

APPROCCIO DI VALUTAZIONE DEL RISCHIO PER SOSTANZE EMERGENTI E MISCELE IN ACQUE DESTINATE AL CONSUMO UMANO

Emanuela Testai

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I contaminanti dei corpi idrici sono considerati emergenti se i) ‘nuovi’, ii) pur noti da tempo, vengono identificati come contaminanti a causa del miglioramento delle tecniche analitiche, ma non sono monitorati routinariamente, o iii) esiste una preoccupazione crescente relativamente agli effetti sulla salute (*Contaminants of Emerging Concern*, CEC). In genere, la preoccupazione nasce dal fatto che il loro impatto sulla salute umana e ambientale non è del tutto caratterizzato, specialmente a seguito di esposizione cronica a basse dosi, per cui non sono disponibili valori di riferimento inseriti nelle varie legislazioni come valori limite protettivi per la salute.

Nel 2000, fu identificata una lista iniziale di 33 sostanze prioritarie nella *Water Framework Directive* (WFD) dell’Unione Europea (Direttiva 2000/60/CE); successivamente la Direttiva 2013/39/UE, che modificava le direttive 2000/60/CE e 2008/105/CE prevedeva 45 sostanze prioritarie con i relativi Standard di Qualità Ambientale (*Environmental Quality Standards*, EQS) e più tardi è stata adottata una lista di sostanze ‘sotto osservazione’ chiamata *Watch List* (Decisione di esecuzione 2015/495/UE del 20 marzo 2015), da tenere aggiornata.

I CEC appartengono a varie classi chimiche e sono utilizzati in molti settori diversi:

- Farmaci (es. antibiotici, ormoni, antinfiammatori non steroidei come ibuprofene e naprossene),
- Droghe d’abuso (es. cocaina),
- Prodotti cosmetici e per l’igiene personale (es. triclosan, filtri UV, ecc.),
- Prodotti industriali (es. sostanze perfluoroalchiliche - PFAS),
- Pesticidi (es. neonicotinoidi),
- Tossine naturali (es. cianotossine),

solo per fare alcuni esempi che sono stati identificati in campioni ambientali, inclusa l’acqua potabile (Gogoi *et al.*, 2018).

Una caratteristica chimica che li accomuna è l’idrofilicità da cui dipende una elevata mobilità nell’ambiente attraverso l’acqua: possono quindi essere trasportati anche per lunghe distanze, e sono difficilmente trattenuti dal suolo. Quest’ultima caratteristica fa sì che i sistemi tradizionali di trattamento per le acque potabili, che non sono stati ideati per ‘bloccare’ sostanze con queste caratteristiche, siano poco efficienti. Poiché per i CEC generalmente non esistono limiti di legge applicabili anche all’acqua potabile, è necessario condurre una valutazione di rischio per derivare quelli che sono noti come HBGV (*Health Based Guidance Values*), vale a dire i valori guida basati su effetti sulla salute, applicando i quali la popolazione è protetta. Per alcuni CEC esistono dati sufficienti sul profilo tossicologico ed è possibile quindi derivare gli HBGV applicando la classica procedura di valutazione del rischio oramai molto consolidata, ampiamente utilizzata, oltre che dallo specifico *Working Group* dell’Organizzazione Mondiale della Sanità (*World Health Organization*, WHO) che si occupa della preparazione dei *Background Documents* delle varie sostanze chimiche, anche dalle istituzioni dell’Unione Europea, dalla *Environmental Protection Agency* (EPA) e dalla *Food and Drug Administration* (FDA) degli Stati Uniti.

La procedura di valutazione del rischio prevede sostanzialmente 4 fasi:

1. *Identificazione del ‘pericolo’ associato ad una sostanza chimica*, vale a dire la sua capacità intrinseca di produrre un danno alla salute;

2. *Definizione della relazione quantitativa dose-risposta*, cioè la possibilità di definire l'entità del danno ad una certa dose. Questa relazione rappresenta il paradigma della tossicologia moderna: la risposta di un organismo a una sostanza chimica aumenta/diminuisce proporzionalmente alla dose di esposizione generalmente senza cambiare direzione (curva monotonica), tranne alcune eccezioni (es. per gli elementi in traccia come il rame, per cui la deprivazione causa danni diversi e ancor più gravi di quelli dovuti all'eccesso). Attraverso la curva dose-risposta si possono identificare i valori di riferimento (da usare come punti di partenza o *Point of Departure, PoD*) nella successiva fase di caratterizzazione del rischio. Tra questi la soglia al di sotto della quale non si osservano effetti, nota come *No Observed (Adverse) Effect Level (NO(A)EL)*, o il livello più basso a cui si osservano effetti (LOAEL) o la *BenchMark Dose (BMD)*, o meglio il limite inferiore del suo intervallo di confidenza (BMDL, dove L sta per *lower*, ad indicare il limite inferiore), che si definisce come la dose associata ad un effetto in una determinata percentuale di animali (es. 1, 5 o 10%) o a un effetto pari ad una% dell'effetto massimo (es. 0.1, 1, 5, 10%, in dipendenza della gravità dell'effetto stesso). Nella quasi totalità dei casi queste informazioni provengono da studi di tossicità ripetuta condotti su animali di laboratorio, ma se fossero disponibili studi epidemiologici di buona qualità dai quali ricavare queste informazioni, è ovviamente preferibile utilizzare questi ultimi.
3. *Caratterizzazione dell'esposizione* definita esterna, nel caso in cui si disponga di dati relativi alla concentrazione nell'acqua potabile, nei vari comparti ambientali (aria, acqua suolo), nella dieta e in prodotti di consumo anche in relazione alla entità, durata e frequenza dell'esposizione, per definire gli scenari più adeguati. È importante considerare che si può essere esposti alla stessa sostanza attraverso più vie di esposizione contemporaneamente (esposizione aggregata). Un esempio è fornito da sostanze volatili alle quali attraverso l'acqua destinata al consumo umano si è potenzialmente esposti per via orale, ma anche per via inalatoria e cutanea durante la doccia. La conoscenza del comportamento cinetico di una sostanza e l'uso di modelli PBPK (*Physiologically Based Pharmacokinetic models*) o la disponibilità di dati di biomonitoraggio può permettere di utilizzare la dose interna di esposizione, che rappresenta il dato quantitativamente più rilevante.
4. *Caratterizzazione del rischio*, fase nella quale si stima la probabilità di avere un effetto - e a che livello- nella popolazione esposta.

Dai PoD ricavati dalla relazione dose-risposta (NOAEL, LOAEL, BMDL) si possono derivare valori come l'ADI o la TDI (*Acceptable/Tolerable Daily Intake*), che rappresentano la dose totale che può essere assunta dall'uomo per l'intero arco della vita senza che ciò comporti un rischio apprezzabile per la salute. Al valore del PoD si applica un fattore di correzione conservativo, indicato come UF (*Uncertainty factor, o fattore di incertezza*), o come SF (*Safety Factor o fattore di incertezza*) o come AF (*Assessment factor, fattore di valutazione*) che tiene conto di:

- *Variabilità interspecifica* (nell'estrapolare i dati dagli animali di laboratorio all'uomo, quest'ultimo viene considerato la specie più sensibile).
- *Variabilità intraspecifica*: la popolazione umana mostra un elevato grado di variabilità, dovuta a fattori fisiologici (genere, età, gravidanza), alla presenza di stati patologici (disfunzioni epatiche o renali che influenzano l'eliminazione), a fattori genetici (polimorfismi enzimatici) o acquisiti (variazioni nell'espressione genica per induzione dovuta ad esposizione ad altre sostanze).
- *Qualità dei dati e loro rilevanza* (specie animale utilizzata, lunghezza e qualità dello studio) e completezza del data base.
- *Severità degli effetti* indotti e altri fattori.

I valori di ADI o TDI sono generalmente ‘conservativi’ e sono stati definiti per proteggere la popolazione sul lungo periodo (esposizione cronica), tenendo conto anche dei gruppi di popolazione più vulnerabili. Un loro superamento temporaneo, soprattutto se molto circoscritto nel tempo, non comporta necessariamente una situazione di rischio significativo per la popolazione. In tali casi è necessario il giudizio di un esperto tossicologo e, ove possibile, la derivazione di valori di riferimento per esposizioni di breve durata.

Una volta identificata la TDI (o altri valori, se e quando rilevanti) è possibile definire gli HBGV per la qualità dell’acqua potabile: la WHO fa riferimento ad una persona adulta del peso di 60 kg che consumi 2 L di acqua al giorno secondo la formula:

$$GV = \frac{\text{TDI} \times \text{peso corporeo} \times \text{fattore di allocazione}}{\text{Consumo giornaliero di acqua (L)}}$$

dove il fattore di allocazione (*allocation factor*) rappresenta la frazione o % della TDI attribuibile all’acqua potabile (ovviamente applicabile anche alle altre fonti di esposizione). La percentuale varia a seconda della sostanza e degli scenari di esposizione.

La metodologia descritta si applica a sostanze tossiche non genotossiche e non cancerogene, o con meccanismo noto di cancerogenicità non genotossico per le quali esiste una soglia, al di sotto della quale verosimilmente non si osservano effetti sanitari avversi. Per sostanze cancerogene con meccanismo genotossico, poiché si considera che non ci sia una soglia, non è possibile derivare una TDI. L’Unione Europea usa l’approccio del Margine di Esposizione (*MoE, Margin of Exposure*), che esprime la distanza tra il livello di esposizione d’interesse e quello associato ad un effetto minimo ma rilevabile. La dose di riferimento è una *Benchmark Dose*, stimata con tecniche di *best fitting* dei risultati sperimentali sull’animale o, più raramente, su dati epidemiologici. Nel caso dei cancerogeni genotossici viene utilizzata la $BMDL_{10}$ ovvero il limite inferiore dell’intervallo di confidenza della BMD associata ad un incremento di tumori del 10%.

$$MoE = BMDL_{10} / \text{Esposizione}$$

Un MoE di almeno 10.000 rispetto alla $BMDL_{10}$ rappresenta una situazione di bassa preoccupazione (“*low concern*”) o di rischio tollerabile.

Per definire i valori di linea guida è necessario disporre di informazioni per quanto possibile esaurienti sul profilo tossicologico dell’agente considerato: la valutazione del rischio è spesso resa difficile dalla carenza di questo tipo di informazioni e quindi spesso è fondamentale analizzare le situazioni caso per caso, identificando i *data gap* e utilizzando metodologie alternative (es. di tipo computazionale) per la derivazione di valori di riferimento, applicando quello che tecnicamente viene definito *expert judgement*.

Quando le informazioni tossicologiche sono scarse, o è presente un numero molto elevato di sostanze nell’acqua destinata al consumo umano, è possibile utilizzare la metodologia nota come soglia di allarme tossicologico o TTC per:

- dare priorità ad alcune sostanze per la loro valutazione;
- trattare pragmaticamente quelle sostanze per le quali gli effetti sulla salute non siano noti.

L’approccio della TTC è già applicato in vari contesti scientifici e regolatori internazionali come la *European Food Safety Authority* (EFSA) (EFSA, 2019a), Organizzazione delle Nazioni Unite per l’alimentazione e l’agricoltura (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*, FAO), WHO, Health Canada ed è basato su evidenze scientifiche a scopo di screening e per dare priorità alla valutazione di sicurezza di sostanze chimiche. L’approccio della TTC è parte dei cosiddetti *non testing methods*, metodologie utilizzabili senza la necessità di test di tipo tossicologico insieme all’approccio del *read across* e del *grouping* e altri metodi *in silico* (es. modelli struttura attività). Il *read across* si applica quando siano disponibili informazioni su una sostanza chimica strutturalmente simile (*source chemical*, A) a quella da valutare (*test chemical*, B) per la quale si hanno pochi dati: se è possibile

supportare la similitudine strutturale di A e B con analisi *in silico* (es. SAR *Structure activity relationship*) o attraverso *bridging studies* (*in vitro* & *in vivo*), è possibile usare i dati relativi ad A per valutare B. Se possono essere usate come *source chemical* più sostanze come ‘gruppo’ l’extrapolazione è migliore. Le regole per applicare raggruppamenti e condurre il *read across* sono state descritte da varie agenzie – *Organization for Economic Co-operation and Development*, OECD (OECD, 2014) e *European Chemicals Agency*, ECHA (ECHA, 2008).

Tra i contaminanti emergenti negli ambienti acquatici un ruolo importante è rivestito da alcune tossine naturali prodotte da alghe tossiche e cianobatteri sia in acque marino-costiere sia dolci. I cianobatteri sono organismi procarioti autotrofi, diffusi nella maggior parte dei corpi d’acqua in quasi tutti gli habitat. La loro presenza è considerata un problema sanitario emergente perché possono crescere a densità anche molto elevate, formando fioriture e schiume e produrre tossine come metaboliti secondari, note come cianotossine. La crescente diffusione dei cianobatteri, dovuta principalmente all’eutrofizzazione e ai cambiamenti climatici globali, fa prevedere un aumento dell’esposizione alle cianotossine sia per gli animali sia per l’uomo. Il numero delle tossine conosciute finora è probabilmente una percentuale limitata delle tossine effettivamente prodotte e il loro profilo tossicologico spesso non è noto. Le informazioni più cospicue sono disponibili per la microcistina-LR, uno dei più di 200 congeneri conosciuti delle microcistine (MC), la cui struttura è mostrata in Figura 1.

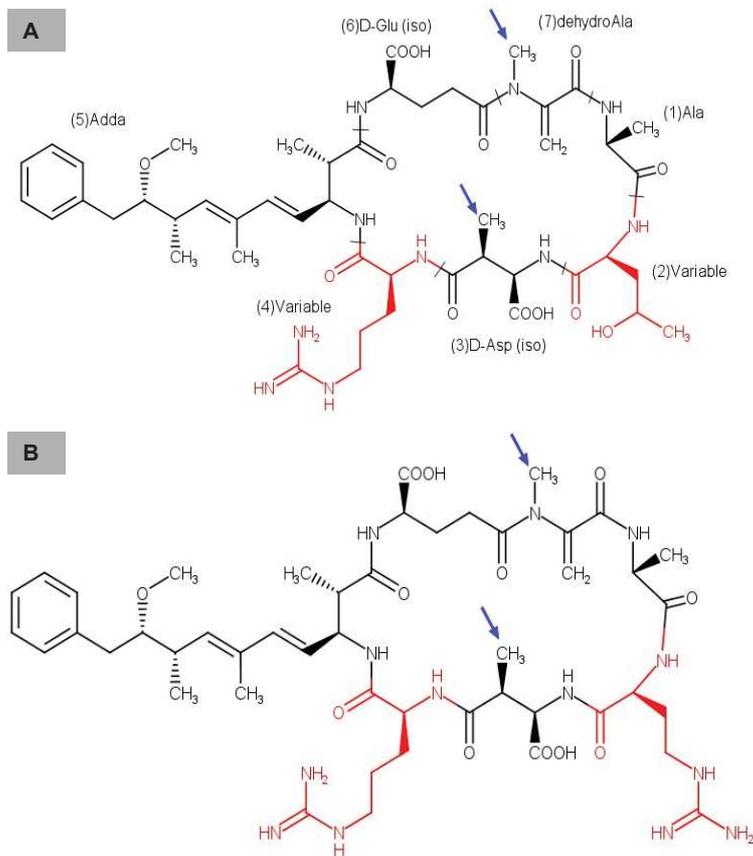


Figura 1. Struttura della MC-LR (A) e MC-RR (B): le due varianti differiscono per la presenza di un aminoacido in posizione 2. Aminoacidi diversi in queste due posizioni o altre modifiche (es. demetilazioni in corrispondenza delle frecce) sono responsabili delle molte varianti di MC

Anche per la MC-LR ci sono ancora molte incertezze nel data base e soprattutto, pur essendo chiaro che la tossicità è congenere-specifica, le informazioni sulle varianti sono molto scarse o assenti (Buratti *et al.*, 2017; Testai *et al.*, 2016). Tuttavia, è possibile utilizzare come approccio pragmatico al problema quello utilizzato dalla WHO nella definizione delle linee guida per l'acqua potabile (WHO, 2004), attualmente in revisione, facendo riferimento alla TDI di 0.04 µg/kg pc/giorno definita per la microcistina-LR, ottenuta dividendo il valore di NOAEL subcronico considerato rilevante, per un fattore di incertezza pari a 1000, che tenga conto delle variabilità inter- e intraspecifiche e della carenza di dati di tossicità cronica. Si può pertanto assumere che un'assunzione fino a 2,4 µg di MC-LR/persona/giorno per l'intero arco della vita di un adulto non comporti un rischio sanitario apprezzabile. Ovviamente questo valore deve essere confrontato con l'assunzione totale da tutte le possibili fonti. Il valore ottenuto per la MC-LR viene utilizzato anche per le altre varianti, espresse come MC-LR equivalenti, considerando che la MC-LR, relativamente alla tossicità acuta, ha il maggior potenziale di epatotossicità tra i vari congeneri. E anche questo aumenta il livello di incertezza della valutazione, perché il profilo tossicologico delle altre varianti dopo somministrazione ripetuta non è noto.

Le tossine prodotte dai cianobatteri sono presenti contemporaneamente nell'ambiente acquatico, insieme ad altri contaminanti: questo ripropone quindi il problema della valutazione degli effetti combinati di sostanze chimiche alle quali la popolazione sia simultaneamente esposta. La letteratura di questi ultimi anni fornisce diverse rassegne sul problema, ma al momento la più recente ed esaustiva è sicuramente il *Guidance Document* adottato dall'EFSA (EFSA, 2019b), che propone un approccio armonizzato per valutare gli effetti combinati di miscele e fornisce le metodologie appropriate.

Per affrontare il problema esistono due opzioni possibili:

1. approccio della miscela tal quale (nel quale la miscela è considerata come una sostanza chimica singola).
2. approccio dei singoli componenti.

Poiché è non praticabile testare ogni singola miscela separatamente, il primo approccio è utilizzabile solo per miscele complesse e stabili; non è questo il caso delle miscele ambientali, la cui composizione può variare nel tempo qualitativamente e quantitativamente ad esempio per degradazione fotochimica o batterica o idrolisi chimica. Per questo motivo gli effetti di una miscela sono molto più frequentemente stimati partendo dalla conoscenza della tossicità dei singoli componenti e soprattutto del loro meccanismo di azione.

Date due sostanze A e B componenti di una miscela ognuna con i propri effetti, come mostrato nella Figura 2, è possibile che gli effetti combinati si esprimano:

1. attraverso l'additività della dose, nel caso in cui abbiano lo stesso bersaglio e/o lo stesso meccanismo di azione. In questo caso si assume che le sostanze A e B si comportino come semplici diluizioni l'una dell'altra. Possibili interazioni sono considerate assenti o trascurabili;
2. in maniera totalmente indipendente, se hanno bersagli e meccanismi di azione differenti, mantenendo ciascuno il proprio effetto singolo;
3. attraverso un sinergismo, per cui l'effetto della miscela è maggiore di quello dovuto alla additività degli effetti dei singoli;
4. attraverso un'azione antagonista, per cui l'effetto della miscela è minore di quello dovuto alla additività degli effetti dei singoli.

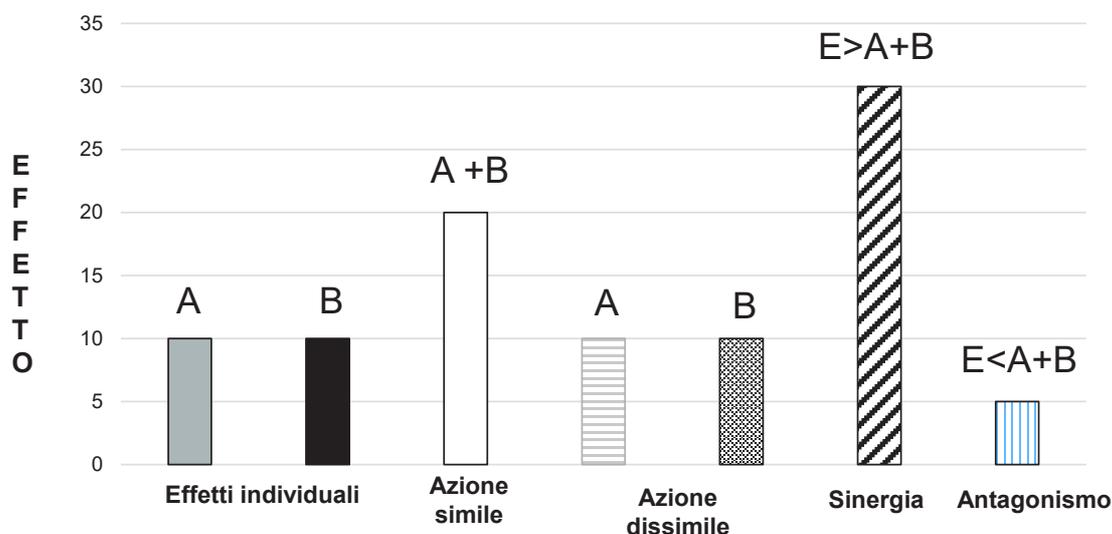


Figura 2. Rappresentazione schematica dei possibili effetti combinati di due sostanze in miscela

L'additività di dose è considerata come la scelta di *default* (conservativa), perché alle concentrazioni ambientali è molto improbabile che si verifichino fenomeni responsabili di azioni sinergiche o antagoniste. In questo ambito molto importante sta diventando l'attività di identificazione dei gruppi di sostanze (*grouping*), alla quale molte istituzioni (EFSA, OECD ed ECHA) stanno dedicando documenti specifici. Le metodologie utilizzabili quando si dispone di informazioni sul meccanismo di azione sono:

- TEF (*Toxic Equivalent Factor*), utilizzato per miscele complesse di composti diossinasi-mili. L'effetto critico è il legame al recettore arilico e la 2,3,7,8,-TCDD il composto di riferimento al quale è assegnato in TEF di default di 1. Il TEF degli altri congeneri è stabilito per confronto con la potenza della TCDD.
- RPF (*Relative Potency Factor*) simile al TEF e utilizzato per valutare gli effetti cumulativi della classe dei pesticidi organofosforici.

Nei due approcci, uno dei componenti, quello con il profilo tossicologico più studiato (per avere una curva dose-risposta disponibile) e generalmente più sfavorevole, viene utilizzato come composto di riferimento (o indice) e il valore di TEF o RPF degli altri componenti è stimato per confronto con quello della sostanza di riferimento: la tossicità della miscela si ottiene sommando i prodotti ottenuti moltiplicando i TEF o RPF relativi a ciascun componente per la concentrazione del componente in miscela.

Questo significa che data l'esposizione a n sostanze (S) di cui una viene individuata come sostanza di riferimento o indice (S_{ind}) si calcola l'RFP o TEF di ciascuna sostanza S_i (dove $i=1,2,\dots,n$):

$$RPF_1 = TS_1 / TS_{ind}$$

dove TS_1 è la tossicità della sostanza 1 (S_1) e TS_{ind} è la tossicità della sostanza indice (S_{ind}).

La dose (o concentrazione) della S_1 in miscela viene pertanto aggiustata (a) secondo la formula:

$$aD_1 = D_1 \times RPF$$

in modo da avere una dose o concentrazione aggiustata della miscela (D_{mix}), calcolata sommando tutte le concentrazioni 'aggiustate' ($aD_1, aD_2, \dots aD_n$) rispetto alla sostanza presa come indice (S_{ind}). Gli effetti sulla salute della miscela vengono valutati sulla base della curva dose-risposta della sostanza indice.

In carenza di dati sul meccanismo di azione, si utilizza l'HI (*Hazard Index*): si assume che anche in questo caso gli effetti dei singoli componenti si cumulino. Data la RfD (*Reference Dose*, o dose di riferimento per l'effetto critico (calcolata sulla base del NOAEL o della BMDL) di ciascun componente, il contributo di ogni componente si ottiene dal rapporto tra la sua concentrazione e la RfD. L'HI della miscela si ottiene dalla sommatoria dei singoli contributi:

$$HI = Conc_1/RfD_1 + Conc_2/RfD_2 + \dots + Conc_n/RfD_n$$

Quando $HI > 1$ è necessario raffinare la valutazione perché non può essere escluso che ci siano interazioni.

Per capire se sono plausibili interazioni tra più sostanze chimiche potrebbe essere utile seguire un approccio di verifica di alcune condizioni rispondendo alle seguenti domande:

- Una o più delle sostanze in miscela possono significativamente aumentare l'assorbimento di altri componenti?
- Una o più delle sostanze in miscela possono significativamente inibire l'eliminazione di altri componenti?
- Una o più delle sostanze in miscela esercitano la propria tossicità attraverso la formazione di metaboliti la cui formazione è influenzata da altri componenti della miscela?
- È possibile che più componenti vengano biotrasformati dagli stessi enzimi con potenziale competizione?
- Possono uno o più componenti agire modificando meccanismi di protezione cellulare o di riparazione cellulare (inclusa la riparazione del DNA)?

Rispondere sì ad una di queste domande deve indurre il valutatore a considerare la possibilità di una interazione.

Bibliografia

- Europa. Direttiva del 12 agosto 2013, n. 2013/39/UE, che modifica le direttive 2000/60/CE e 2008/105/CE per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque. *Gazzetta ufficiale della Unione Europea* L 226, 24 agosto 2013.
- Buratti FM, Manganelli M, Vichi S, Stefanelli M, Scardala S, Testai E, Funari E. Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action, and human health toxicological risk evaluation. *Archives of Toxicology* 2017;91:1049-130.
- ECHA. *Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.6: QSARs and grouping of chemicals*. Helsinki: European Chemicals Agency; 2008. Disponibile all'indirizzo: https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r6_en.pdf/77f49f81-b76d-40ab-8513-4f3a533b6ac9; ultima consultazione 5/10/2020.
- EFSA Scientific Committee, More SJ, Bampidis V, Benford D, Bragard C, Halldorsson TI, Hernandez-Jerez AF, Hougaard BS, Koutsoumanis KP, Machera K, Naegeli H, Nielsen SS, Schlatter JR, Schrenk D, Silano V, Turck D, Younes M, Gundert-Remy U, Kass GEN, Kleiner J, Rossi AM, Serafimova R, Reilly L, Wallace HM. Guidance on the use of the Threshold of Toxicological Concern approach in

food safety assessment. *EFSA Journal* 2019;17(6):5708, 17 pp.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5708>.

EFSA Scientific Committee, More SJ, Bampidis V, Benford D, Bennekou SH, Bragard C, Halldorsson TI, Hernandez-Jerez AF, Koutsoumanis K, Naegeli H, Schlatter JR, Silano V, Nielsen SS, Schrenk D, Turck D, Younes M, Benfenati E, Castle L, Cedergreen N, Hardy A, Laskowski R, Leblanc JC, Kortenkamp A, Ragas A, Posthuma L, Svendsen C, Solecki R, Testai E, Dujardin B, Kass GEN, Manini P, Jeddi MZ, Dorne J-LCM and Hogstrand C, 2019. Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. *EFSA Journal* 2019;17(3):5634, 77 pp.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5634>.

Gogoi A, Mazumder P, Kumar Tyagi V, Tushara Chaminda GG, Kyoungjin An A, Kumar M. Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review, *Groundwater for Sustainable Development* 6 (2018) 169–180 <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>.

OECD (Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology). *Guidance on grouping of chemicals, second edition*. Paris: Organization for Economic Co-operation and Development; 2014. (Series on Testing & Assessment No. 194). Disponibile all'indirizzo: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2014\)4&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)4&doclanguage=en); ultima consultazione 5/10/2020.

Testai E, Buratti FM, Funari E, Manganelli M, Vichi S, Arnich N, Biré R, Fessard V, Sialehaamo A. Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. EFSA supporting publication 2016:EN-998. 309 pp. (2016).

WHO. Guidelines for Drinking-water Quality. 3rd edition. Vol. 1 Geneva: World Health Organization; 2004.