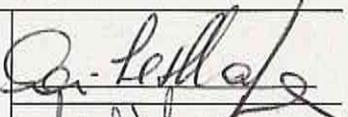
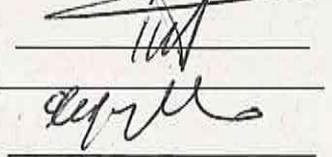


Relazione Tecnica



VALUTAZIONE DELLA MUTAGENICITÀ DEL PM2,5
Dati 2018

Redazione	Daniele Marangon Anna Maria D'Agostino	Data: 12/08/2019	
Verifica	Il responsabile SS 06.05: Marco Fontana Il biologo dirigente: Antonella Mangiavillano		 

VALUTAZIONE DELLA MUTAGENICITÀ DEL PM_{2,5}

Dati 2018

Numerose ricerche scientifiche hanno evidenziato il forte impatto negativo del particolato atmosferico sulla salute umana, evidenziando una chiara associazione tra l'esposizione alle polveri sottili e l'aumento di malattie respiratorie e cardiovascolari. La capacità del particolato atmosferico di veicolare inquinanti atmosferici, come metalli e IPA, aumenta la probabilità di indurre effetti mutageni nell'uomo. Per questi motivi, e sulla base di numerosi studi condotti sugli animali e prove evidenti del meccanismo di azione, nel 2013, la IARC (International Agency for Research on Cancer) ha provveduto a classificare il particolato atmosferico come cancerogeno certo per l'uomo.

Nonostante le politiche di sviluppo siano indirizzate all'adozione di strategie volte al miglioramento dell'ambiente, la situazione della qualità dell'aria in Italia, con particolare riferimento alla pianura padana, rimane critica.

Allo scopo di fornire maggiori elementi per caratterizzare una matrice complessa come il particolato atmosferico, e quindi indirizzare eventuali politiche di miglioramento della qualità dell'aria, si rende necessario valutare le polveri sottili con test biologici in grado di evidenziare le interazioni sinergiche o antagoniste delle varie specie chimiche veicolate dal particolato atmosferico, sostanze che possono reagire con il materiale ereditario ed il suo metabolismo.

Gli agenti che causano alterazioni a carico della molecola di DNA, o dei processi che sono deputati alla sua corretta conservazione e trasmissione, possono produrre patologie a carico della popolazione direttamente esposta o danni ereditabili, a carico quindi delle generazioni future.

Fra i numerosi test di mutagenesi ambientale disponibili, il test di reversione genica in *Salmonella typhimurium* (test di Ames) è sicuramente il più utilizzato, anche grazie alla sua relativa semplicità di esecuzione, rapidità, economicità, e soprattutto dal buon valore predittivo nei confronti della potenziale cancerogenicità di miscele complesse come le matrici ambientali. Infatti, l'interesse rivolto ai test di mutagenesi a breve termine si basa sul presupposto che vi sia una correlazione tra evento mutagenetico e cancerogenetico per le sostanze genotossiche.

ATTIVITÀ DEL LABORATORIO SPECIALISTICO NORD-OVEST SULLA MUTAGENICITÀ DEL PARTICOLATO ATMOSFERICO PM_{2,5}

In accordo con il coordinamento regionale della qualità dell'aria è stato analizzato il particolato campionato in cinque stazioni appartenenti alla rete fissa di monitoraggio della qualità dell'aria. In particolare nel 2018, alle stazioni di Torino Lingotto (fondo urbano), Settimo Torinese (traffico) e Dernice (fondo rurale) già considerate negli anni precedenti, sono state affiancate le stazioni di Beinasco TRM per la valutazione di eventuali criticità derivanti dal vicino termovalorizzatore e Asti Vinchio, sito ritenuto interessante per la valutazione dell'eventuale incremento della mutagenicità derivante dall'utilizzo di biomasse per il riscaldamento domestico (fig. 1).

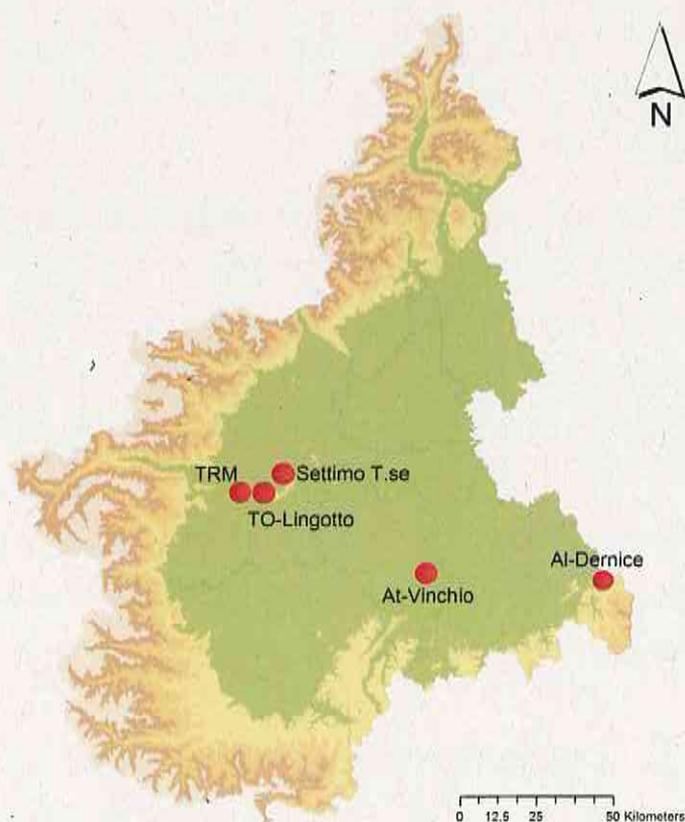


Figura 1. Siti di campionamento

Il dipartimento di Scienze della prevenzione Pubblica e Pediatriche dell'Università di Torino provvederà ad eseguire analisi biologiche per la determinazione degli interferenti endocrini su parte degli estratti organici utilizzati per i test di mutagenesi.

I campioni analizzati dal laboratorio mutagenesi di Grugliasco sono stati 60, per un totale di 240 parametri.

FASI PRINCIPALI ATTIVITÀ:

- determinazione gravimetrica del PM_{2,5};
- raccolta mensile dei filtri e consegna al laboratorio di Grugliasco;
- taglio dei filtri;
- estrazione organica del campione composto dai filtri del mese;
- valutazione della mutagenicità con il test di Ames (TA98, TA100, con e senza attivatore metabolico S9);
- determinazione analitica degli IPA;
- elaborazione dei dati;
- valutazione finale.

RISULTATI ATTESI

- Dati mensili di mutagenicità per ogni stazione di campionamento del PM_{2,5} inclusa nel progetto.
- Confronto dei dati ottenuti con quelli degli anni precedenti.
- Valutazione degli interferenti endocrini (Dipartimento della prevenzione Pubblica e Pediatriche dell'Università di Torino).

SPECIFICHE TECNICHE DEI SISTEMI DI PRELIEVO

I prelievi del particolato atmosferico sono stati eseguiti quotidianamente su filtri in quarzo diametro 47 mm tramite campionatore a basso volume per particolato PM_{2.5} (PM₁₀ per la stazione TRM) con durata del campionamento di 24 h. I filtri del mese sono stati uniti per le determinazioni analitiche effettuate dal laboratorio di Grugliasco e dal Dipartimento della prevenzione Pubblica e Pediatriche dell'Università di Torino.

PROCEDURA ANALITICA

- Determinazione gravimetrica della frazione PM_{2.5}

Estrazione con solventi apolari

- Estrazione con una miscela 1:1 di acetone-esano (200ml) in apparato Soxhlet per circa 6 ore.
- Eliminazione del solvente mediante Rotoevaporatore a 40°C a bassa pressione.
- Solubilizzazione dell'estratto ottenuto con dimetilsolfossido.

TEST DI MUTAGENESI ESEGUITI

I test che valutano l'induzione di eventi genotossici da parte di xenobiotici, sono divisi in test a 'breve termine' (che forniscono risultati anche in 48h) che prevedono l'utilizzo di batteri, lieviti o linee cellulari stabilizzate, e test a 'lungo termine' che comprendono studi su popolazioni animali nel medio-lungo periodo o ricerche di tipo epidemiologico.

Per la valutazione della mutagenicità del PM_{2.5} si è scelto di utilizzare il test di reversione genica in *Salmonella typhimurium*, sia in relazione alla tipologia di inquinanti atmosferici presenti sul particolato atmosferico e alla precedente esperienza maturata nella valutazione della mutagenicità del PM, sia sulla base di pubblicazioni che indicano lo stesso come migliore test in vitro per la valutazione del particolato atmosferico da un punto di vista della mutagenicità.

Allo scopo di simulare i processi detossificanti dell'uomo e rendere i saggi in grado di rilevare anche sostanze pro-mutagene vengono utilizzati estratti microsomiali epatici di ratto (S9) che forniscono un'attivazione metabolica esogena.

TEST DI AMES

(Maron - Ames 1983 metodo OECD 471)

Principio del metodo

Il test di Ames è un metodo semiquantitativo per incorporazione su piastra che utilizza come organismo test ceppi di *Salmonella typhimurium* geneticamente modificati, la cui caratteristica principale è l'auxotrofia nei confronti dell'istidina, cioè l'incapacità degli stessi di sintetizzare l'aminoacido.

Tale caratteristica permette di valutare l'interferenza di composti chimici mutageni ad azione puntiforme con il materiale genetico dei batteri, che attraverso meccanismi di inserzione/delezione o sostituzione delle basi azotate del DNA possono ripristinare la

sequenza nucleotidica originale del batterio riportandolo ad una completa funzione sintetica (nuova capacità di sintesi dell'istidina).

Si utilizzano di routine due ceppi di *Salmonella typhimurium* (TA98 e TA100), che per le differenti modificazioni genetiche rispondono a diverse classi di composti chimici.

I campioni da esaminare sono saggiati in quattro dosi differenti (più repliche per dose) con entrambi i ceppi, sia per la determinazione di mutageni diretti sia per la determinazione dei promutageni.

Procedura analitica

Il test di Ames è stato condotto secondo la procedura descritta da Maron e Ames (1983).

I ceppi di *Salmonella typhimurium* conservati a -80°C , il giorno precedente l'esecuzione del test, sono stati scongelati e seminati su brodo nutriente per 18h in agitazione continua. Sono stati quindi esposti a dosi crescenti dell'estratto organico solubilizzato in DMSO (4 dosi scalari), in presenza e in assenza di attivatore metabolico S9. La reazione è stata condotta in una provetta con 2 ml di agar molle (top agar) contenente una piccola quantità di istidina e biotina. Tale miscela è stata quindi versata su piastre petri con terreno minimo agarizzato. Si è proceduto al conteggio delle colonie cresciute sulle piastre dopo 48 ore di incubazione a 37°C .

L'eventuale tossicità del campione è stata stimata valutando al microscopio ottico la crescita di fondo delle salmonelle che hanno potuto sfruttare il minimo quantitativo di istidina presente nel terreno. In caso di presenza di dosi tossiche questo strato di batteri risulta più diradato e le dimensioni delle colonie di fondo risultano essere maggiori. Quest'accorgimento ha consentito di eliminare eventuali dosi tossiche che potrebbero fornire risultati falsi negativi.

Ogni esperimento è stato condotto utilizzando due repliche per ogni dose del campione e quattro repliche del controllo negativo.

Al fine di monitorare il buon andamento del test e la corretta sensibilità dei batteri ai mutageni, sono stati utilizzati composti mutageni noti, quali la 4 nitrochinolina-ossido (TA98), il metil-metan-sulfonato (TA100) e il 2 amino antracene (TA98+S9 e TA100+S9).

Espressione del risultato

Al termine del periodo d'incubazione è stata eseguita la conta delle colonie cresciute su ogni singola piastra. È stata eseguita una media delle colonie rilevate sulle piastre del bianco (revertenti spontanei) e delle colonie rilevate sulle piastre di ogni dose del campione (revertenti indotti). Il risultato è stato espresso come revertenti netti (sottraendo alla media di ogni dose del campione la media dei revertenti spontanei), e come rapporto di mutagenicità (MR), calcolato dividendo il numero di revertenti netti per i revertenti spontanei. Sono quindi state costruite curve dose-risposta ponendo in ascissa i m³ di aria analizzati per piastra ed in ordinata il valore di MR corrispondente. I campioni sono stati valutati positivi quando all'aumentare della dose si è osservato un proporzionale aumento della risposta in termini di aumento dei revertenti, e in almeno una delle dosi si è raggiunto il doppio dei revertenti indotti rispetto ai revertenti spontanei (questo si osserva con un rapporto di mutagenicità pari a 1).

Il valore del coefficiente angolare della retta dose-risposta rappresenta l'aumento del numero di revertenti all'aumentare unitario della dose, ovvero quanti revertenti vengono indotti ogni m³ di aria analizzata.

Allo scopo di fornire un dato di mutagenicità complessivo i valori di MR ottenuti con ogni ceppo con e senza l'attivatore metabolico, sono stati sommati a costituire il Fattore di Genotossicità (FG).

RISULTATI

I dati ottenuti mostrano in tutte le stazioni esaminate, un tipico andamento stagionale con picchi di massima attività mutagena nel periodo invernale e valori minimi nel periodo primaverile e autunnale. I campioni prelevati nel periodo estivo non evidenziano attività mutagena.

I diversi ceppi utilizzati, in presenza o assenza di attivatore metabolico, hanno risposto positivamente fornendo un quadro articolato. In particolare il ceppo TA98 si è dimostrato più sensibile mostrando generalmente valori più elevati, tuttavia la risposta positiva ottenuta con entrambi i ceppi in presenza e in assenza di attivatore metabolico evidenzia la complessità della matrice ambientale sottoposta ad analisi.

Le stazioni Torino-Lingotto (figura 2), Settimo-Vivaldi (figura 3), Beinasco TRM (figura 4) e Vinchio (figura 5) forniscono dati di mutagenicità tra loro comparabili, con valori di mutagenicità più elevati nei mesi di gennaio, febbraio, novembre e dicembre.

I valori ottenuti da maggio a settembre compresi, non hanno mostrato criticità.

La stazione di Dernice (figura 6) pur mostrando lo stesso andamento stagionale, mostra valori ridotti durante tutto il periodo di indagine.

La maggiore risposta ottenuta senza l'attivatore metabolico S9 suggerisce un importante contributo alla mutagenicità complessiva per la presenza di composti mutageni ad azione diretta (come evidenziato nella campagna del 2017 attraverso l'utilizzo di ceppi specifici per la determinazione di Nitro-IPA).

L'analisi statistica della correlazione (Rho di Spearman) tra il quantitativo di polveri sottili ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) e la mutagenicità rilevata dai singoli ceppi è soddisfacente per le stazioni di Fondo urbano e traffico, mentre nelle stazioni di Vinchio e Dernice non si evidenziano correlazioni significative ($p > 0.05$).

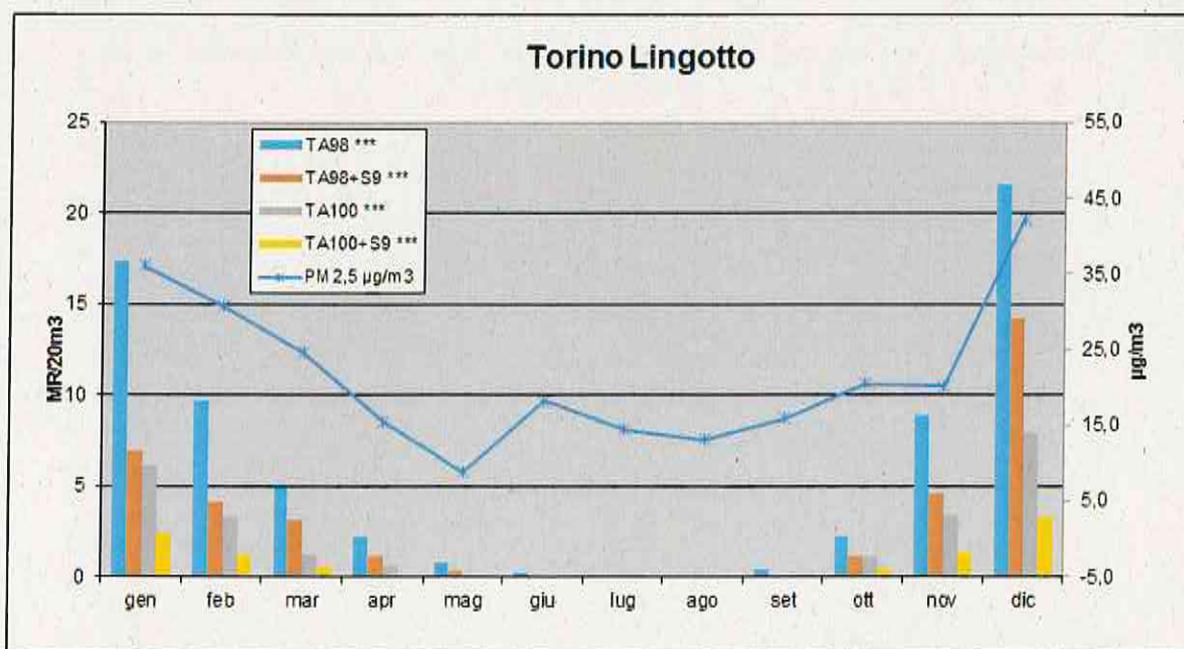


Figura 2: stazione Torino-Lingotto 2018. Tipico andamento stagionale della mutagenicità nel PM_{2,5}.

Il ceppo TA98 senza attivatore metabolico ha fornito i risultati più elevati. Il mese di Dicembre registra i valori più elevati della campagna 2018.

*** = correlazioni polveri / mutagenicità .Rho Spearman $p < 0.001$

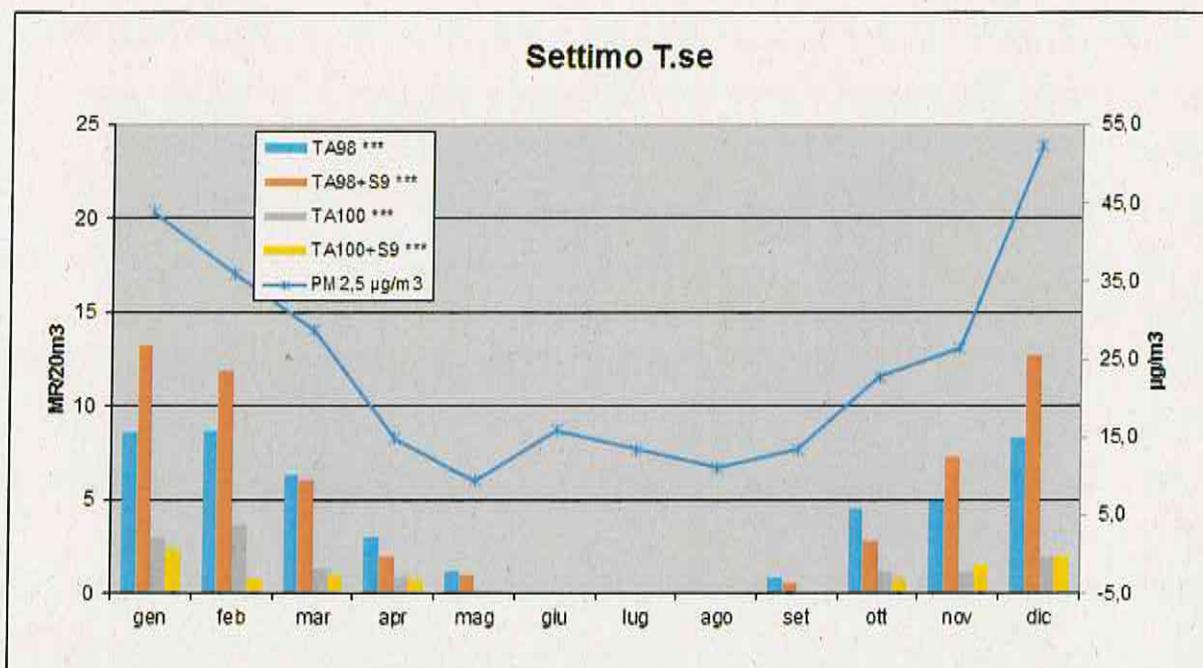


Figura 3: stazione Settimo-Vivaldi 2018. La risposta ottenuta con l'attivatore metabolico S9 ha fornito nel sito di traffico valori più elevati, contrariamente alle altre stazioni analizzate.

*** = correlazioni polveri / mutagenicità .Rho Spearman $p < 0.001$

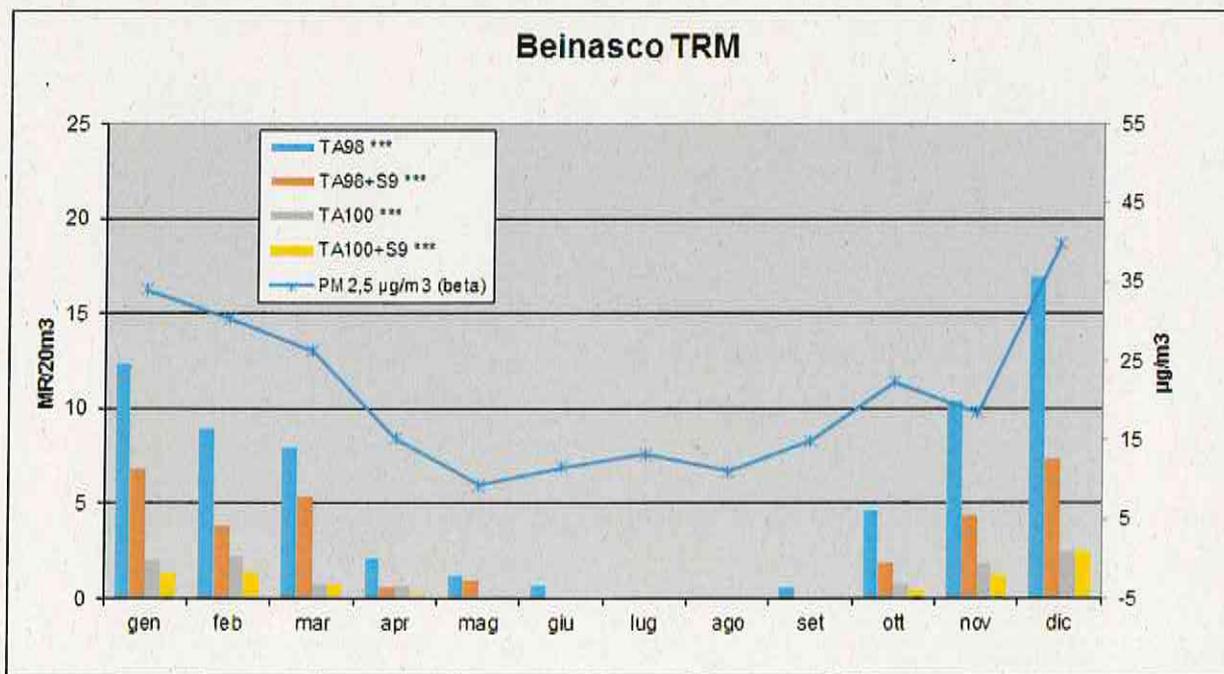


Figura 4: stazione Beinasco TRM 2018. I valori di mutagenicità rilevati sono comparabili a quelli ottenuti nei due siti precedenti.

*** = correlazioni polveri / mutagenicità .Rho Spearman $p < 0.001$

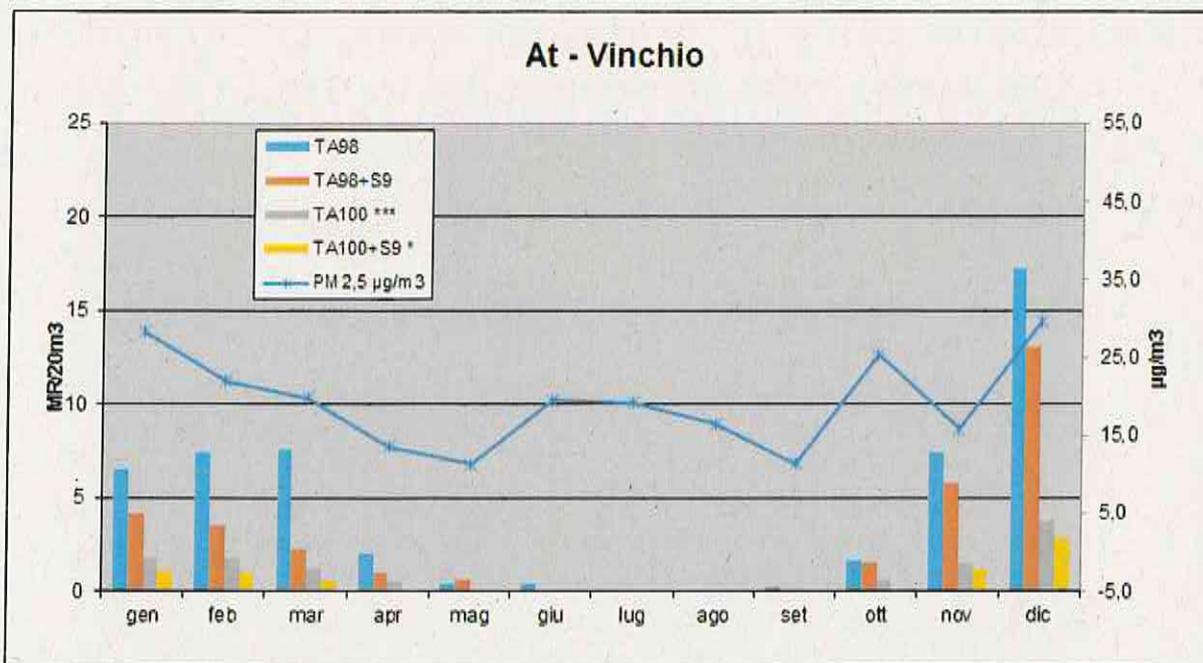


Figura 5: stazione Vinchio 2018. I valori di mutagenicità rilevati nella stazione rurale Asti Vinchio sono comparabili a quelli ottenuti nei siti urbani, il mese di Dicembre in particolare evidenzia alti valori, suggerendo un contributo alla mutagenicità totale da parte di inquinanti provenienti dalla combustione di biomasse. Le correlazioni con il quantitativo di polveri sono significative limitatamente al ceppo TA100.
 *** = correlazioni polveri / mutagenicità .Rho Spearman $p < 0.001$
 * = correlazioni polveri / mutagenicità .Rho Spearman $p < 0.05$

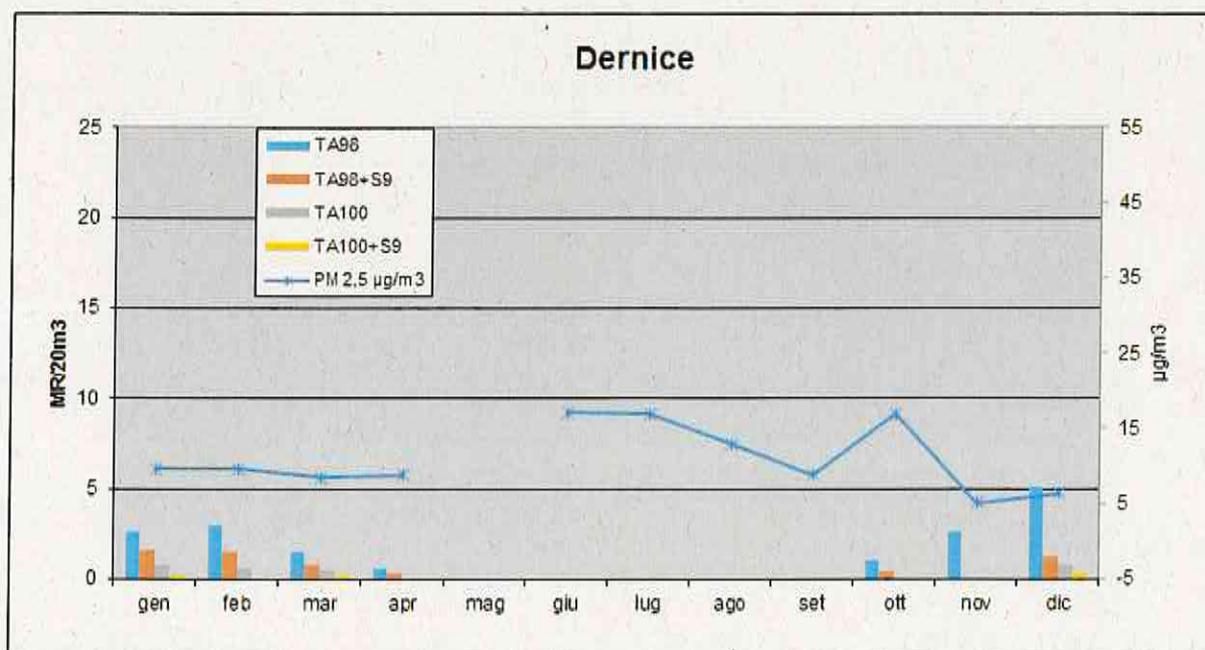


Figura 6: stazione Alessandria-Dernice 2018. I valori sono significativamente più bassi rispetto alle stazioni precedenti, non si evidenziano particolari criticità. Non vi è correlazione tra quantitativo di polveri e mutagenicità.

L'andamento stagionale degli IPA nel PM10, analizzati di routine dal laboratorio di Grugliasco, rispecchia quello evidenziato dalle analisi di mutagenesi. Le correlazioni sono per lo più significative nella totalità dei siti presi in considerazione (fig 7, 8, 9,10,11). La correlazione prende in considerazione la sommatoria di benzo(a)antracene, benzo(a)pirene, benzo(b+j+k)fluorantene e indeno(1,2,3-cd)pirene.

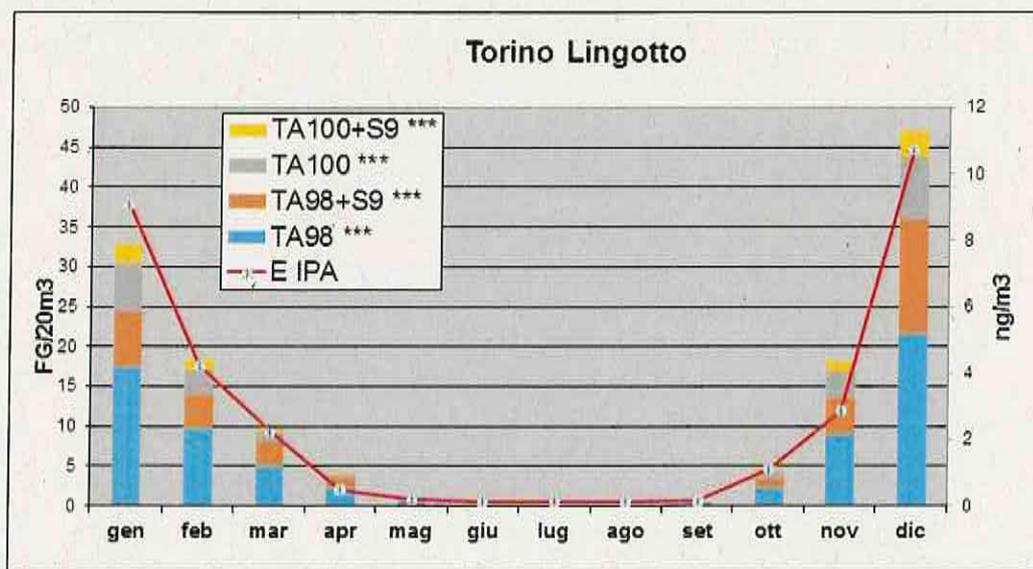


Figura 7: stazione Torino Lingotto. Correlazioni IPA / mutagenesi ***=p<0.001

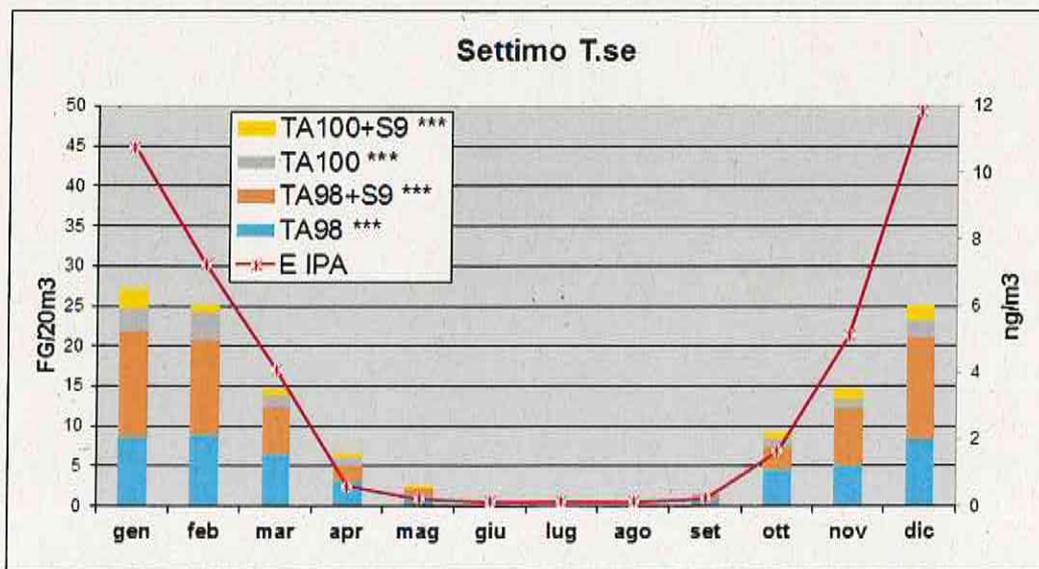


Figura 8: stazione Settimo T.se . Correlazioni IPA/mutagenesi ***=p<0.001

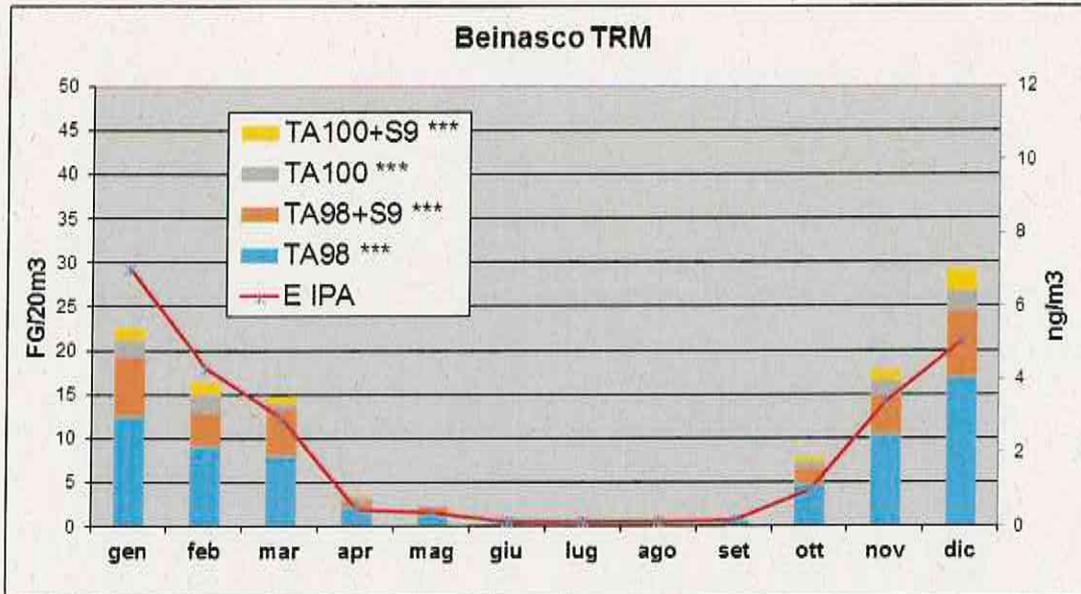


Figura 9: stazione Beinasco TRM . Correlazioni IPA/mutagenesi ***= $p < 0.001$

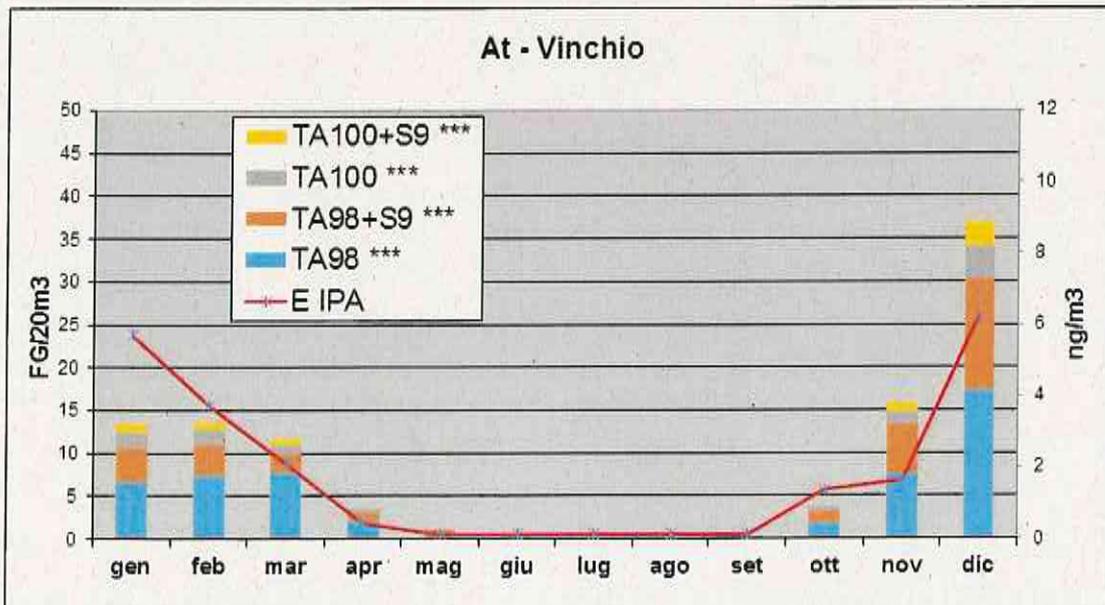


Figura 10: stazione Asti Vinchio. Correlazioni IPA/mutagenesi ***= $p < 0.001$

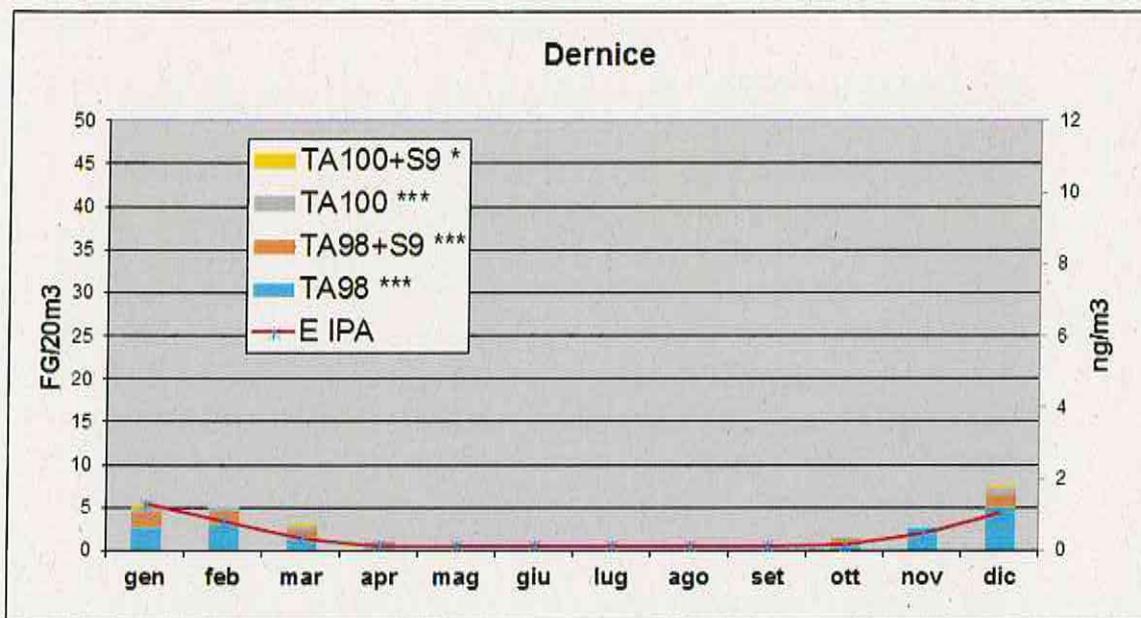


Figura 10: stazione Dernice. Correlazioni IPA/mutagenesi ***= $p < 0.001$

Mutagenicità complessiva

Allo scopo di valutare la mutagenicità complessiva i valori di MR ottenuti con ogni ceppo sono stati aggregati per ottenere il Fattore di Genotossicità -FG- (tabella 1).

Sulla base di risultanze analitiche osservate in letteratura sono stati stabiliti dei valori limite che contraddistinguono 5 classi di qualità.

classe	negativo → fortemente Positivo				
	1	2	3	4	5
range FG	0-0,99	1-3,99	4-11,99	12-39,99	>=40

20m3/piastra	GEN	FEB	MAR	APR	MAG	GIU	LUG	AGO	SET	OTT	NOV	DIC
AL - Dernice	5,2	5,1	3,0	0,9	0	0	0	0	0	1,5	2,7	7,4
TO - Lingotto	32,8	18,25	9,9	4	1,1	0,2	0	0	0,37	4,8	18,2	47,0
Settimo T.se	27,1	25,1	14,7	6,6	2,5	0	0	0	1,43	9,2	14,7	25
Beinasco - TRM	22,6	16,4	14,8	3,6	2,1	0,7	0,0	0,0	0,6	7,8	17,7	29,2
AT - Vinchio	13,4	13,7	11,6	3,5	0,9	0,5	0,0	0,0	0,3	3,7	15,8	36,9

Tabella 1. Fattore di genotossicità 20m³/piastra (sommatoria dei rapporti di mutagenicità ottenuti con ogni ceppo).

Il grafico seguente (figura 11), costruito con i dati mostrati in tabella 1, mostra l'andamento annuale della mutagenicità complessiva, consentendo un confronto tra i siti in esame.

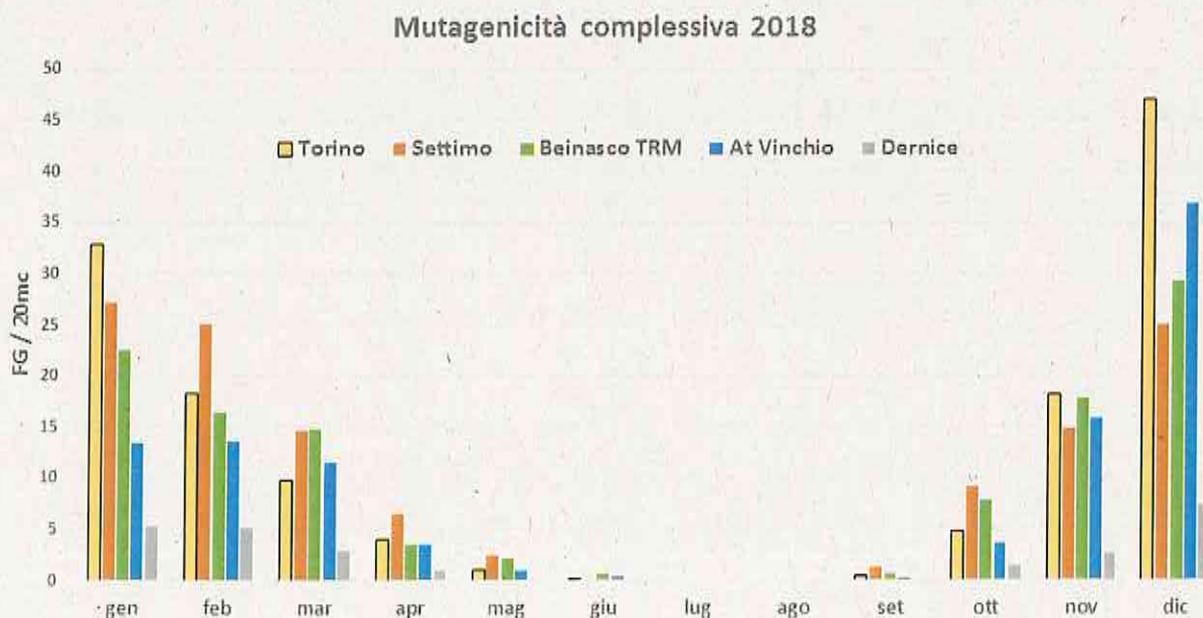


Figura 11: mutagenicità complessiva 2018. Nella stazione Torino - Lingotto si evidenziano complessivamente valori di mutagenicità più elevati, in particolare nel mese di dicembre. Nello stesso mese si segnalano valori elevati nella stazione rurale Asti - Vinchio. Tuttavia le differenze non risultano significative rispetto le stazioni Beinasco TRM e Asti Vinchio. La stazione di Dernice non presenta particolari criticità durante tutto il periodo di indagine.

Il seguente box-plot (figura 12) considera solo i dati autunno-inverno, cioè comprende le risultanze analitiche totali di gennaio, febbraio, novembre e dicembre.

Le stazioni Torino-Lingotto, Settimo Torinese, Beinasco TRM e Asti Vinchio non mostrano differenze significative, seppur riscontrando nella prima stazione, valori medi più elevati.

La stazione di Dernice (fondo rurale) presenta valori medi significativamente più bassi delle due stazioni precedenti.

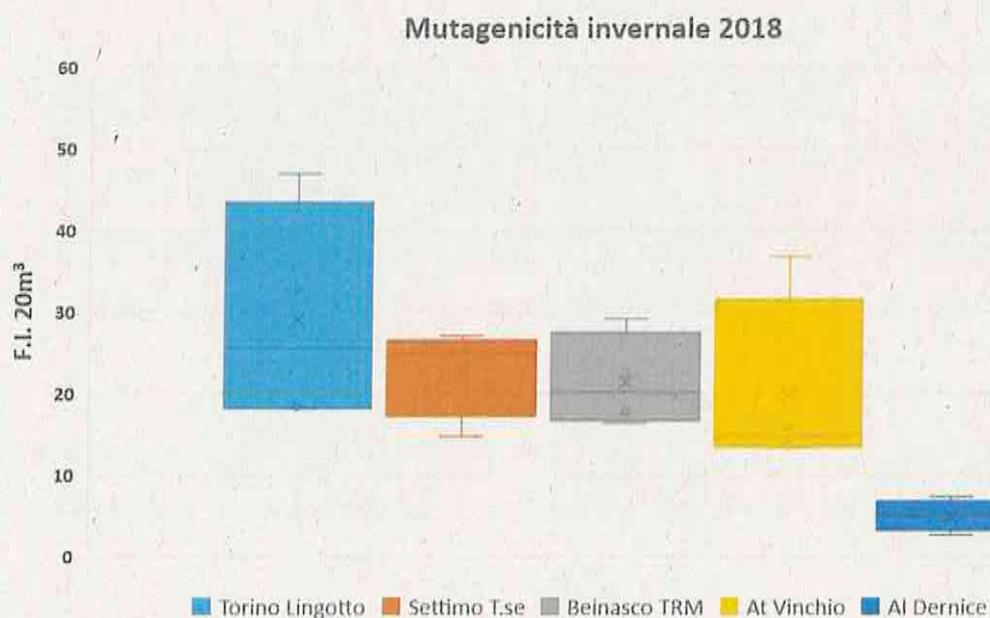


Figura 12: Box-plot mutagenicità complessiva mesi invernali 2018. I valori ottenuti nella stazione di Dernice risultano significativamente inferiori rispetto alle altre stazioni considerate.

Confronto con i dati storici

Le analisi di mutagenesi sul PM_{2,5} sono state eseguite routinariamente a partire dall'anno 2016 sulle stazioni Torino - Lingotto e Settimo Torinese. A fronte di una diminuzione generalizzata nella concentrazione di polveri sottili rilevata nell'anno 2018, i dati ottenuti con i test di mutagenesi non mostrano un chiaro trend che indichi valori di mutagenicità ridotti. In particolare le due stazioni prese in esame mostrano un trend opposto: in diminuzione quella di traffico di Settimo Torinese (fig. 13a), in aumento quella di fondo urbano Torino – Lingotto (fig. 13b).

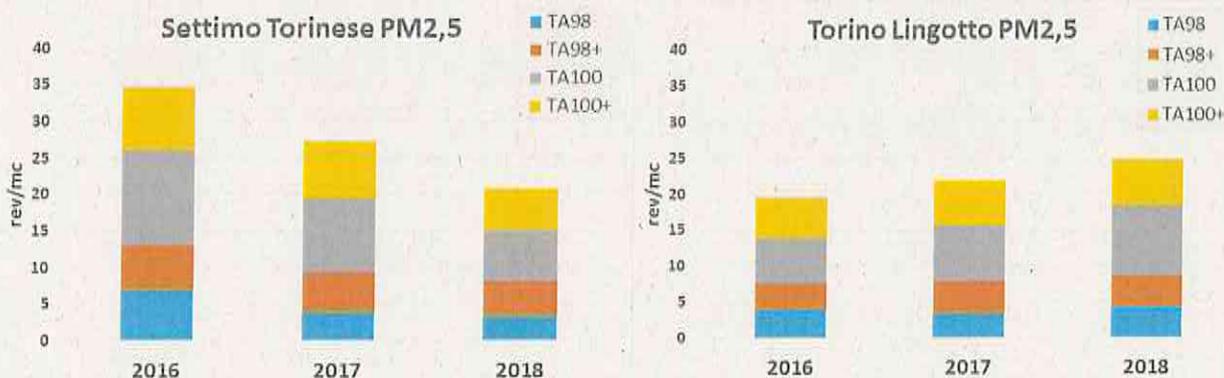


Figure 13a, 13b: confronto dati storici. Trend in diminuzione per la stazione Settimo T.se, in aumento per Torino Lingotto (media annuale revertenti/m³).

Indice sintetico della mutagenicità del PM_{2,5}

I dati ottenuti nel corso del seguente studio sono stati elaborati al fine di ottenere un indice di qualità ambientale (IQA) riferito alla mutagenicità complessiva rilevata in ogni mese nelle singole stazioni.

Tale indice si presta alla trasmissione di un dato scientifico, altrimenti complicato, a un pubblico talvolta non in grado di interpretarlo correttamente. Esso consente, infatti, di ottenere informazioni rapide e facilmente comprensibili attraverso la lettura di un valore con range da 0 (qualità pessima) a 1 (qualità ottima) e l'osservazione di una scala colore corrispondente.

La tabella 2a mostra l'IQA ottenuto mensilmente durante l'anno 2018.

20m3/piastra	GEN	FEB	MAR	APR	MAG	GIU	LUG	AGO	SET	OTT	NOV	DIC
AL - Dernice	0,55	0,55	0,64	0,84	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,76	0,66	0,49
TO - Lingotto	0,23	0,33	0,44	0,59	0,81	1,00	1,00	1,00	1,00	0,56	0,33	0,17
Settimo T.se	0,27	0,28	0,37	0,51	0,67	1,00	1,00	1,00	0,77	0,45	0,37	0,28
Beinasco - TRM	0,30	0,35	0,37	0,61	0,70	0,90	1,00	1,00	0,90	0,48	0,34	0,25
AT - Vinchio	0,38	0,38	0,41	0,62	0,84	0,94	1,00	1,00	1,00	0,60	0,36	0,21

Tabella 2a. IQA anno 2018.

IQA	ottimo pessimo				
	1-0,8	0,8-0,6	0,6-0,4	0,4-0,2	0,2-0

Tabella 2b. Legenda IQA

La costruzione di carte tematiche regionali, rappresenta una integrazione efficace alla tabella precedente (figure da 14a a 14n).

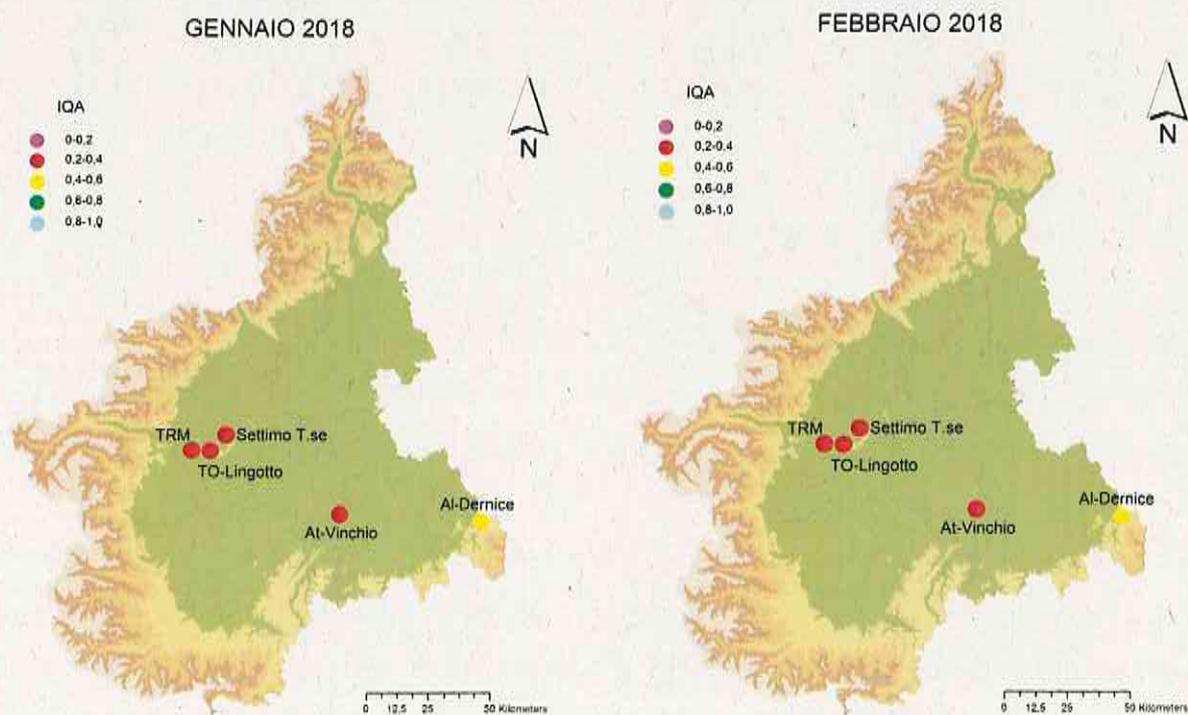


Figure 14a, 14b: Carta tematica regionale. Mesi di Gennaio e Febbraio.

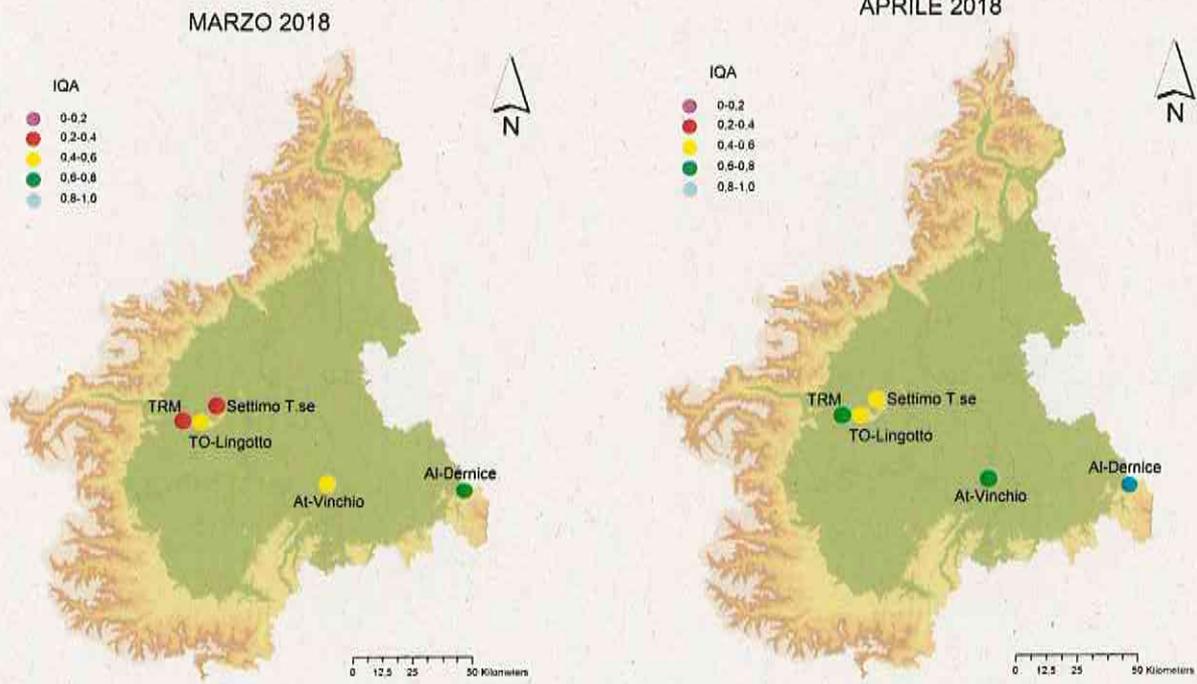


Figure 14c, 14d: Carta tematica regionale. Mesi di Marzo e Aprile.

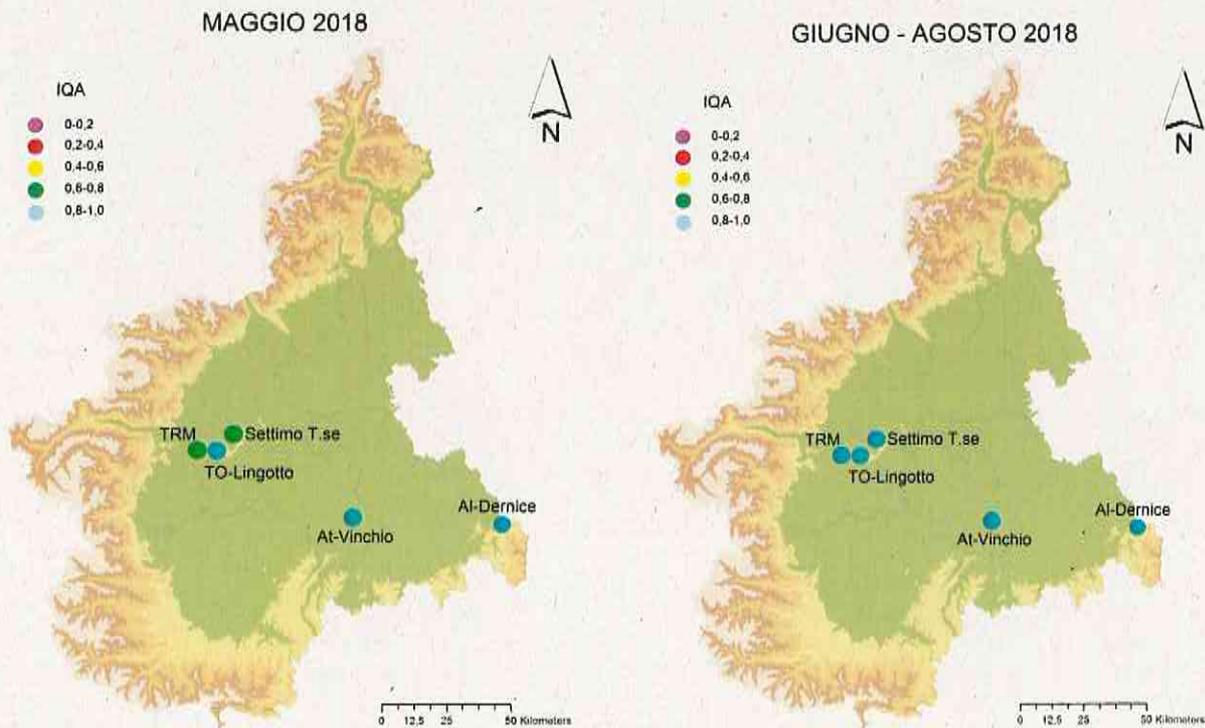


Figure 14e, 14f: Carta tematica regionale. Maggio - Agosto.

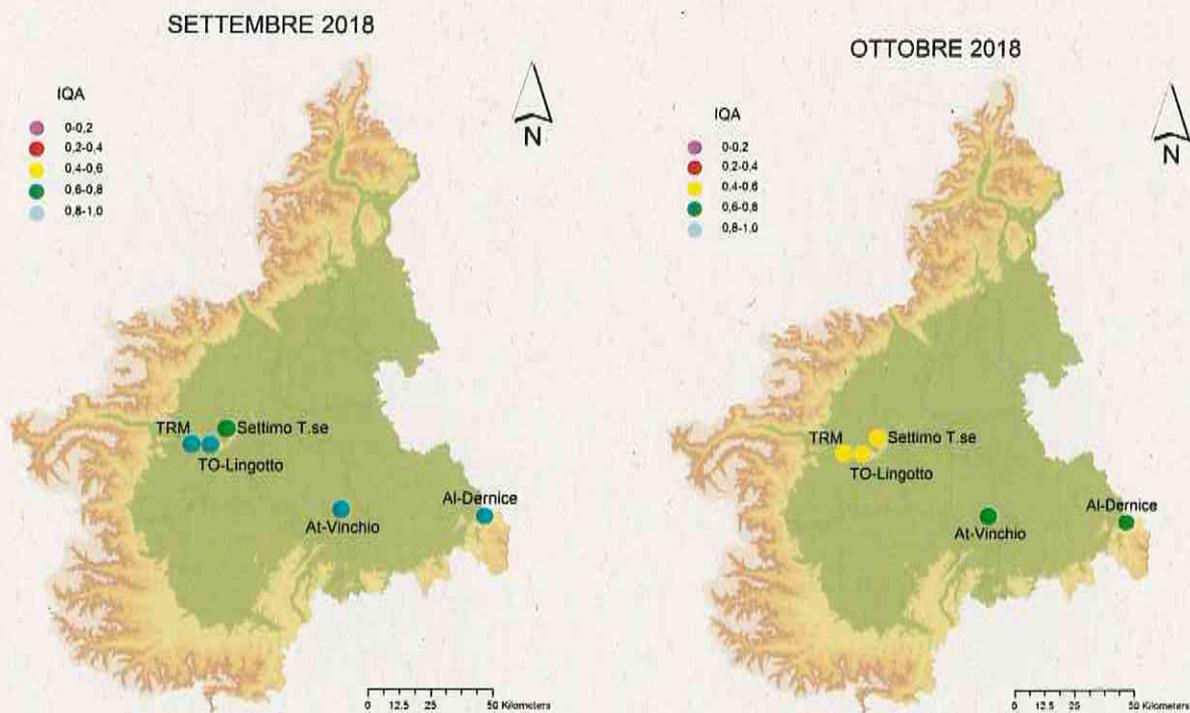


Figure 14g, 14h: Carta tematica regionale. Mesi di Settembre e Ottobre

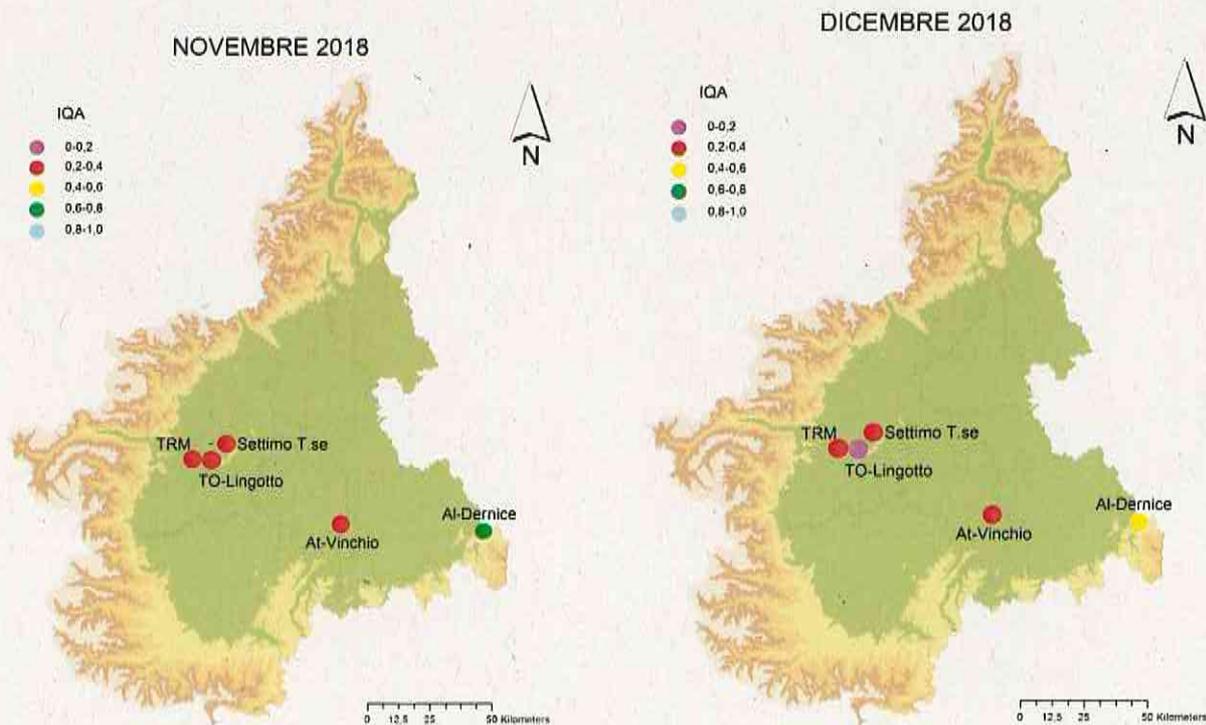


Figure 14i, 14l: Carta tematica regionale. Mesi di Novembre e Dicembre.

Conclusioni

La maggior parte dei campioni analizzati nel corso del 2018 ha fornito risultati positivi.

I dati di mutagenesi mostrano lo stesso andamento stagionale evidenziato negli anni precedenti, con valori particolarmente elevati nel periodo invernale. Le condizioni di stabilità atmosferica che occorrono durante il periodo invernale, con il conseguente scarso ricambio dei composti inquinanti, favoriscono l'assorbimento degli stessi sulle polveri; nello stesso periodo le emissioni dovute al riscaldamento domestico tendono ad incrementare la concentrazione di sostanze genotossiche nell'ambiente.

La frazione del particolato con diametro aerodinamico inferiore a $2,5 \mu\text{m}$ è la più significativa ai fini della stima del danno per la salute, non solo in considerazione del potere di penetrazione e della persistenza biologica, ma anche in conseguenza delle specie chimiche presenti. Sono, infatti, numerosi i composti chimici presenti nel $\text{PM}_{2,5}$ che possiedono una riconosciuta capacità genotossica. L'articolata risposta ottenuta con tutti i ceppi, con e senza attivazione metabolica, conferma la complessità della matrice analizzata. In particolare il ceppo TA98 ha risposto maggiormente evidenziando la presenza di composti mutageni che agiscono sul DNA con un meccanismo di azione diretto, per inserzione o delezione di basi azotate (ad esempio i nitro-IPA).

Il $\text{PM}_{2,5}$ proveniente dalla stazione di fondo urbano Torino Lingotto ha fornito i risultati di mutagenicità più elevati, in particolare nel mese di dicembre. I valori riscontrati risultano superiori anche alla stazione di traffico di Settimo Torinese.

I valori ottenuti nel periodo invernale nella stazione rurale di Asti Vinchio non si discostano significativamente dalle due stazioni precedenti. Tale evidenza suggerisce un importante contributo derivante dalla combustione di biomasse per il riscaldamento domestico alla mutagenicità totale.

La mutagenicità del PM rilevata nella stazione Beinasco TRM si attesta sui valori riscontrati nelle stazioni precedentemente descritte. Viceversa nella stazione di fondo rurale Dernice, si osservano bassi livelli di mutagenicità, significativamente differenti dalle quattro stazioni precedenti.

Le comparazioni con i dati di genotossicità ottenuti in passato, non evidenziano significativi miglioramenti della qualità dell'aria, in particolare negli ultimi tre anni si riscontra una diminuzione della mutagenicità complessiva nella stazione di traffico Settimo Torinese e un aumento per quanto riguarda la stazione Torino Lingotto.

Si evidenziano buone correlazioni tra la mutagenicità complessiva e il valore medio mensile di IPA nelle stazioni cittadine, mentre la mutagenicità correla in modo meno soddisfacente con il valore ponderale delle polveri. Il solo dato ponderale e i valori dei quattro IPA determinati di routine non sono tuttavia totalmente esplicativi della reale mutagenicità del PM. La risposta ottenuta con i ceppi TA98NR e YG1021 nella campagna 2017, giustifica infatti la maggiore risposta del ceppo TA98 senza attivazione metabolica e pone l'accento sul contributo dei nitro composti alla mutagenicità complessiva del particolato atmosferico. I nitro-IPA sono infatti composti mutageni diretti, non necessitano cioè di attivazione metabolica per esplicare la loro azione genotossica.

Le regioni del Nord Italia (in particolare la Pianura Padana) rappresentano una criticità europea relativamente all'inquinamento da polveri sottili. La particolare conformazione geografica e le condizioni meteo climatiche invernali non permettono un'adeguata dispersione degli inquinanti che costituiscono un problema per la salute che interessa non solo i grossi centri urbani, ma tutta la pianura, compresi i centri suburbani e le aree rurali.

In questo territorio il contenimento dei livelli emissivi deve essere ricercato con determinazione, in relazione al costante riscontro di sostanze mutagene nel PM_{2,5} e vista la correlazione esistente tra evento mutagenetico e cancerogenetico per le sostanze genotossiche.

Le analisi degli interferenti endocrini, in corso presso il Dipartimento di Scienze della prevenzione Pubblica e Pediatriche dell'Università di Torino, eseguite sugli estratti organici del PM_{2,5}, potranno portare nuovi elementi per caratterizzare il particolato atmosferico e intraprendere conseguentemente azioni atte a migliorare la qualità complessiva dell'aria.