangiare carne di selvaggina, il fumo, l'area di residenza e la frequentazione di poligoni o campi di tiro non sono stati associati ad alcun aumento dei livelli di piombo nel sangue. I soggetti con possibile esposizione professionale al piombo avevano livelli di piombo leggermente superiori alla mediana, ma la differenza non ha raggiunto la significatività statistica che è stata verificata con l'analisi multivariata. I risultati non sono cambiati dopo aver escluso questi soggetti dall'analisi.

La mancanza di effetti derivanti dal consumo di carne di selvaggina è in linea col rapporto di Haldimann et al. (2002) che non aveva trovato nessuna differenza significativa nei livelli di Pb ematico fra i cacciatori che avevano dichiarato il consumo di carni di selvaggina e non cacciatori che non mangiavano selvaggina. Haldimann et al. (2002) non hanno trovato neanche alcuna relazione fra i livelli di piombo nel sangue dei cacciatori e il numero di pasti a base di selvaggina. Nel nostro studio, anche se siamo stati in grado di trovare solo 25 non consumatori di



Tabella 4

Risultati della regressione lineare multipla predittiva dei livelli di piombo nel sangue di cacciatori e non cacciatori (N=95). Media geometrica per ogni variabile indipendente (GMR), intervallo di confidenza 95% (95% CI) e p value predefiniti.

Log <sub>10</sub> (Pb ematico)	GMR	95% CI	p value
Sesso (M vs F)	1.17	0.71 – 1.94	0.537
Età (anni)	1.00	0.99 – 1.01	0.697
Consumo di selvaggina (si/no)	0.94	0.65 – 1.37	0.747
Cacciatore (si/no)	1.90	1.10 – 3.28	0.022
Consumo di vino (si/no)	1.38	1.06 – 1.80	0.017
Fumatore (si/no)	1.00	0.72 – 1.41	0.981
Tiratore (si/no)	0.86	0.62 – 1.20	0.370
Esposizione professionale al piombo (si/no)	1.13	0.70 – 1.84	0.607
<b>R<sup>2</sup>ca</b>	<b>0.349</b>	<b>(p &lt; 0.001)</b>	

<sup>a</sup> R<sup>2</sup> rappresenta il coefficiente di determinazione del modello di regressione lineare.

selvaggina e 70 consumatori, l'intervallo di confidenza relativo all'effetto del consumo di selvaggina sui livelli di Pb nel sangue è stato di 0,65-1,37, che implica al massimo una differenza tra il 35% in diminuzione e il 37% in aumento. Dato che la mediana per i non consumatori di selvaggina è stata di 1,7 µg/dL, l'effetto sarebbe pari al massimo a un incremento di circa 0,6 µg/dL.

Un problema è emerso in relazione al tempo di dimezzamento dei livelli di piombo nel sangue che è di circa 4 settimane (Nieboer et al 2013). La maggior parte dei soggetti analizzati nel nostro studio avevano consumato il loro ultimo pasto di selvaggina entro 4 settimane dal prelievo di sangue e, di conseguenza, ci potrebbe essere stata una parziale sottostima del peso del piombo.

I nostri risultati non sono in linea con le stime dell'assorbimento di piombo da carne di selvaggina fatte da diversi autori e organizzazioni. Per esempio, l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA, 2010) ha stimato un apporto aggiuntivo di piombo derivante da carne di selvaggina nei consumatori europei pari a 0,54 µg/kg di peso corporeo al giorno, il che corrisponderebbe a un aumento di 1,3 µg/dL nei livelli di piombo nel sangue. Tuttavia, questa sembra essere una notevole sovrastima, poiché la concentrazione media di Pb nella selvaggina considerata dall'EFSA era di 3150 µg/kg di carne ed era stata influenzata da pochi campioni con concentrazioni molto elevate (fino a 188.000 µg/kg). Infatti, la mediana era di 0,02 µg/kg di carne, vale a dire circa 150.000 volte inferiore; anche il 95° percentile era al di sotto della media. Può anche accadere che alcuni pasti nel corso di una vita contengono tali livelli elevati di piombo. Tuttavia, dato che gli effetti biologici del piombo sono legati alla sua accumulazione, un singolo episodio di assunzione anche al di sopra dei livelli considerati sicuri non dovrebbe avere alcun impatto significativo sul carico totale di piombo nel corpo.

Allo stesso modo, Pain et al. (2010) hanno fornito una stima nel caso, irrealistico, di assunzione di 10 µg/kg di peso corporeo al giorno, corrispondente a un livello di Pb nel sangue di 24 µg/dL, ipotizzando una concentrazione di piombo media di oltre 8000 µg/kg di carne e un apporto di carne di 88 g/persona al giorno. In Spagna, Mateo et al. (2007) hanno stimato che un pasto settimanale di carne di selvaggina sarebbe sufficiente a superare il livello tollerabile di assunzione di piombo. Tuttavia, nel nostro studio non è stata rilevata in nessun soggetto una simile frequenza di consumo, e le cifre da loro fornite sono basate sul presupposto che tutta la carne conterrebbe pallini di piombo, e questo rende la valutazione piuttosto grossolana. Kosnett (2009) ha stimato che degli adulti che mangiano ogni settimana due porzioni di carne di selvaggina contenente Pb solubile alla concentrazione di 1 µg/g di peso avrebbero un aumento di Pb nel sangue di 1,9 - 2,3 µg/dL. Anche in questo caso, la frequenza stimata di consumo di selvaggina è significativamente superiore rispetto a quella riportata dai soggetti del nostro studio. Danieli et al. (2012) hanno valutato l'esposizione al piombo in una popolazione di cacciatori e dei loro familiari che mangiano carne e fegato di cinghiale. La loro simulazione con il

metodo Montecarlo, basato sulla distribuzione delle concentrazioni di piombo nella carne e sui dati di consumo di carne rilevati con questionario, ha mostrato un'assunzione mediana giornaliera di circa 0,02 µg/kg di peso corporeo e un 95° percentile di 0,05 µg/kg di peso corporeo, corrispondente a un incremento di 0,12 µg/dL di Pb ematico, troppo basso per essere rilevato dal nostro studio che poteva rilevare solo un aumento di circa 0,8 µg/dL.

Indicatori simili sono stati considerati da Sevillano Morales et al. (2011) nei consumatori di carne di cervo e cinghiale. Queste stime appaiono più realistiche e non sono in contrasto con i nostri risultati, analogamente ai risultati di Haldimann et al. (2002), da cui non sono risultate associazioni fra assunzione di carne di selvaggina e livelli di Pb nel sangue.

Studi effettuati su popolazioni che vivono nelle zone vicino al circolo polare artico (Nord Canada, Alaska, Groenlandia, Russia settentrionale) suggeriscono che il consumo di selvaggina cacciata con munizioni contenenti piombo è associato a più alti livelli di Pb nel sangue. Tuttavia, l'elevato consumo di carni di selvaggina di queste popolazioni (settimanale o anche più spesso) non è paragonabile con le abitudini alimentari della maggior parte dei paesi europei (EFSA, 2012; Bjerregaard et al, 2004; Johansen et al, 2006). In queste popolazioni nordiche, il consumo giornaliero di carne di selvaggina è stato associato a un raddoppio dei livelli di Pb nel sangue rispetto a chi non ne consuma o ne consuma meno di tre volte al mese. Inoltre, nessuna differenza significativa nella concentrazione di Pb nel sangue è stata trovata fra i consumatori di meno di un pasto al mese e quelli che mangiano due o tre pasti al mese, indicando che solo gli individui con un pesante consumo di selvaggina sono significativamente più esposti a elevati livelli di Pb nel sangue. Analogamente, Tsuji et al. (2008b) hanno trovato che i livelli di piombo nel sangue erano più alti dopo il tradizionale raccolto primaverile degli uccelli acquatici nella popolazione delle First Nations nel nord Ontario (Canada). Durante questo periodo di tre mesi, sono stati segnalati fino a 72 pasti a base di uccelli acquatici, con un apporto molto più alto di quello riportato dai soggetti esaminati nel nostro studio.

Mateo et al. (2007, 2011) hanno scoperto che la bioaccessibilità del piombo da carne di selvaggina varia a seconda del tipo di cottura. Le ricette che comprendono la cottura con vino o aceto facilitano il rilascio di Pb, mentre il trattamento in condizioni acide a temperatura ambiente, simile ai metodi di marinatura impiegati in Italia, non lo fanno. I nostri dati, anche se di dimensioni limitate, tendono a confermare che il trattamento di marinatura prima della cottura non è associato a più alti livelli di Pb nel sangue.

Nel nostro studio abbiamo trovato un'associazione tra caccia e livelli di Pb nel sangue, con concentrazioni doppie di piombo nei cacciatori rispetto ai non-cacciatori, a prescindere dal fatto che mangiassero o meno carne di selvaggina. Nessun effetto è stato rilevato in seguito alla frequentazione di poligoni o campi di tiro, come invece precedenti studi avevano individuato quale causa di aumento di Pb nel sangue (Goldberg et al., 1991; Löfstedt et al., 1999; Tripathi et al., 1990). Meltzer et al. (2013) hanno trovato che i cacciatori che fanno in casa le loro munizioni hanno livelli di Pb nel sangue del 53% più alti, maggiori livelli del 31% più alti derivanti dal consumo di carne di cervo e un piccolo ma significativo incremento in relazione all'intensità della pratica venatoria, misurata in base al numero di colpi sparati.

Uno dei limiti del nostro studio è l'assenza di informazioni sulla frequenza e modalità di gestione delle munizioni. Altri studi hanno trovato elevati livelli di Pb nel sangue subito dopo la stagione di caccia, e questo è stato attribuito a più frequenti pasti a base di carne di selvaggina (Johansen et al., 2006; Iqbal et al., 2009; Tsuji et al., 2008b). Tuttavia, un eventuale contributo dalla pratica della caccia all'innalzamento dei livelli di piombo nel

sangue non è stato valutato. Fontaine et al. (2008) hanno riportato che i livelli di piombo nel sangue dei maschi Inuit erano più alti rispetto alle femmine, che è improbabile vadano a caccia mentre, per esempio, i livelli ematici di cadmio non mostravano differenze. Haldimann et al. (2002) non hanno trovato differenze nei livelli di Pb nel sangue nei cacciatori che mangiano carne di selvaggina, ma non hanno riportato nessun tipo di analisi sulle abitudini e sulla frequenza della pratica venatoria. Tsuji et al. (2008b) hanno trovato che la dieta dei cacciatori solo in parte spiega le differenze nei livelli di Pb nel sangue, ritenendo che la caccia, di per sé, non è da escludere come causa di livelli superiori di piombo nel sangue. Questi risultati sono quindi coerenti con una possibile influenza della pratica della caccia sui livelli di Pb nel sangue.

Nel nostro studio anche il consumo di vino è stato associato con una maggiore livello (40%) di Pb nel sangue e questo è coerente con i risultati di precedenti studi. Per esempio, secondo Meltzer et al. (2013) esiste un "effetto molto significativo" del consumo di vino, con un aumento fino al 18% nei maggiori consumatori, forse, ma non del tutto, a causa di un potenziato effetto dell'assorbimento di piombo da carne di selvaggina, specialmente carne macinata di cervo.

Effetti più deboli sono stati osservati da Birgisdottir et al. (2013) e Bjeremo et al. (2013). Anche l'EFSA (2010), sulla base di dati di consumo europei e i livelli di piombo rilevati nei vini, afferma che bere vino è fra i dieci fattori più importanti nel determinare l'assunzione di piombo.

In conclusione, i nostri risultati indicano che i due principali fattori determinanti dei livelli di Pb nel sangue sono la frequenza con cui si spara e l'assunzione di vino, ma il loro effetto medio è modesto (1-2 µg/dL di incremento di Pb nel sangue). Nella nostra serie di dati, l'effetto del consumo di carne di cacciagione non è risultato significativo tenuto conto dell'influenza delle altre variabili considerate. Questo potrebbe essere spiegato dal minor consumo di carne di selvaggina rilevato dalla nostra indagine, inferiore rispetto ad altri studi che hanno riportato più alto Pb nel sangue ma in consumatori di notevoli quantità di selvaggina.

Il nostro studio è stato numericamente piccolo per valutare il rischio di esposizioni più inusuali, per esempio quando pallini di piombo o frammenti di piombo rimangono bloccati nell'appendice. Dati i livelli generalmente bassi di Pb rilevati nella maggior parte dei soggetti analizzati dal nostro studio e data l'incertezza sulla piena attendibilità delle informazioni fornite durante i questionari compilati autonomamente dagli individui analizzati, non è facile trarre conclusioni definitive sulla significatività dei risultati che indicano un'influenza della pratica del tiro e quindi della possibile esposizione a fumi rilasciati e alla materia prima presente nelle cartucce maneggiate (Tsuji et al., 2008b). Non siamo stati in grado di ottenere informazioni dettagliate sulla preparazione fai-da-te di munizioni, che potrebbe essere una fonte molto più importante di esposizione (Meltzer et al., 2013) rispetto alla numerosità di colpi sparati per anno. Queste condizioni rendono difficile formulare suggerimenti precisi su come gestire questa sospetta esposizione al piombo dei cacciatori.

### Ringraziamenti

Gli autori sono grati alla Federazione Italiana della Caccia (Federaccia) per il reclutamento dei soggetti analizzati, e ai cacciatori e non cacciatori che si sono offerti volontari per lo studio. AM e PMM hanno ricevuto un compenso dal Comitato Nazionale Caccia e Natura (CNCN) per fornire una report sui dati della letteratura relativi alla presenza di piombo nella carne di selvaggina. Il progetto è stato finanziato dal CNCN. Le conclusioni sono quelle degli autori e non dello sponsor.

### Appendice A. Informazioni integrative

Dati e informazioni supplementari associate a questo articolo possono essere trovati nella versione online al seguente indirizzo: doi:10.1016/j.envres.2017.01.041.

### Bibliografia

- Agency for Food Safety and Nutrition, 2012. Report of the scientific Committee of the Spanish Agency for food safety and Nutrition (AESAN) in relation to the risk associated with the presence of lead in wild game meat in Spain. AESAN Sci. Comm. 15, 131–159.
- Birgisdottir, B.E., Knutsen, H.K., Haugen, M., Gjelstad, I.M., Jenssen, M.T., Ellingsen, D.G., Thomassen, Y., Alexander, J., Meltzer, H.M., Brantsæter, A.L., 2013. Essential and toxic element concentrations in blood and urine and their associations with diet: results from a Norwegian population study including high-consumers of seafood and game. *Sci. Total Environ.* 463–464, 826–844.
- Bjeremo, H., et al., 2013. Lead, mercury, and cadmium in blood and their relation to diet among Swedish adults. *Food Chem. Toxicol.* 57, 161–169.
- Bjerregaard, P., et al., 2004. Lead sources in human diet in Greenland. *Environ. Health Perspect.* 112, 1496–1498.
- Cox, W.M., Pesola, G.R., 2006. Lead shot in the appendix. *N. Engl. J. Med.* 354, 1757.
- Danieli, P.P., et al., 2012. Cadmium, lead, and chromium in large game: game a: a local scale exposure assessment for hunters consuming meat and liver of wild boar. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 63, 612–627.
- European Food Safety Authority, 2010. Scientific Opinion on lead in food. EFSA Panel Food Chain (CONTAM). 8 (4), 1570.
- European Food Safety Authority, 2012. Lead dietary exposure in the European population. *Sci. Rep. Efsa.* 10 (7), 2831.
- Fontaine, J., et al., 2008. Reevaluation of blood mercury, lead and cadmium concentrations in the Inuit populations of Nunavik (Québec): a cross-sectional study. *Environ. Health* 7, 25.
- Goldberg, R.L., Hicks, A.M., O'Leary, L.M., London, S., 1991. Lead exposure at uncovered outdoor firing ranges. *J. Occup. Med.* 33, 718–719.
- Green, R.E., Pain, D.J., 2012. Potential health risks to adults and children in the UK from exposure to dietary lead in gamebirds shot with lead ammunition. *Food Chem. Toxicol.* 50 (11), 4180–4190.
- Guitart, R., Serratos, J., Thomas, V.G., 2002. Lead-poisoned wildfowl in Spain: a significant threat for human consumers. *Int J. Environ. Health Res.* 12 (4), 301–309.
- Gustavsson, P., Gerhardsson, L., 2005. Intoxication from an accidentally ingested lead shot retained in the gastrointestinal tract. *Environ. Med.* 113 (4), 491–493.
- Haldimann, M., et al., 2002. Intake of lead from game meat – a risk to consumers health? *Eur. Food Res Technol.* 215, 375–379.
- Hunt, W.G., et al., 2009. Lead bullet fragments in venison from rifle-killed deer: potential for human dietary exposure. *PLoS One* 4, e5330.
- Iqbal, S., et al., 2009. Hunting with lead: association between blood lead levels and wild game consumption. *Environ. Res.* 109, 952–959.
- Johansen, P., 2001. Lead contamination of seabirds harvested with lead shot—implications to human diet in Greenland. *Environ. Pollut.* 112, 501–504.
- Johansen, P., et al., 2006. Lead shot from hunting as a source of lead in human blood. *Environ. Pollut.* 142, 93–97.
- Johansen, P.A., et al., 2004. High human exposure to lead through consumption of birds hunted with lead shot. *Environ. Pollut.* 127, 125–129.

- Kosnett, M.J., 2009. Health effects of low-dose lead exposure in adults and children, and preventable risk posed by the consumption of game meat harvested with lead ammunition. In: Watson, R.T., Fuller, M., Pokras, M., Hunt, W.G. (Eds.), *Ingestion of Lead from Spent Ammunition: Implications for Wildlife and Humans*. The Peregrine Fund, Boise, Idaho, USA, 24–33, (last accessed 7 February 2017) <https://www.peregrinefund.org/subsites/conference-lead/PDF/0103%20Kosnett.pdf>.
- Lofstedt, H., Selden, A., Storeus, L., Bodin, L., 1999. Blood lead in Swedish police officers. *Am. J. Ind. Med.* 35, 519–522.
- Madsen, H.H., Skjødt, T., Jørgensen, P.J., Grandjean, P., 1988. Blood lead levels in patients with lead shot retained in the appendix. *Acta Radiol.* 29 (6), 745–746.
- Mateo, R., et al., 2007. Transfer of lead from shot pellets to game meat during cooking. *Sci. Total Environ.* 372, 480–485.
- Mateo, R., et al., 2011. Bioaccessibility of Pb from ammunition in game meat is affected by cooking treatment. *PLoS One* 6 (1), e15892.
- Meltzer, H.M., et al., 2013. Consumption of lead-shot cervid meat and blood lead concentrations in a group of adult Norwegians. *Environ. Res.* 127, 29–39.
- Nieboer, E., Tsuji, J.S., Martin, I.D., Liberda, E.N., 2013. Human biomonitoring issues related to lead exposure. *Environ. Sci. Proc. Imp.* 15, 1824–1829.
- Pain, D.J., et al., 2010. Potential hazard to human health from exposure to fragments of lead bullets and shot in the tissues of game animals. *PLoS One* 5 (4), e10315.
- Sevillano Morales, J., et al., 2011. Risk assessment of the lead intake by consumption of red deer and wild boar meat in Southern Spain. *Food Addit. Contam.* 28, 1021–1033.
- Tripathi, R.K., Sherertz, P.C., Llewellyn, G.C., Armstrong, C.W., Ramsey, S.L., 1990. Reducing exposures to airborne lead in a covered, outdoor firing range by using totally copper-jacketed bullets. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 51, 28–31.
- Tsuji, L.J.S., et al., 1999. Lead shot contamination in edible portion of game birds and its dietary implications. *research and application. Ecosyst. Health* 5 (3), 183–192.
- Tsuji, L.J.S., et al., 2008a. The identification of lead ammunition as a source of lead exposure in first Nations: the use of lead isotope ratios. *Sci. Total Environ.* 393, 291–298.
- Tsuji, L.J.S., et al., 2008b. Lead shot contribution to blood lead of first Nations people: the use of lead isotopes to identify sources of exposure. *Sci. Total Environ.* 405, 180–185.