

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Moda, cosmesi e alimentazione:
il ruolo dei metalli nelle allergie cutanee**

A cura di
Beatrice Bocca, Francesco Petrucci e Giovanni Forte
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

09/12

Istituto Superiore di Sanità

Moda, cosmesi e alimentazione: il ruolo dei metalli nelle allergie cutanee.

A cura di Beatrice Bocca, Francesco Petrucci e Giovanni Forte

2009, iv, 92 p. Rapporti ISTISAN 09/12

Le allergie della pelle indotte da metalli colpiscono moltissime persone in tutto il mondo. L'allergia al Ni colpisce il 15% della popolazione generale europea, mentre il Co e il Cr incidono rispettivamente per l'8% e il 4%. Anche metalli come Al, Au, Be, Cu, Hg, Pd, Pt, Rh e Ti stanno divenendo frequenti cause di allergie. L'aumento della prevalenza delle allergie cutanee è dovuta al fatto che i metalli sono contenuti nel cibo e in molti prodotti e oggetti con cui veniamo a contatto quotidianamente. Considerando che i segni clinici sono alterazioni ben visibili della pelle, le allergie da contatto possono influire profondamente sulla qualità di vita del paziente ed essere causa piuttosto comune di problemi sul lavoro. Questo rapporto offre una visione sulla prevalenza del problema e presenta un approccio quantitativo sui prodotti venduti sul mercato italiano (leghe per bigiotteria e piercing, colori per tatuaggi, creme idratanti) e mostra altri scenari di rischio quali le protesi dentali e l'alimentazione. Inoltre, vengono esplorati gli attuali percorsi per la diagnosi, il trattamento e la prevenzione del problema.

Parole chiave: Allergie, Metalli, Piercing, Bigiotteria, Creme idratanti, Tatuaggi, Protesi dentali, Dieta

Istituto Superiore di Sanità

Fashion, cosmetics and diet: the role of metals in skin allergies.

Edited by Beatrice Bocca, Francesco Petrucci and Giovanni Forte

2009, iv, 92 p. Rapporti ISTISAN 09/12 (in Italian)

Skin allergies caused by metals affect many people around the world. Allergy to Ni affects the 15% of the general European population, while Co and Cr the 8% and the 4%, respectively. Also metals as Al, Au, Be, Cu, Hg, Pd, Pt, Rh and Ti are becoming common causes of allergies. The high prevalence of skin allergies is because metals are contained in food and in many products and items with which we come into daily contact. Considering that the clinical signs are clearly visible alterations of the skin, contact allergies can profoundly affect the quality of patient's life and be quite common impediments at work. This report provides a view on the prevalence of the problem and presents a quantitative approach on products sold on the Italian market (alloys for jewellery and piercing, colors for tattoos and moisturizing creams) and shows other risk scenarios such as dental implants and diet. Furthermore, we explore the current paths for the diagnosis, treatment and prevention of the problem.

Key words: Allergies, Metals, Piercing, Cheap jewellery, Moisturizing creams, Tattoos, Dental prosthesis, Diet

Per informazioni su questo documento scrivere a: beatrice.bocca@iss.it.

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Bocca B, Petrucci F, Forte G (Ed.) *Moda, cosmesi e alimentazione: il ruolo dei metalli nelle allergie cutanee*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Rapporti ISTISAN 09/12).

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2009

INDICE

Premessa	iii
<i>Beatrice Bocca, Francesco Petrucci, Giovanni Forte</i>	
Epidemiologia della dermatite allergica da contatto ai metalli nella popolazione generale: prevalenza e nuove evidenze	1
<i>Beatrice Bocca, Francesco Petrucci, Giovanni Forte</i>	
Caratterizzazione e rilascio di metalli sensibilizzanti dalla bigiotteria	22
<i>Beatrice Bocca, Oreste Senofonte, Francesco Petrucci, Nicola Violante, Barbara De Berardis, Luigi Paoletti, Roberta Feliciani, Maria Rosaria Milana, Giovanni Forte</i>	
Caratterizzazione e rilascio di metalli allergeni dai piercing	34
<i>Beatrice Bocca, Stefano Caimi, Oreste Senofonte, Francesco Petrucci, Roberta Feliciani, Maria Rosaria Milana, Barbara De Berardis, Luigi Paoletti, Giovanni Forte</i>	
Contenuto di metalli allergeni e tossici in colori per tatuaggi	47
<i>Giovanni Forte, Francesco Petrucci, Antonio Cristaudo, Beatrice Bocca</i>	
Palladio in pazienti con protesi dentarie metalliche	62
<i>Stefano Caimi, Francesco Petrucci, Antonio Cristaudo, Valentina Bordignon</i>	
Nichel e altri metalli potenzialmente allergenici in creme idratanti per il corpo	73
<i>Beatrice Bocca, Francesco Petrucci, Antonio Cristaudo, Giovanni Forte</i>	
Ruolo della dieta nell'allergia da nichel	81
<i>Francesco Petrucci, Beatrice Bocca, Giovanni Forte, Stefano Caimi, Antonio Cristaudo</i>	
I test epicutanei nella diagnosi delle allergie da contatto ai metalli	87
<i>Antonio Cristaudo, Mariagrazia De Rocco, Mirko Frasca, Giorgiana Feliziani, Valentina Bordignon</i>	

PREMESSA

Le allergie da contatto provocate dai metalli sono un problema sanitario in continua crescita. I metalli in grado di indurre allergia sono presenti in molti prodotti e oggetti di uso quotidiano (gioielli, piercing, cosmetici, detersivi, accessori quali fermagli, cinture, spille, bottoni, monete, colori per tatuaggi, cuoio, tessuti, protesi dentarie/ortopediche, ecc.) e in numerosi prodotti alimentari (legumi, cioccolato, soia, frutta secca, verdure, cereali, tè, uova, ecc.). Il Ni, il Co ed il Cr sono gli allergeni più comuni. In Europa le dermatiti allergiche indotte da Ni, Co e Cr mostrano percentuali di prevalenza del 20%, 7% e 4%, rispettivamente, e l'età media di sensibilizzazione al Ni sta diventando sempre più bassa (10-20 anni). Le "vittime" delle dermatiti da Ni sono prevalentemente le donne per l'uso frequente di bigiotteria, piercing, cosmetici e creme. I tessuti e le pelli usate per guanti e scarpe, e i pigmenti utilizzati nelle vernici e nei colori per tatuaggi sono alla base di numerosi casi di sensibilizzazione indotta da Co e Cr.

La concentrazione del metallo a cui il consumatore è esposto ed il grado di esposizione sono fattori che determinano fortemente lo sviluppo della reazione allergica. Nei casi in cui l'esposizione può riguardare tutta la vita (piercing, tatuaggi e impianti dentali) anche l'esposizione cronica ad una bassa concentrazione dell'allergene è sufficiente ad indurre una risposta allergica. Un individuo divenuto sensibile al metallo, quando esposto nuovamente allo stesso metallo è in grado di sviluppare una seconda risposta allergica in pochissime ore e a concentrazioni di gran lunga inferiori rispetto a quelle necessarie ad indurre la prima reazione allergica. Inoltre, se un individuo ha una forte sensibilizzazione ad un metallo può reagire anche ad altri metalli mostrando così una reattività crociata.

Le allergie della pelle causate da metalli sono caratterizzate da un ampio spettro di sintomi: infiammazione, pelle secca, screpolature, prurito, eczema e vesciche. La sede di comparsa delle manifestazioni cutanee è inizialmente circoscritta all'area in cui è avvenuto il contatto con il metallo allergizzante ma, successivamente, le lesioni possono anche estendersi per comparire lontano dal punto di contatto a causa della disseminazione dell'allergene attraverso il sudore o lo sfregamento conseguente al prurito. A volte i fenomeni di eruzione e discolorazione riguardano ampie zone della pelle e perciò vanno ad influenzare pesantemente l'aspetto fisico e le relazioni sociali. Per questo motivo l'importanza del fenomeno delle allergie della pelle non è solo legata al numero via via crescente di persone colpite che necessitano prevenzione e cure, ma anche al peggioramento della qualità della vita del paziente.

Le persone divenute allergiche ai metalli devono evitare ogni successivo contatto con l'allergene. Ciò risulta spesso difficile in quanto la possibilità di venire a contatto con i metalli è molto alta data la loro ubiquarietà. L'unica possibile strategia di prevenzione è ricorrere all'uso di dispositivi di protezione individuale (guanti in cotone e creme barriera) e all'accurata selezione di prodotti alimentari contenenti bassi tenori del metallo allergene. Ciò nonostante, le più gravi complicazioni mediche conseguenti ad una manifestazione allergica possono comportare terapia antibiotica e ospedalizzazione.

Allo stato attuale, si conosce poco sulla composizione metallica di prodotti ed oggetti con cui veniamo a contatto quotidianamente e su quali sono gli alimenti fonte di metalli allergenici. Ignorare l'identità, la biodisponibilità ed il profilo tossicologico delle leghe usate per piercing, bigiotteria ed impianti dentali, dei coloranti utilizzati nei tatuaggi, dei componenti dei cosmetici ostacola una corretta valutazione del rischio per la salute del consumatore.

In questo contesto, il rapporto preparato vuole dare una panoramica sulle evidenze epidemiologiche e scientifiche a sostegno del ruolo importante dei metalli nel fenomeno delle

allergie della pelle. Vengono discusse le possibili vie di contatto (dagli oggetti di uso quotidiano come la bigiotteria e i piercing, ai prodotti cosmetici, ai colori utilizzati nei tatuaggi e alle protesi utilizzate in odontoiatria), la percentuale di prevalenza delle dermatiti e delle sensibilizzazioni e le strategie di prevenzione e trattamento. Infine, si forniscono informazioni sul rischio di allergie da contatto in seguito all'ingestione di Ni tramite il cibo ed indicazioni su quali sono gli alimenti allergizzanti e sui trattamenti clinici e non da attuare in caso di allergia da dieta. Vengono inoltre valutati i vantaggi e gli svantaggi dei saggi ad oggi utilizzati per la diagnosi delle allergie da contatto. I vari contributi hanno lo scopo finale di evidenziare come le persone siano giornalmente, e in molti casi inconsapevolmente, esposte a metalli potenzialmente allergenici presenti negli alimenti e negli oggetti che si usano e indossano nella vita quotidiana.

Beatrice Bocca, Francesco Petrucci, Giovanni Forte

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

EPIDEMIOLOGIA DELLA DERMATITE ALLERGICA DA CONTATTO AI METALLI NELLA POPOLAZIONE GENERALE: PREVALENZA E NUOVE EVIDENZE

Beatrice Bocca, Francesco Petrucci, Giovanni Forte

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

I metalli sono distribuiti in modo più o meno uniforme in tutto l'ambiente che ci circonda, sono diffusi nella crosta terrestre e presenti negli alimenti e nell'acqua. I metalli vengono impiegati in numerose produzioni industriali e sono componenti principali o contaminanti in prodotti di largo consumo come ad esempio cosmetici, inchiostri, gioielli, pelli, prodotti tessili, protesi ortopediche o dentarie e prodotti per la casa. A causa della loro presenza pressoché ubiquitaria, i metalli sono tra i principali responsabili di fenomeni di dermatite allergica da contatto (DAC). Nella popolazione europea la prevalenza della DAC da Ni, Cr e Co è del 20%, 4% e 7% rispettivamente, e simili percentuali di prevalenza sono state riscontrate negli Stati Uniti (14% per il Ni, 4% per il Cr e 9% per il Co) (1-3). Statisticamente, i soggetti più colpiti da DAC da Ni e Co sono le donne e ciò non a caso poiché tali metalli sono contenuti in gioielli e bigiotteria ed in molti prodotti cosmetici, quali ombretti, mascara, rossetti, fondotinta, detergenti e creme, mentre la DAC da Cr colpisce soprattutto gli uomini a seguito di esposizione professionale (4). Altri dati evidenziano che l'età media di sensibilizzazione al Ni sta diventando sempre più bassa (10-20 anni) (5). Recentemente, altri metalli il cui uso è in continuo aumento, come ad esempio Al, Au, Be, Cu, Hg, Ir, Pd, Pt, Rh e Ti, stanno assumendo un ruolo sempre più importante come cause di sensibilizzazione (4).

La DAC rappresenta la più diffusa manifestazione di immunotossicità negli esseri umani e si sviluppa in due fasi. La prima è la fase di induzione, dove la pelle viene sensibilizzata a seguito di una esposizione topica ad una concentrazione di allergene (ad esempio lo ione metallico) sufficiente ad indurre una risposta da parte del sistema immunitario. Questa condizione prepara la strada ad una seconda risposta immunitaria più rapida e più aggressiva in caso di successiva ri-esposizione allo stesso allergene. Nella seconda fase o fase di elicitazione, la risposta immunitaria è mediata dalle cellule T. Queste ultime liberano citochine e chemochine che sono in grado di stimolare il flusso sanguigno locale richiamando eosinofili e macrofagi che amplificano il processo infiammatorio. Il tempo necessario per osservare l'elicitazione della DAC è di circa 24-96 ore (6, 7).

Il termine dermatite indica una lesione che si manifesta generalmente con arrossamento, aumento della temperatura, gonfiore e dolore nella sede dell'infiammazione. A questi sintomi primari si possono affiancare pustole, papule, vescicole, essudato, secchezza cutanea e sensazione di prurito (8). I fattori che favoriscono l'instaurarsi più o meno rapido della dermatite allergica sono: 1) il potere sensibilizzante della sostanza; 2) la sua quantità e concentrazione; 3) la presenza di tagli o graffi che favoriscono l'introduzione delle sostanze allergeniche; 4) la predisposizione individuale. La sede di comparsa delle manifestazioni cutanee è inizialmente circoscritta all'area in cui è avvenuto il contatto con la sostanza allergizzante ma, successivamente, le lesioni possono anche estendersi per comparire lontano

dal punto di contatto, probabilmente a causa della disseminazione dell'allergene causata dal sudore o dallo sfregamento conseguente al prurito.

Considerando che i sintomi descritti sono, in molti casi, alterazioni ben visibili della struttura della pelle, le DAC influiscono non solo sull'aumento del costo annuo sul Servizio Sanitario Nazionale per il sempre crescente numero di persone che necessitano cure e prevenzioni ma influiscono profondamente anche sulla qualità della vita del paziente e sono causa piuttosto comune di problemi sul lavoro (9-11). Infatti, alcune categorie professionali quali camerieri, cuochi, parrucchieri, lavoratori dell'industria e dell'agricoltura ma anche infermieri e medici che sono a contatto quotidiano e prolungato con il metallo, mostrando fastidiose lesioni cutanee, possono avere gravi impedimenti nel normale svolgimento delle loro attività professionali. E non bisogna dimenticare che le DAC provocate da metalli costituiscono una delle patologie più diffuse tra le casalinghe.

L'unica possibile strategia di intervento si articola sulla prevenzione e sul trattamento. Prevenire significa evitare il più possibile il contatto con il metallo, ad esempio utilizzando prodotti cosmetici con contenuto in Ni controllato (riconoscibili dal marchio "testati per il Ni") e creme-barriera che limitino il più possibile l'esposizione al metallo. Così si può riuscire ad aumentare di parecchio la soglia di tollerabilità. Per ridurre l'estensione e la durata della DAC in fase acuta è bene utilizzare preparati con funzione lenitiva e antinfiammatoria, prodotti lenitivi contenenti ossido di Zn e, nei casi più gravi, antistaminici e cortisonici. Prevenire significa anche limitare per via normativa il problema. Al momento, nell'Unione Europea (UE) esistono regolamenti per limitare la presenza di metalli nei prodotti destinati al contatto con la pelle. In particolare, la Direttiva del Consiglio 94/27/CE e la più restrittiva Direttiva della Commissione 2004/96/CE prevedono una limitazione del contenuto di Ni nelle leghe e quello rilasciato dalle leghe in una soluzione simulante il sudore. Inoltre, la Direttiva del Consiglio 76/768/CEE (implementata dalla Direttiva della Commissione 2004/93/CE) vieta l'utilizzo di determinati metalli nelle formulazioni cosmetiche (12-15).

Tuttavia, ulteriori sforzi dovrebbero essere fatti per studiare meglio il fenomeno delle DAC indotte da metallo al fine di intraprendere azioni di gestione e prevenzione del rischio. La conoscenza della prevalenza e della potenza degli agenti sensibilizzanti, lo sviluppo di nuovi metodi diagnostici e il miglioramento dell'informazione su come prevenire, proteggere e curare la pelle, rappresentano punti chiave per la gestione del rischio da DAC dovuta ai metalli (16).

In questo contesto, dato che il fenomeno delle DAC è molto più ampio di quanto si pensi e interessa un gran numero di persone nei più diversi ambienti e settori, si riporta in questo testo una panoramica sulle evidenze epidemiologiche e scientifiche a sostegno del ruolo importante dei metalli in tale fenomeno. Per ciascun metallo vengono discusse le possibili vie di contatto, la percentuale di prevalenza delle dermatiti e delle sensibilizzazioni e le strategie di prevenzione e trattamento.

Allergeni più comuni

Nichel

Il Ni è contenuto in prodotti di consumo come detersivi, cosmetici, monete, gioielli, bottoni, cerniere lampo, occhiali, fibbie, fermagli, inchiostri, protesi dentarie ecc. (4). L'allergia al Ni è la più diffusa al mondo. Nel 2004, il gruppo di lavoro afferente al sistema europeo di vigilanza sulle allergie da contatto (ESSCA) ha raccolto dati provenienti da 31 servizi dermatologici presenti in 11 diversi paesi europei (Austria, Danimarca, Germania, Italia, Lituania, Paesi Bassi, Polonia, Regno Unito, Spagna, Svezia e Svizzera) ed ha osservato che su circa 10000 soggetti

sottoposti al *patch test* il 20,1% dei casi dava risposte positive al Ni evidenziando come tale metallo fosse al primo posto tra tutti gli allergeni. La più bassa percentuale di soggetti allergici al Ni è stata osservata in Danimarca (9,7%) mentre la più alta in Italia (32,2%) (1). Risultati simili sono stati ottenuti in altri studi condotti in vari paesi del mondo. In Australia, Hong Kong, India, Iran, Israele, Norvegia, Repubblica Ceca, Singapore, Turchia e Stati Uniti la percentuale di positività al Ni è risultata pari al 10-20% (3, 17-23). Inoltre, le donne sviluppano allergia al Ni in misura maggiore rispetto agli uomini (25,1% delle donne contro il 7,4% degli uomini) e ciò è dovuto al maggiore utilizzo che le donne fanno di bigiotteria, piercing, cosmetici e prodotti per l'igiene della casa (17-23). Inoltre, gli stessi autori riportano che la prevalenza dell'allergia al Ni diminuisce con l'avanzare dell'età, probabilmente per via di una sempre minore esposizione al metallo stesso.

La Direttiva 94/27/CE e il suo più restrittivo emendamento (Direttiva 2004/96/CE) sono state emesse con l'obiettivo di prevenire l'induzione della DAC da Ni (prevenzione primaria) e di evitare l'elicitazione della DAC in soggetti pre-sensibilizzati (prevenzione secondaria) (12, 13). La Direttiva 94/27/CE limita il tenore totale di Ni in oggetti metallici destinati al contatto diretto e prolungato con la pelle a non più dello 0,05% in peso; inoltre, gli stessi oggetti a contatto della pelle, non devono cedere Ni al di sopra di $0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ nel sudore sintetico. Tuttavia, allo stato attuale, l'efficacia che ha avuto tale normativa sulla reale riduzione della DAC da Ni è ancora sotto questione. Infatti, se in un paio di casi è stata osservata una diminuzione dell'allergia da Ni dal 24,8% al 9,2% in Danimarca e dal 36,7% al 25,8% in Germania (24, 25), in Italia la percentuale di soggetti sensibilizzati al Ni sembra essere rimasta invariata (circa il 50% prima e dopo l'attuazione della Direttiva) (26). Tra l'altro, questi ultimi autori hanno dimostrato che la quantità di Ni rilasciata da oggetti di bigiotteria comprati sul mercato italiano nel 2007 era da 10 a 450 volte superiore al limite regolamentato. Altri lavori confermano come vari oggetti metallici destinati al contatto con la pelle e venduti in paesi coperti dalla Direttiva Europea continuano a dare luogo a sensibilizzazioni e DAC dovute al Ni. Ad esempio, una ragazza italiana e una donna danese hanno sviluppato DAC al Ni contenuto in fermagli per capelli; le eruzioni erano visibili sulla cute della testa e venivano provocate sia da fermagli poco costosi che da quelli più cari. Tali eruzioni scomparivano solo smettendo di usare i fermagli (27, 28). Anche gli oggetti che riportano in etichetta la dicitura "esenti da Ni" sono responsabili di quadri di DAC; per esempio, un orecchino rivestito di Rh e dichiarato essere "esente da Ni" è stato in grado di provocare eritema essudativo e prurito al lobo dell'orecchio. Con l'uso dell'oggetto lo strato di Rh si è consumato favorendo il rilascio del Ni e il suo assorbimento attraverso la pelle; ciò a dimostrazione del fatto che la placcatura con Rh non è riuscita a prevenire il rilascio del Ni (29). In più, è stato osservato che il rilascio di Ni da monete da 1 e 2 Euro era superiore al limite regolamentato e che l'applicazione di tali monete sulla pelle induceva reazioni eczematose a distanza di 48 e 72 ore. Le risposte erano molto più forti rispetto a quelle indotte dalle monete da 200 e 500 Lire contenenti solo il 2% di Ni. Le monete senza Ni, invece, davano pochissime o nessuna risposta (30).

Inoltre, nonostante l'UE abbia vietato l'uso del Ni e dei suoi sali nei prodotti cosmetici tramite la Direttiva del Consiglio 76/768/CEE, esistono evidenze che nei prodotti cosmetici e nei prodotti per la pelle tale elemento è ancora presente in quantità non trascurabili (14, 15). Sainio *et al.* hanno riscontrato che su 88 diversi ombretti 51 di essi contenevano Ni al di sopra dei $5 \mu\text{g}/\text{g}$ e altri 27 tra $1 \mu\text{g}/\text{g}$ e $5 \mu\text{g}/\text{g}$. Questi livelli erano bassi per provocare effetti tossicologici a livello sistemico, ma erano in grado di generare il rischio di DAC in persone pre-sensibilizzate (31). Kang *et al.* hanno quantificato il Ni in 7 su 15 tinture all'henné e la concentrazione variava nell'intervallo $2,94\text{-}3,96 \mu\text{g}/\text{g}$ (32). In 11 creme per il corpo che riportavano il marchio "testate per il Ni" e che quindi dovevano contenere Ni al di sotto dei $100 \text{ng}/\text{g}$, alcune di esse contenevano Ni tra $128 \text{ng}/\text{g}$ e $153 \text{ng}/\text{g}$ (33).

Un'altra via di sensibilizzazione al Ni è rappresentata dai dispositivi ortodontici quali ponti, corone e amalgami. Il contatto continuativo con la saliva, il particolare pH della cavità orale e l'attrito delle parti metalliche sono da considerare quali cause di migrazione del metallo. In questo contesto, 15 pazienti con manifestazioni lichenoidi orali hanno mostrato reazioni positive al *patch test* e il 12,9% di tutte le reazioni positive erano dovute al Ni. La sostituzione dei dispositivi ha migliorato la situazione favorendo la scomparsa della malattia (34). Inoltre, 121 pazienti a contatto con materiali ortodontici hanno mostrato sintomi quali la cheilite, la dermatite periorale, la cosiddetta "sindrome della bocca che brucia" (BMS), il *lichen planus* orale e i granulomi, e la causa di tali segni clinici era dovuta al Ni nel 13,2% dei casi (35). Dati simili sono stati riportati in un recente studio americano in cui i pazienti affetti da diverse malattie della mucosa orale riportavano reazioni positive al Ni nel 12,5% dei casi (36). Alcuni studi hanno mostrato che, in adolescenti, se la protesi dentaria veniva applicata prima di effettuare il piercing all'orecchio si otteneva una significativa riduzione della prevalenza dell'allergia a Ni. Tale risultato dimostra come la somministrazione orale dell'allergene da contatto può indurre immunotolleranza (37, 38). Inoltre, l'adozione di leghe alternative (acciaio inossidabile, Ni-Ti, solo Ti o Ti placcato in Au) o di materiali in ceramica o policarbonato per la produzione di dispositivi dentali è in grado di ridurre significativamente il rilascio di Ni e, quindi, limitare gli eventuali sintomi sulla mucosa orale (39).

I prodotti per la pulizia della casa contenenti Ni favoriscono lo sviluppo di eczema delle mani nelle donne. Dato l'alto numero di casi di DAC nelle casalinghe, nel 1993 è stato suggerito che la quantità di Ni nei prodotti per la casa non doveva superare i 5 µg/g al fine di evitare sensibilizzazioni; nel 2003 questo limite è stato ulteriormente abbassato a 1 µg/g (40). Se nel 1987 uno studio italiano aveva registrato un valore medio di Ni pari a 9,20 µg/g in 34 detersivi liquidi o in polvere ed una percentuale di persone sensibilizzate pari al 21% (41), altri dati relativi agli anni successivi al limite proposto hanno mostrato come la concentrazione di Ni risultava inferiore a 1 µg/g in un numero elevato di detersivi per la casa (42, 43).

L'uso del telefono cellulare e la pratica di suonare strumenti quali il violino e la tromba sono da annoverare tra le nuove vie di contatto con il Ni. Alcuni pazienti hanno sviluppato eritemi e papule nella regione emilaterale e preauricolare a causa dell'uso del telefono cellulare e hanno reagito positivamente al *patch test* con solfato di Ni. La presenza di Ni sulla superficie del telefono cellulare è stata confermata dalla prova con la dimetilgliosima. La copertura del telefono cellulare con un involucro di plastica ha permesso la risoluzione delle lesioni (44-47). Un violinista ha riportato una reazione al Ni contenuto nella corda del suo violino; la sostituzione della corda non è stata però la giusta soluzione dato che il tono emesso dalla nuova corda risultava significativamente diverso dall'originale (48). Un trombettista ha mostrato cheilite sulle labbra; il rilascio di Ni dal bocchino della tromba era favorito dalla saliva e dal sudore e la sostituzione del bocchino originale con uno in Au ha permesso la guarigione del labbro (49). Altri casi di allergie al Ni sono associati alla presenza di tale metallo nei bottoni dei blu jeans. In questo contesto, Suneja *et al.* hanno evidenziato una quantità maggiore di Ni nei bottoni dei jeans nuovi rispetto a quelli dei jeans usati ed hanno osservato che uno smalto chiaro applicato sul bottone poteva impedire il rilascio di Ni anche dopo due cicli di lavaggio a secco (50).

Cobalto

Lo si trova in leghe, carta, vernici e inchiostri, prodotti tessili, tinture per capelli, materie plastiche, colle, cuoio conciato, fotografia, cosmetici, shampoo, disinfettanti e fertilizzanti (4). Le categorie professionali a rischio sono i pittori, gli imbianchini, i parrucchieri ed i lavoratori dell'edilizia.

Nel 2004, il gruppo di lavoro ESSCA ha riportato reazioni positive al Co nel 6,74% di 10000 soggetti sottoposti al *patch test* per cui tale metallo è risultato essere il terzo allergene più importante tra tutti gli allergeni e tra i metalli è il secondo dopo il Ni. La più bassa prevalenza di allergia al Co è stata osservata in Danimarca (1,1%) e la più alta in Italia (17,6%) (1). Queste percentuali sono simili a quelli di altri paesi quali Germania, Norvegia, Turchia e USA (5-10%). Come per il Ni, la prevalenza di sensibilizzazione al Co è più alta nelle donne rispetto agli uomini, e ciò è dovuto all'uso di gioielli, bigiotteria e piercing, mentre l'età del soggetto sembra non modificare sensibilmente la distribuzione delle reazioni positive al Co (22, 23, 51-53).

Un'importante applicazione del Co è nella fabbricazione di leghe. Il Co può in parte sostituire il Ni nelle leghe con l'intento di renderle conformi ai requisiti della Direttiva 94/27/CE; tuttavia, lo sviluppo di una lega per gioielli contenente Co non ha dato risultati soddisfacenti considerando che il 18% di pazienti pre-sensibilizzati al Co erano positivi dopo 7-8 giorni di esposizione (54). L'immersione di una collana in sudore sintetico ha causato il rilascio di una concentrazione pari a 411 µg di Co, una quantità pari a 40000 volte la dose minima di sensibilizzazione; il paziente aveva sviluppato un eczema vescicolare nella zona della collana (55). Il 40% degli orecchini di bigiotteria campionati in Italia rilasciava Co da 0,013 µg/cm² a 0,188 µg/cm² per settimana in sudore artificiale (26).

Sono descritti casi di eczema alle mani dovuti ai sali di Co contenuti nei prodotti per l'igiene della casa (56). Da una recente indagine è emerso che circa il 90% di 95 prodotti detergenti per la casa conteneva livelli di Co fino a 1 µg/g e che il 10% ne contenevano fino a 5 µg/g (42).

Negli ultimi anni, in particolare tra la popolazione giovanile, la moda del piercing ha aumentato l'incidenza di dermatite da Co. Uno studio svedese ha dimostrato che il 2% di 520 giovani di sesso maschile con piercing era positivo al *patch test* con il cloruro di Co mentre la positività in soggetti che non lo avevano era pari solo allo 0,5% (57). In Giappone, 9 tra 106 soggetti che avevano il piercing mostravano eczema e davano reazione positiva al *patch test* (58).

Il Co è contenuto in tinture per henné, in colori per tatuaggi ed in prodotti cosmetici. Kang *et al.* hanno riportato un contenuto di Co pari a 3 mg/kg in 4 diverse tinture all'henné concludendo che tale quantità era in grado di provocare sensibilizzazione (32). In un altro caso è stata osservata un'ipersensibilità cutanea causata dalla presenza di Co in un inchiostro blu utilizzato per un tatuaggio (59). Oltre a ciò, il Co è stato trovato in 88 colori per ombretti di differenti marche e circa il 75% di tali prodotti ne conteneva in quantità maggiore di quella riportata come allergologicamente sicura (1 µg/g). L'opinione degli autori è che sebbene questi livelli non possano causare effetti tossici a livello sistemico, esiste comunque il rischio di sviluppare allergie nei soggetti sensibilizzati (31). In una serie di 11 creme etichettate come "testate per il Ni", 2 di esse mostravano un contenuto di Co intorno ai 200 ng/g (33).

Anche l'abbigliamento può essere una via di contatto con il Co. In particolare, un infermiere che mostrava prurito sulla coscia e sul polpaccio è risultato positivo al Co contenuto nel colorante impiegato per dare la colorazione blu ai pantaloni dell'uniforme (60). Un altro infermiere impiegato in un reparto di terapia intensiva ha riportato dermatite pruriginosa ai piedi a causa del Co contenuto nel colore verde delle sue scarpe di plastica (61). In entrambi i casi, i sintomi sono scomparsi quando le persone hanno smesso di indossare quegli indumenti. In India, la prevalenza della dermatite da calzature dovuta al Co è piuttosto alta e pari al 38,1% (62).

Un'altra causa di sensibilizzazione cutanea è legata alla presenza di Co nelle resine in poliestere o in plastiche ABS (Acrilnitrile Butadiene Stirene). Il naftenato di Co utilizzato per la produzione di plastica per il computer ha dato luogo a reazioni cutanee avverse (63), e, in modo analogo, l'octoato di Co contenuto in guanti di plastica ha provocato eczema alle mani (64). L'octoato di Co viene utilizzato come acceleratore nella produzione di resine in poliestere e può rimanere nella plastica come contaminante. Anche in questo caso, il paziente ha mostrato un miglioramento significativo sostituendo i guanti di plastica con quelli di cotone (64).

Cromo

Il contatto della pelle con il Cr e i suoi composti avviene attraverso leghe, cemento, cuoio, prodotti chimici, anticorrosivi, ceramica, legno, pitture e vernici, mordenti e coloranti, batterie e nastri magnetici, detersivi e detergenti, ecc. (4). La tossicità associata alle due forme del Cr è differente: il Cr (III) ha una minore permeabilità cutanea di quella del Cr (VI) e, di conseguenza, meno frequentemente provoca dermatiti allergiche (65).

La prevalenza dell'allergia a Cr nella popolazione europea è del 4,5% (1). A Singapore e in Turchia, la percentuale di prevalenza è simile (5%) e le principali vie di contatto favorevoli all'azione allergizzante sono il cemento e il cuoio (23, 66). In India, l'allergia al Cr ha raggiunto il 10% e la principale causa di sensibilizzazione è stata riconosciuta nel contatto diretto della pelle con scarpe di cuoio (67). Nella maggior parte dei casi, l'allergia al Cr è più frequente negli uomini che nelle donne. Ad esempio, nella Repubblica Ceca la prevalenza negli uomini è del 5,93% e nelle donne del 2,81%. Ad Hong Kong è sensibilizzato al Cr il 7,1% della popolazione maschile ed il 2,3% della popolazione femminile, mentre in Turchia e negli Stati Uniti gli uomini sono sensibilizzati al Cr circa 2 volte più delle donne (17, 19, 23, 51).

I casi di sensibilizzazione al contatto con il Cr presente nel cemento e nel cuoio sono molto frequenti. La materia prima utilizzata per la produzione del cemento contiene Cr (VI). Nel processo di produzione che avviene ad alta temperatura il Cr (III) viene ossidato a Cr (VI) che, essendo idrosolubile, penetra facilmente nella pelle e crea sensibilizzazione. Più di 20 anni fa in Danimarca è stato scoperto che l'aggiunta di solfato di Fe al cemento riduceva il Cr (VI) a meno di 2 µg/g (68); tale osservazione è stata la base per la riduzione del rischio di DAC nei lavoratori impiegati nell'edilizia (69, 70). Nel 2003, con la Direttiva del Consiglio 2003/53/CE, l'UE ha adottato tale concentrazione come limite di sicurezza in materia di commercializzazione e uso del cemento (71). Fuori dall'UE l'aggiunta di solfato di Fe nel cemento non è invece una pratica comune, dato che le percentuali di allergie nei lavoratori edili sono ancora piuttosto alte. In Brasile, il 57% di 86 lavoratori edili è risultato positivo al Cr (72) ed in Taiwan il 12% di 153 lavoratori del cemento è risultato affetto da DAC da Cr (73).

Il Cr (VI) usato nella concia della pelle è responsabile di casi di dermatiti. Un'indagine danese ha evidenziato una concentrazione di Cr (VI) nell'intervallo 4,1-16,9 mg/kg in 15 pelli conciate e nei pazienti una reattività cutanea dopo contatto con il cuoio. Considerando che non vi era alcuna correlazione tra l'eczema e il Cr (VI) o il Cr (III) presenti nel cuoio, è stato ipotizzato che le reazioni cutanee fossero il risultato di un'allergia sinergica ad entrambi le forme (74). In India sono stati registrati 155 casi di DAC ai piedi causate dalle scarpe in cuoio associati ad una frequenza di positività al *patch test* con il cromo pari al 45,8% (62). Il trattamento per convertire il Cr (VI) in Cr (III) tramite immersione del cuoio in una soluzione di vitamina C al 5% sembra sia in grado di ridurre la DAC (75).

Come per il Ni, alcune attività quotidiane come l'uso del telefono cellulare e di strumenti come la chitarra sono state associate a sensibilizzazione al Cr. Nel primo caso, il Cr era presente nella ricopertura del telefono (76), e, nel secondo caso, il metallo era contenuto nelle corde della chitarra (77).

Inoltre, nonostante l'UE abbia vietato l'uso dei sali Cr (III) nei prodotti cosmetici (14), sono ancora descritti casi di contatto della pelle con il Cr contenuto in tali prodotti. Per esempio, il Cr è stato identificato in 88 diversi ombretti (9 di essi contenevano un livello di Cr solubile al di sopra dei 2 µg/g) e in 11 diverse creme idratanti per il corpo (2 di esse contenevano Cr totale a 150 ng/g e 300 ng/g) (31, 33). La bigiotteria comprata sul mercato italiano rilasciava Cr nel sudore artificiale, ed il massimo rilascio era pari a 0,253 µg/cm²/settimana (26).

Il Cr contenuto nei detersivi e detergenti può aumentare il rischio di DAC. In Italia, una quantità media di Cr pari a 4,12 µg/g nei detergenti è in grado di sensibilizzare l'8,4% di 65

pazienti (41). I prodotti per la casa commercializzati in Israele hanno mostrato una concentrazione piuttosto alta di Cr totale: superiore a 5 µg/g nel 56% dei prodotti; tra 1 e 5 µg/g nel 32% dei prodotti e meno di 1 µg/g nel 12% dei casi (78).

Allergeni emergenti e/o rari

Alluminio

La DAC da Al è rara. La sensibilizzazione all'Al si può verificare durante l'uso di deodoranti, antiperspiranti, vaccini o estratti di polline. I deodoranti contenenti Al danno irritazioni ascellari (79). In Svezia, un paziente che abitualmente utilizzava un deodorante contenente cloruro di Al ha sviluppato una dermatite pruriginosa alle ascelle risultando anche positivo al *patch test* con cloruro di Al (80). Un altro caso di eczema ascellare è stata osservato in una ragazza di 16 anni; applicando per quattro giorni consecutivi un deodorante contenente cloruro di Al esaidrato si è ottenuta una reazione positiva al *patch test* con la stessa sostanza (81). Inoltre, l'Al complessato con lo Zr e la glicina negli antiperspiranti è in grado di generare casi di granuloma cutaneo e sensibilità cutanea (82). Sono stati riportati anche due casi di DAC dopo l'uso topico di formulati e creme antiperspiranti contenenti acetotartrato di Al (83). Un dentifricio contenente il 30-40% di ossido di Al è stato causa di prurito allergico e la sostituzione del dentifricio incriminato con un uno che non conteneva Al ha permesso la risoluzione del prurito in un mese (84). Dopo vaccinazione contro l'epatite B, alcuni pazienti hanno riportato la presenza di noduli persistenti al sito di iniezione. La causa è stata la presenza dell'Al nei vaccini, confermata dalla positività alle prove allergologiche sui soggetti (85). Altri casi di noduli persistenti con prurito dovuti all'Al si sono verificati in 19 bambini dopo la somministrazione dei vaccini anti-tetano, pertosse e polio in cui l'idrossido di Al era stato usato come fase adsorbente e 16 bambini sono risultati positivi alle prove epicutanee con l'Al (86). L'Al contenuto come contaminante alla concentrazione massima dello 0,01% in monete norvegesi ha creato un caso di orticaria. La prova pratica sul paziente ha mostrato eritema e prurito dopo 5 minuti, un'infiltrazione vescicolare dopo 8 minuti e formazione di croste 2 giorni più tardi (87). Alcuni autori hanno suggerito che i pigmenti per tatuaggi contenenti Al possono indurre reazioni granulomatose. In questo contesto, l'87% di 30 inchiostri per tatuaggio contenevano Al (88). Un ragazzo di 21 anni ha mostrato ipersensibilità ritardata all'Al con formazione di granulomi al sito del tatuaggio. Quattro settimane dopo aver eseguito il tatuaggio, tre distinte zone tumorali sono apparse nell'area viola del tatuaggio. Lesioni pruriginose intermittenti sono rimaste per 5 mesi a partire dal primo esame clinico (89). Un altro lavoro descrive un caso di donna che si era sottoposta a blefaropigmentazione con silicato di Al e mostrava una ipersensibilità ritardata con reazione granulomatosa (90).

Berillio

Il Be è usato come agente indurente nelle leghe. Queste leghe sono usate in molte applicazioni grazie alle loro caratteristiche di conducibilità elettrica e termica, elevata forza e durezza, proprietà non magnetiche, buona resistenza, stabilità dimensionale in un ampio intervallo di temperature. L'applicazione tipica delle leghe contenenti Be è nell'industria della difesa e aerospaziale, e in ortodonzia. Il Be è usato anche nel campo della diagnosi attraverso raggi X (ai quali risulta essere trasparente) e nella realizzazione di vario equipaggiamento per computer. La principale fonte di contatto della popolazione generale con il Be è la corrosione

delle leghe metalliche usate in ortodonzia ed il contatto tra il Be e la mucosa orale è in grado di generare reazioni allergiche da contatto (91). È stato dimostrato l'alto potenziale di dissoluzione del Be dalle leghe dentali. Infatti, dopo incubazione di alcuni pezzetti di leghe dentali per 120 giorni a 37 °C, la saliva conteneva concentrazioni di Be tra 0,3 e 3,48 mg/L a pH 6 e tra 12,4 e 43,0 mg/L a pH 2 (92). È stato anche osservato che le particelle di dimensioni tra 0,5 e 1,0 µm sono capaci di penetrare lo strato corneo della pelle umana e raggiungere l'epidermide (93). In questo contesto, sono stati riportati due casi di gengivite dovuta ad una protesi dentale e il *patch test* ha dato reazioni positive al solfato di Be, un componente della lega (94). In Spagna, 3 pazienti con protesi dentali hanno mostrato sensibilizzazione al cloruro di Be mentre nessuno dei controlli dava reazione positiva al sale (95). Un caso di eruzione papulare su braccia e gambe è stato osservato in un operaio addetto alla fusione di Be, Co, Cu, Ni e Zr per produrre leghe contenenti Be; il trattamento per 2 settimane con corticosteroidi sistemici e steroidi topici a media potenza ha avuto successo nel risolvere il problema (96).

Elementi del gruppo del platino

Gli elementi del gruppo del platino (EGP), Pt, Pd, Rh e Ir, sono rari nella crosta terrestre in confronto ad altri elementi, ma le loro specifiche proprietà fisiche e chimiche hanno portato allo sviluppo di alcune applicazioni tecniche molto sofisticate, soprattutto nel campo della catalisi. Il contatto tra la pelle e gli EGP avviene principalmente attraverso apparecchi dentali e gioielli e per via occupazionale. Il Pt è un metallo di transizione altamente reattivo e la sua potenza sensibilizzante è riferita ai suoi sali piuttosto che alla sua forma metallica. In particolare, uno studio effettuato *in vitro* dimostra che la potenza dell'attività dei sali di Pt decresce secondo il seguente ordine: diammonio esacloroplatinato > diammonio tetracloroplatinato > esaiodoplatinato di Na e cisplatino > tetracloruro di Pt > dicloruro di Pt (97). Nonostante questo, le reazioni positive alle prove allergologiche per il Pt sono molto rare, infatti su 446 pazienti con DAC solamente 2 donne risultavano positive al Pt (98). È stato riportato un caso di stomatite dovuto alla concomitante azione sensibilizzante di Pt e Pd presenti in una lega per apparecchi ortodontici (99) così come è stato segnalato un caso di dermatite causata dal Pt contenuto in un anello (100). Per quello che riguarda l'esposizione occupazionale, le fonti principali di DAC da Pt sono quelle dovute al riciclaggio e fabbricazione delle marmitte catalitiche per autotrazione (101) o alla lavorazione di farmaci antineoplastici a base di sali di Pt (102). Reazioni allergiche sono apparse in due donne che si sono sottoposte ad impianti di protesi di gel di silicone al seno. In entrambi i casi, le prove allergiche hanno evidenziato positività ad alcuni componenti plastici e al Pt (103, 104). Il Pt viene infatti usato come catalizzatore nel processo di produzione delle protesi di silicone e può rimanere nel prodotto finito a livelli di alcuni µg/g. Il metallo può diffondere nei tessuti e produrre effetti indesiderati, anche se si ritiene che il Pt abbia stato di ossidazione zero e quindi non tossico (105).

Il Pd è sempre più utilizzato nel settore industriale, nella gioielleria e nell'odontoiatria al fine di sostituire il Ni nelle leghe per soddisfare la Direttiva Europea che limita l'uso di quest'ultimo. Per questo motivo, durante un periodo di 10 anni (1990-2000), la tendenza di sensibilizzazione al Pd in una popolazione clinica è aumentata fino al 9,7% nel 2000, con una percentuale più elevata nelle donne rispetto agli uomini. Nella maggior parte dei casi i soggetti contraggono sensibilizzazioni multiple (92,8%), mentre il 7,2% dei soggetti sono risultati positivi al solo Pd. Tra i pazienti sensibilizzati al Pd, il 40,5% ha denunciato dermatite della mano, il 47,4% dermatite sul corpo, e l'1,7% la BMS (106). Nello studio di Kanerva *et al.*, il 7% di 700 studenti ha avuto un *patch test* positivo al cloruro di Pd (107) e sono stati registrati altri due casi di allergia con granulomi all'orecchio a causa del Pd presente nel piercing. Il primo dovuto al solo Pd e il secondo al Pd in associazione con altri metalli (108). Inoltre, è stato osservato un caso di

dermatite dovuta al contatto della pelle con la montatura metallica degli occhiali contenenti Ti al 99,7% ricoperto da una lamina formata da Au (90%), Cu (3%) e Pd (7%) (109). Inoltre, il Pd in protesi dentali è stato causa di sintomi quali la stomatite orale, la mucosite e il *lichen planus* orale (110-114). Altri studi hanno segnalato casi con presenza di gonfiore delle labbra e delle guance, vertigini, asma e orticaria cronica e tali sintomi sono scomparsi con l'utilizzo di dispositivi dentali privi di Pd (115-117).

Iridio e Rh sono talvolta segnalati come sensibilizzanti in forma di sali in soggetti impiegati nella lavorazione di metalli preziosi e gioielli (118, 119) o in pazienti esposti ad amalgami dentali o protesi (120, 121). Nel biennio 2001-2002, 720 pazienti con eczema sono stati sottoposti a *patch test* con soluzioni acquose all'1% di cloruro di Ir e Rh. Nessuno dei 720 soggetti testati ha mostrato reazioni positive all'Ir, ma 2 sono stati trovati positivi al Rh come pure ad altri metalli. Questi risultati suggeriscono che Ir e Rh sono allergologicamente sicuri, anche in pazienti sensibilizzati ai metalli (122).

Mercurio

Il Hg inorganico viene usato negli amalgami dentali, pomate, unguenti, creme sbiancanti, e in certi vaccini e conservanti.

La principale via di contatto con il Hg inorganico è rappresentata dagli amalgami (123). Gli amalgami danno eruzioni cutanee del cavo orale, mal di testa, pruriti e gonfiore delle labbra o lesioni eczematose della mucosa orale. Diversi studi sembrano indicare una possibile reazione tra otturazioni dentali contenenti Hg e *lichen planus* orale (124), granuloma orofacciale (125) e BMS (126) in soggetti sensibilizzati al Hg. La parziale o completa sostituzione degli amalgami contenenti il metallo con altri in resina o porcellana è risultata indispensabile per la cura della malattia in pazienti sensibilizzati al Hg (127).

Il tiomersal, un composto organomercuriale, è contenuto in farmaci topici (forme farmaceutiche nasali e preparati oftalmici), in cosmetici ed in vaccini. Sebbene sia stato riconosciuto come il quinto allergene più comune nei pazienti con *patch test* positivo, è risultato essere "possibilmente rilevante" nel 7,8% di 2252 pazienti esaminati e "probabilmente rilevante" in un singolo paziente (128).

L'uso di prodotti per lo sbiancamento della pelle è molto popolare nei paesi in via di sviluppo e a tale pratica vengono associate allergie al Hg. In Taiwan sono stati descritti casi di dermatiti facciali ed eczemi e i sintomi sono stati ricondotti al Ni e al mercurio ammoniacale (MA) contenuti in creme sbiancanti (129). Inoltre, è stata evidenziata un'associazione tra l'uso di creme sbiancanti contenenti concentrazioni di Hg tra 660 µg/g e 57000 µg/g e un incremento dei livelli urinari ed ematici di Hg; ciò a dimostrazione del fatto che il Hg può essere facilmente assorbito per via cutanea (130). In maniera simile, in Indonesia, una donna che usava abitualmente una crema sbiancante contenente un'elevata quantità di Hg ha mostrato livelli nelle urine e nel sangue molto più elevati del normale. I segni clinici erano quelli della nefropatia membranosa e miglioravano solo dopo aver smesso di far uso della crema (131). In un altro caso, una donna di 25 anni, positiva sia al *patch test* con il cloruro di Hg che a quello con il MA, ha riportato intorno agli occhi e alla bocca una dermatite eritematosa con prurito e bolle dopo applicazione di una crema contenente una concentrazione di Hg pari al 7,2% in peso (132).

Anche tatuaggi, piercing e oggetti in PVC sono potenzialmente in grado di dare sensibilizzazioni ed allergie da Hg. I sali del Hg compongono i colori per tatuaggi e possono essere responsabili di reazioni allergiche; i pigmenti rossi, per esempio, includono il solfuro di Hg (rosso vermiglio e rosso cinabro) e danno reazioni di ipersensibilità ritardata (133). L'azione sinergica di Hg, Co e Cr ha causato diversi tipi di reazioni cutanee in aree tatuate (134). Studi

clinici hanno dimostrato che il numero di reazioni positive al Hg risulta raddoppiato in pazienti che avevano il piercing alle orecchie rispetto a quelli senza (135). Il Hg contenuto in stivali in PVC ha consentito lo sviluppo di una grave DAC con esantema nelle gambe e parti laterali del tronco in un bambino di 5 anni affetto da intolleranza al mercurocromo. I *patch test* hanno rivelato la positività al Hg sia organico che inorganico (136). Una donna di 24 anni con una storia di sensibilizzazione da contatto al mercurocromo, ha sviluppato una dermatite eritematosa vescicolare sull'area di contatto con la sua fede nuziale. L'analisi dell'anello rivelava la presenza del metallo sulla superficie (137).

Oro

Nel biennio 1998-2000, l'Au è stato classificato come la sesta più frequente causa di reazioni positive al *patch test* effettuato con tiosolfato di sodio e oro (TSO) (138). In Svezia, l'8,6% di 832 pazienti con sospetta allergia da contatto ha dato una risposta positiva al TSO. Altri pazienti con allergia al TSO mostravano reazioni positive al dicianoaurato di K e negative al tiomolato di sodio e oro (TMSO) e all'Au metallico (139). Nel Regno Unito, i risultati del *patch test* hanno evidenziato reazioni positive al TSO nel 4,6% di casi su 278 pazienti. Tutti i pazienti erano donne, con un'età media di 37 anni e i siti colpiti più frequentemente dall'eczema erano la testa e il collo (140). In Giappone, l'8,4% di 653 pazienti esaminati dal 1990 al 2001 hanno mostrato reazione positiva al cloruro di Au e, anche in questo caso, le donne (10,2%) erano in numero maggiore degli uomini (0,8%) (141).

Le leghe dentali a base di Au usate per ponti, corone, ecc. rappresentano un importante fattore di rischio per la DAC. Diversi autori hanno riscontrato che la positività al *patch test* è significativamente correlata con la presenza di impianti dentali contenenti Au (142, 143). Uno studio di Yiannias *et al.* su 46 pazienti con lesioni lichenoidi orali ha mostrato che in 2 pazienti sensibilizzati all'Au i segni clinici miglioravano dopo la rimozione della protesi dentale (144). Un'ipersensibilità all'Au è stata riportata da persone coinvolti nella fabbricazione di materiali a base di Au per la protetica dentistica in Giappone, e 3 persone su 12 davano reazioni positive al TSO (145).

Inoltre, impiantare uno stent placcato in Au sembra rappresenti un rischio di sensibilizzazione all'Au; il 45,5% dei pazienti con stent coronarico mostrava allergia da contatto, mentre nel gruppo di controllo solo il 20,5% dei soggetti mostrava reazione e la differenza tra i due gruppi era statisticamente significativa (146).

L'uso di Au nelle leghe utilizzate in gioielleria e piercing genera casi di sensibilizzazione. Lo scioglimento dell'Au metallico è notoriamente difficile ma il processo è facilitato dall'ambiente circostante (per esempio la presenza di amminoacidi) (147). Infatti il numero di reazioni positive al cloruro di Au era maggiore nel gruppo di soggetti che portavano orecchini rispetto al gruppo di controllo (58). L'allergia all'Au si presenta spesso come dermatite al sito di contatto del gioiello con la pelle, in genere sulle orecchie e sulle dita delle mani, ma anche come dermatite sulle palpebre (148). Nel 1988, Fowler ha segnalato 2 casi (entrambi donne) di dermatite sulla palpebra e *patch test* positivo all'Au; le eruzioni cutanee si sono risolte non indossando più i gioielli ed il meccanismo ipotizzato era un trasferimento dell'allergene dalle mani alle palpebre (149). In Portogallo, l'allergia da contatto a TSO e dicianoaurato di K è stata trovata in 23 donne che portavano orecchini in Au (150). Ehrlich e Belsito hanno riscontrato che 7 dei 15 pazienti allergici all'Au guarivano per il solo fatto di non indossare più gioielli in Au (151). In Spagna è stata descritta una donna con DAC al dito della mano provocata dall'Au contenuto nella sua fede di nozze (152).

La presenza di Au in forma metallica è stata evidenziata in biopsie di pelle umana prelevate da zone che venivano a contatto prolungato con il metallo presente in gioielli confermando

l'assorbimento del metallo anche attraverso lo strato corneo della pelle (147). In alcuni casi, l'ipersensibilità all'Au è stata associata alla formazione di noduli cutanei nelle vicinanze del buco all'orecchino. I noduli sono stati descritti come linfocitomi di tipo benigno che, nel caso di non risoluzione spontanea, avrebbero potuto richiedere una rimozione chirurgica (153, 154).

Rame

Il Cu è utilizzato in monete, gioielli, ornamenti personali (fermagli, spille, cinture, collane, bottoni, ecc), protesi dentali (ponti, cementi, ecc.) e dispositivi intrauterini (DI). I sali di Cu vengono utilizzati in agricoltura come fungicidi (4). Il Cu ha un basso potere di sensibilizzazione per cui raramente causa DAC e la maggior parte dei casi di DAC riportati in letteratura sono connessi con l'uso di protesi dentali e di DI.

Wöhrl *et al.* hanno suggerito che gli amalgami dentali hanno dato sensibilizzazione al Cu in una percentuale piuttosto elevata (15,2%) di bambini (155). Allo stesso modo, una donna ha sviluppato dermatite della mucosa orale a causa della esposizione al Cu presente nelle otturazioni dentali (156). Hougeir *et al.* hanno osservato una relazione tra DAC del cavo orale (mucosite) e patogenesi di carcinoma a cellule squamose (157). Inoltre, una donna ha mostrato lesioni da *lichen planus* orale a causa del Cu contenuto nella sua protesi dentale; la rimozione della stessa ha permesso il miglioramento dei sintomi (158).

Una donna che indossava un DI ha riportato eruzione cutanea qualche giorno prima del ciclo mestruale, la sintomatologia è migliorata con l'inizio del ciclo (159). In un altro caso, una paziente ha mostrato una diffusa orticaria, un'angioedema delle palpebre e delle grandi e piccole labbra (160). In entrambi i casi, le pazienti hanno mostrato sensibilizzazione al solfato di Cu e la rimozione del DI ha portato alla scomparsa dei segni clinici.

Inoltre, esistono casi di sensibilizzazione incrociata a Cu e Ni; in 30 pazienti presensibilizzati al Ni, la simultanea applicazione di solfato di Cu e solfato di Ni aumenta significativamente la risposta al *patch test* rispetto all'applicazione del solfato di Ni da solo, e ciò ha lasciato supporre che il Cu potesse rafforzare la risposta allergologica al Ni (161). La stessa evidenza di reattività incrociata tra Cu e Ni è stata riportata in un altro lavoro dove viene anche suggerito che la ricopertura degli oggetti contenenti Ni con uno strato di Cu potrebbe non rappresentare una valida strada al fine di proteggere le persone allergiche al Ni (155).

Pochi altri casi di DAC dovuta al Cu sono presenti in letteratura. Un impiegato di una sala del bingo ha sviluppato reazione cutanea in seguito al contatto con le monete da 2 euro contenenti Cu e una donna ha sviluppato dermatite per la presenza di Cu in un microfono utilizzato in un ambulatorio (162, 163). Reazioni eritematose sulla faccia, collo, petto e braccia sono state riscontrate in donne esposte professionalmente a fertilizzanti e fungicidi contenenti solfato di Cu (164).

Titanio

Il Ti e le sue leghe sono usati in dispositivi medici per osteosintesi, artroprotesi, pacemaker, ortodonzia o in oggetti quali la bigiotteria e piercing. Il Ti viene usato nel nitinolo, lega costituita dal 50% di Ni e il 50% di Ti, e in altre leghe quali quelle formate da Ti-Al-V e da Ti-Co. Anche il Ti puro viene usato spesso in protesi ed impianti e in oggetti di bigiotteria. L'esistenza di DAC legate al Ti è ancora in discussione a causa della carenza di dati certi sul suo potenziale allergologico e dalla poca riproducibilità dei saggi cutanei. Tuttavia, esistono alcuni casi di sensibilità al Ti. Per esempio, un paziente con pacemaker cardiaco mostrava arrossamento, gonfiore e prurito della cute sovrastante la zona dell'impianto diverse settimane

dopo l'inserimento. La positività alle prove cutanee aveva indicato una sensibilizzazione al Ti contenuto nel pacemaker (165). Yamauchi *et al.* hanno utilizzato un approccio diverso per valutare la dermatite indotta dal Ti presente nei pacemaker. Essi hanno messo a contatto il pacemaker con il siero di alcuni pazienti così da permettere il rilascio del Ti. Il siero contenente il Ti è stato poi utilizzato in prove intracutanee che hanno portato a reazioni positive fin dal secondo giorno e, insieme ad esse, a stimolazioni linfocitarie *in vitro* (166).

Per quanto riguarda le protesi ortopediche, Lalor *et al.* hanno descritto sensibilità al Ti in pazienti in cui la sostituzione totale dell'anca con una in Ti portava ad infiammazione linfocitica nel tessuto periimplantare. I pazienti hanno mostrato positività alla prova cutanea di un unguento a base di paraffina e silicone contenente il 20% di biossido di Ti, il 5% di perossido di Ti, il 3% di salicilato di Ti e lo 0,1% di tannato di Ti, ma non hanno reagito agli stessi sali di Ti somministrati singolarmente. Inoltre, l'analisi a raggi X dei tessuti provenienti da tutti i soggetti ha dimostrato che le particelle presenti nei macrofagi e nella zona circostante erano di Ti (167). In un altro caso si è sviluppato un eczema cutaneo nella zona di inserzione di una protesi in Ti applicata per favorire l'osteosintesi in un caso di frattura ossea; la presenza dell'eczema rendeva difficoltosa la guarigione. La prova allergologica è risultata negativa al Ti, ma il saggio della trasformazione dei linfociti (LTT) ha mostrato una maggiore proliferazione dei linfociti del paziente in presenza di Ti. La successiva rimozione dell'impianto in Ti ha permesso la guarigione della frattura e la scomparsa dell'eccessiva proliferazione *in vitro*. Inoltre, è stato riportato un caso di iperplasia gengivale adiacente all'impianto intraorale in Ti. In seguito alla sostituzione dell'impianto in Ti con uno in Au, la condizione della gengiva è tornata alla normalità (168).

Due donne che indossavano orecchini in oro hanno sviluppato linfocitoma; Au e Ti sono stati rilevati tramite microanalisi con microscopio elettronico a scansione a raggi X (SEM-EDX) (169). In un uomo di 68 anni sono stati diagnosticati noduli alle orecchie al sito del piercing effettuato 10 anni prima. L'esame microscopico dell'epitelio ha rivelato granulomi con macrofagi e linfociti. L'analisi SEM-EDX ha anche rivelato la presenza di particelle di Ti, Al e V all'interno dei macrofagi (170).

Infine, esiste qualche caso di DAC dovuta all'uso topico di prodotti contenenti Ti. Un paziente ha presentato una reazione avversa al lattato di Ti contenuto in un deodorante (171). Il Ti è anche presente sotto forma di nanoparticelle di biossido di Ti come agente schiarente in vernici e pigmenti per tatuaggi. Un inchiostro blu disponibile in commercio conteneva una concentrazione piuttosto elevata di Ti pari al 36,82% in peso ed in uno studio su tatuaggi venduti in USA il biossido di Ti è stato quantificato in quasi tutti gli inchiostri blu (88, 172).

Conclusioni

Milioni di persone in tutto il mondo sono affette da DAC. Le reazioni immunologiche possono essere così diverse ed essere anche tanto gravi da peggiorare la qualità di vita del paziente e creare problemi sul lavoro. I metalli sono considerati un importante fattore di rischio per lo sviluppo della DAC; Ni, Co e Cr sono gli allergeni con la più alta prevalenza, mentre Al, Au, Be, Cu, EGP, Hg e Ti sono da considerare meno frequenti seppur mostrino un'attività sensibilizzante non da sottovalutare. Gli oggetti che contengono i metalli sono gioielli, piercing, fermagli, fibbie, spille, bottoni, monete, protesi dentarie/ortopediche, inchiostri e colori per tatuaggi, prodotti per l'igiene della casa, tinture per i capelli, cuoio, tessuti, ecc. Nella nostra vita quotidiana, veniamo a contatto con tali oggetti e prodotti, e quindi, siamo continuamente esposti ad un rischio di sensibilizzazione da metallo. Nelle persone già sensibilizzate ogni contatto con il metallo deve essere evitato per prevenire lo sviluppo di DAC; se ciò non è

possibile alcune misure efficaci sono l'uso di guanti di cotone o creme protettive. Inoltre, il consumatore necessita di adeguate avvertenze attraverso l'etichettatura dei prodotti, così come la produzione industriale di leghe più sicure (in termini di composizione e/o rivestimenti) può essere una possibile strada per fare prevenzione. Anche se alcuni regolamenti europei sono stati emanati per limitare l'esposizione del consumatore al metallo, un elevato numero di persone ancora soffre di DAC indotta da metallo. Per questo motivo, continue attività di ricerca dovrebbero essere fatte per identificare le fonti di esposizione a metalli sensibilizzanti, per caratterizzare la forza allergologica del metallo e per sviluppare nuovi metodi diagnostici *in vitro* e *in vivo*. La ricerca in questo campo può dare sostegno alla creazione di una base comune di conoscenze su questo importante problema sanitario al fine ultimo di adottare programmi efficaci di prevenzione e trattamento.

Bibliografia

1. The ESSCA Writing Group. The European Surveillance System of Contact Allergies (ESSCA): results of patch testing the standard series, 2004. *JEADV* 2008;22:174-81.
2. Krob HA, Fleischer Jr AB, D'Agostino Jr R, Haverstock CL, Feldman S. Prevalence and relevance of contact dermatitis allergens: a meta-analysis of 15 years of published T.R.U.E. test data. *J Am Acad Dermatol* 2004;51:349-53.
3. Nguyen SH, Dang TP, Macpherson C, Maibach H, Maibach HI. Prevalence of patch test results from 1970 to 2002 in a multi-centre population in North America (NACDG). *Contact Dermatitis* 2008;58:101-6.
4. Lidèn C, Bruze M, Menné T. Metals. In: Frosch PJ, Menné T, Lepoittevin J-P (Ed.). *Contact Dermatitis*. Heidelberg: Springer; 2006. p. 537-568.
5. Wöhrl S, Hemmer W, Focke M, Götz M, Jarisch R. Patch testing in Children, Adults, and the Elderly: Influence of Age and Sex on Sensitization Patterns. *Pediat Dermatol* 2003;20:119-23.
6. Fyhrquist-Vanni N, Alenius H, Lauerma A. Contact Dermatitis. *Dermatol Clin* 2007;25:613-23.
7. Sharpe AH, Abbas AK. T-cell costimulation-biology, therapeutic potential, and challenges. *N Engl J Med* 2006;355:973-5.
8. Rycroft RJG, Menné T, Frosch PJ, Lepoittevin J-P (Ed.). *Textbook of Contact Dermatitis*. Berlino: Springer-Verlag; 2001.
9. Andersen KE, Benezra C, Burrows D, Camarasa J, Dooms-Goossens A, Ducombs G, Frosch P, Lachapelle JM, Lahti A, Menné T, Rycroft R, Scheper R, White I, Wlkinson J. Contact dermatitis. A review. *Contact Dermatitis* 1987;16:55-78.
10. Mathias CGT. Contact dermatitis and workers' compensation: criteria for establishing occupational causation and aggravation. *J Am Acad Dermatol* 1989;20:842-8.
11. Kadyk DL, McCarter K, Achen F, Belsito DV. Quality of life in patients with allergic contact dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2003;49:1037-48.
12. Direttiva 94/27/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 30 giugno 1994 che stabilisce la dodicesima modifica della direttiva 76/769/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati Membri relative alla limitazione dell'immissione sul mercato e dell'uso di talune sostanze e preparati pericolosi. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea serie L 188 del 27/7/1994, p. 1-2.
13. Direttiva 2004/96/CE della Commissione, del 27 settembre 2004, recante modifica della direttiva 76/769/CEE del Consiglio per quanto riguarda le restrizioni in tema di commercializzazione e uso di nickel in oggetti metallici utilizzati nelle parti perforate ai fini dell'adeguamento

- dell'allegato I al progresso tecnico. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea serie L 301 del 28/8/2004, p. 51-52.
14. Direttiva 76/768/CEE del Consiglio, del 27 luglio 1976, concernente il ravvicinamento delle legislazioni degli Stati Membri relative ai prodotti cosmetici. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea serie L 262 del 27/9/1976, p. 169-200.
 15. Direttiva 2004/93/CE della Commissione, del 21 settembre 2004, che modifica la direttiva 76/768/CEE per adeguare al progresso tecnico i suoi allegati II e III. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea serie L 300 del 25/9/2004, p. 13-41.
 16. Basketter DA. Skin sensitization: strategies for the assessment and management of risk. *Br J Dermatol* 2008;159:267-73.
 17. Machovcova A, Dastychiva E, Kostalova D, Vojtechivska A, Reslova J, Smejkalova D, Vaneckova J, Vocilkova A. Common contact sensitizers in the Czech Republic. Patch test results in 12058 patients with suspected contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 2005;53:162-6.
 18. Greig JE, Carson CF, Stuckey MS, Riley TV. Prevalence of delayed hypersensitivity to the European standard series in a self-selected population. *Australas J Dermatol* 2000;41:86-9.
 19. Lam WS, Chan LY, Ho SCK, Chong LY, So H, Wong TW. A retrospective study of 2585 patients patch tested with the European standard series in Hong Kong (1995-99). *Int J Dermatol* 2008;47:128-33.
 20. Kashani MN, Gorouhi F, Behnia F, Nazemi MJ, Dowlati Y, Firooz A. Allergic contact dermatitis in Iran. *Contact Dermatitis* 2005;52:154-8.
 21. Freireich-Astman M, David M, Trattner A. Standard patch test results in patients with contact dermatitis in Israel: age and sex differences. *Contact Dermatitis* 2007;56:103-7.
 22. Dotterud LK, Smith-Sivertsen T. Allergic contact sensitization in the general adult population: a population-based study from Northern Norway. *Contact Dermatitis* 2007;56:10-5.
 23. Akyol A, Boyvat A, Peksari Y, Gürgey E. Contact sensitivity to standard series allergens in 1038 patients with contact dermatitis in Turkey. *Contact Dermatitis* 2005;52:333-7.
 24. Jensen CS, Lisby S, Baadsgaard O, Vølund A, Menné T. Decrease in nickel sensitization in a Danish schoolgirl population with ears pierced after implementation of a nickel-exposure regulation. *Br J Dermatol* 2002;146:636-42.
 25. Schnuch A, Uter W. Decrease in nickel allergy in Germany and regulatory interventions. *Contact Dermatitis* 2003;49:107-8.
 26. Bocca B, Forte G, Senofonte O, Violante N, Paoletti L, De Berardis B, Petrucci F, Cristaudo A. A pilot study on the content and the release of Ni and other allergenic metals from cheap earrings available on the Italian market. *Sci Total Environ* 2007;388:24-34.
 27. Storace M, Militello G, Pazzaglia M, Vincenti C, Tosti A. Allergic contact dermatitis to nickel in a hair clasp. *Contact Dermatitis* 2007;56:290.
 28. Thyssen JP, Jensen P, Johansen JD, Menné T. Contact dermatitis caused by nickel release from hair clasps purchased in a country covered by the EU Nickel Directive. *Contact Dermatitis* 2009;60:180-1.
 29. Foti C, Amoroso A, Cassano N, Vena GA. Contact sensitization to nickel from rhodium-plated "nickel-free" earrings. *Contact Dermatitis* 2002;46:309.
 30. Seidenari S, Giusti F, Pellicani G, Antelmi AR, Foti C, Bonamonte D, Ayala F, Balato G, Cristaudo A, Stingeni L, Lisi P. Reactivity to euro coins and sensitization thresholds in nickel-sensitive subjects. *JEADV* 2005;19:449-54.
 31. Sainio EL, Jolanki R, Hakala E, Kanerva L. Metals and arsenic in eye shadows. *Contact Dermatitis* 2000;42:5-10.

32. Kang I-J, Lee M-H. Quantification of para-phenylenediamine and heavy metals in henna dye. *Contact Dermatitis* 2006;55:26-9.
33. Bocca B, Forte G, Petrucci F, Cristaudo A. Levels of nickel and other potentially allergenic metals in Ni-tested commercial body creams. *J Pharm Biomed Anal* 2007;44:1197-202.
34. Ditrichova D, Kapralova S, Tichy M, Ticha V, Dobesova J, Justova E, Eber M, Pirek P. Oral lichenoid lesions and allergy to dental materials. *Biomed Pap Med Fac Univ Palcky Olomuc Czech Repub*, 2007;151:333-9.
35. Khamaysi Z, Bergman R, Weltfriend S. Positive patch test reactions to allergens of the dental series and the relation to the clinical presentations. *Contact Dermatitis* 2006;55:216-8.
36. Torgerson RR, Davis MDP, Bruce AJ, Farmer SA, Rogers III RS. Contact allergy in oral disease. *J Am Acad Dermatol* 2007;57:315-21.
37. Kerosuo H, Kullaa A, Kerosuo E, Kanerva L, Hensten-Pettersen A. Nickel allergy in adolescents in relation to orthodontic treatment and piercing of ears. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1996;109:148-54.
38. Mortz CG, Lauritsen JM, Bindslev-Jensen C, Andersen KE. Nickel sensitization in adolescents and association with ear piercing, use of dental braces and hand eczema. The Odense Adolescence Cohort Study on Atopic Diseases and Dermatitis (TOACS). *Acta Derm Venereol* 2002;82:359-64.
39. Rahilly G, Price N. Nickel allergy and orthodontics. *J Orthod* 2003;30:171-4.
40. Basketter DA, Angelini G, Ingber A, Kern PS, Menné T. Nickel, chromium and cobalt in consumer products: revisiting safe levels in the new "Millennium". *Contact Dermatitis* 2003;49:1-7.
41. Nava A, Campiglio G, Caravelli G, Galli DA, Gambini MA, Zerbini R, Beretta E. I sali di cromo e nichel come causa di dermatite allergica da contatto con detersivi. *Med Lav* 1987;78:405-12.
42. Gaikema, F.J.; Nakotta, R.A.; Dannen, F. Rapportnummer NDCCP007/01, Keuringsdienst van Waren Noord, 2002.
43. ISPESL. Conferenza "Rischi per la salute legati all'utilizzo di detersivi. Le problematiche dell'inquinamento da metalli anche con potenzialità cancerogene". Treviso, 22 ottobre 2001.
44. Pazzaglia M, Lucente P, Vincenzi C, Tosti A. Contact dermatitis from nickel in mobile phones. *Contact Dermatitis* 2000;42:362-3.
45. Wöhrl S, Jandl T, Stingl G, Kinaciyan T. Mobile telephone as new source for nickel dermatitis. *Contact Dermatitis* 2007;56:113.
46. Livideanu C, Giordano-Labadie F, Paul C. Cellular phone addiction and allergic contact dermatitis to nickel. *Contact Dermatitis* 2007;57:130-1.
47. Bercovitch L, Luo J. Cellphone contact dermatitis with nickel allergy. *CMAJ* 2008;178:23-4.
48. Alvarez MS, Brancaccio RR. Multiple contact allergens in a violinist. *Contact Dermatitis* 2003;49:43-4.
49. Thomas P, Rueff F, Przybill B. Cheilitis due to nickel contact allergy in a trumpet player. *Contact Dermatitis* 2000;42:351-2.
50. Suneja T, Flanagan KH, Glasser DA. Blue-jean button nickel: prevalence and prevention of its release from buttons. *Dermatitis* 2007;18:208-11.
51. Ruff CA, Belsito DV. The impact of various patient factors on contact allergy to nickel, cobalt, and chromate. *J Am Acad Dermatol* 2006;55:32-9.
52. Schäfer T, Böhler E, Ruhdorfer S, Weigl L, Wessner D, Filipiak B, Wichmann HE, Ring J. Epidemiology of contact allergy in adults. *Allergy* 2001;56:1192-6.

53. Stingeni L, Pelliccia S, Lisi P. Cobalt: a controversial contact allergen. *Giorn It Allergol Immunol Clin* 2003;13:17-22.
54. Perryman JH, Fowler Jr. JF. A patch test study to evaluate the allergenicity of a metallic jewelry alloy in patients allergic to cobalt. *Cutis* 2006;77:77-80.
55. Hindsén M, Persson L, Gruvberger B. Allergic contact dermatitis from cobalt in jewellery. *Contact Dermatitis* 2005;53:350-1.
56. Vilaplana J, Grimalt F, Romaguera C, Mascaro JM. Cobalt content of household cleaning products. *Contact Dermatitis* 1987;16:139-41.
57. Meijer C, Bredberg M, Fischer T, Widström L. Ear piercing, and nickel and cobalt sensitization, in 520 young Swedish men doing compulsory military service. *Contact Dermatitis* 1995;32:147-9.
58. Nakada T, Ijima M, Nakayama H, Maibach HI. Rôle of ear piercing in metal allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1997;36:233-6.
59. Bagnato GF, De Pasquale R, Giacobbe O, Chirico G, Ricciardi L, Gangemi S, Purello d'Ambrosio F. Urticaria in a tattooed patient. *Allergol Immunopath* 1999;27:32-3.
60. Laing ME, Hackett CB, Murphy GM. Unusual allergen in nurse uniform trousers. *Contact Dermatitis* 2005;52:293.
61. Goossens A, Bedert R, Zimerson E. Allergic contact dermatitis caused by nickel and cobalt in green plastic shoes. *Contact Dermatitis* 2001;45:172.
62. Chowdhuri S, Ghosh S. Epidemio-allergological study in 155 cases of footwear dermatitis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007;73:319-22.
63. Kanerva L, Kanerva K, Jolanki R, Estlander T. Cobalt-a possible sensitizer in personal computer (PC) mouse and polyester resins. *Contact Dermatitis* 2001;45:126-7.
64. Anavekar NS, Nixon R. Occupational allergic contact dermatitis to cobalt octoate included as an accelerator in a polyester resin. *Australas J Dermatol* 2006;47:143-4.
65. Shelnutt SR, Goad P, Belsito DV. Dermatological toxicity of hexavalent chromium. *Crit Rev Toxicol* 2007;37:375-87.
66. Goon ATJ, Goh CL. Metal allergy in Singapore. *Contact Dermatitis* 2005;52:130-2.
67. Bajaj AK, Saraswat A, Mukhija G, Rastogi S, Yadav S. Patch testing experience with 1000 patients. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007;73:313-8.
68. Thyssen JP, Johansen JD, Menné T. Contact allergy epidemics and their controls. *Contact Dermatitis* 2007;56:185-95.
69. Avnstorp C. Follow-up of workers from the prefabricated concrete industry after the addition of ferrous sulphate to Danish cement. *Contact Dermatitis* 1989;20:365-71.
70. Roto P, Sainio H, Reunala T, Laippala P. Addition of ferrous sulfate to cement and risk of chromium dermatitis among construction workers. *Contact Dermatitis* 1996;34:43-50.
71. Direttiva 2003/53/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio, del 18 giugno 2003, che modifica per la ventiseiesima volta la direttiva 76/769/CEE del Consiglio relativamente alle restrizioni in materia di immissione sul mercato e di uso di talune sostanze e preparati pericolosi (nonilfenolo, nonilfenolo etossilato, cemento). Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea serie L 178 del 18/06/2003, p. 24-7.
72. Macedo MS, de Oliveira de Avelar Alchorne A, Costa EB, Montesano FT. Contact allergy in male construction workers in Sao Paulo, Brazil, 2000-2005. *Contact Dermatitis* 2007;56:232-4.
73. Wang B-J, Shiao J-S, Chen CJ, Lee Y-C, Guo Y-L. Tumour necrotizing factor-alpha promoter and GST-T1 genotype predict skin allergy to chromate in cement workers in Taiwan. *Contact Dermatitis* 2007;57:309-15.

74. Hansen MB, Menné T, Johansen JD. Cr(III) and Cr(VI) in leather and elicitation of eczema. *Contact Dermatitis* 2006;54:278-2.
75. Srinvas CR, Shanmuga Sundaram V, Selvaraj K. Reducing the allergenic hexavalent chromium in leather to hypoallergenic trivalent chromium for prevention of leather dermatitis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007;73:428-9.
76. Seishima M, Oyama Z, Oda M. Cellular phone dermatitis with chromate allergy. *Dermatology* 2003;207:48-50.
77. Smith VH, Charles-Holmes R, Bedlow A. Contact dermatitis in guitar players. *Clin Exp Dermatol* 2006;31:143-5.
78. Ingber A, Gammelgaard B, David M. Detergents and bleaches are sources of chromium contact dermatitis in Israel. *Contact Dermatitis* 1998;38:101-4.
79. Gallego H, Lewis EJ, Crutchfield III CE. Crystal deodorant dermatitis: irritant dermatitis to alum-containing deodorant. *Cutis* 1999;64:65-6.
80. Fischer T, Rystedt I. A case of contact sensitivity to aluminium. *Contact Dermatitis* 1982;8:343.
81. Hindsén M. Contact allergy to aluminium in patients hyposensitized with aluminium-containing hyposensitizing extracts. *Contact Dermatitis* 2005;53:301-2.
82. Montemarano AD, Sau P, Johnson FB, James WD. Cutaneous granulomas caused by an aluminum-zirconium complex: an ingredient of antiperspirants. *J Am Acad Dermatol* 1997;37:496-8.
83. Meding B, Augustsson A, Hansson C. Patch test reactions to aluminium. *Contact Dermatitis* 1984;10:107.
84. Veien NK, Hattel T, Laurberg G. Systemically aggravated contact dermatitis caused by aluminium in toothpaste. *Contact Dermatitis* 1993;28:199-200.
85. Skowron F, Grézard P, Bérard F, Balme B, Perrot H. Persistent nodules at sites of hepatitis B vaccination due to aluminium sensitization. *Contact Dermatitis* 1997;39:135-6.
86. Bergfors E, Björkelund C, trollfors B. Nineteen cases of persistent pruritic nodules and contact allergy to aluminium after injection of commonly used aluminium-adsorbed vaccines. *Eur J Pediatr* 2005;164:691-7.
87. Helgesen ALO, Austad J. Contact urticaria from aluminium and nickel in the same patient. *Contact Dermatitis* 1997;37:303-4.
88. Timko AL, Miller CH, Johnson FB, Ross E. In vitro quantitative chemical analysis of tattoo pigments. *Arch Dermatol* 2001;137:143-7.
89. McFadden N, Lyberg T, Hensten-Pettersen A. Aluminum-induced granulomas in a tattoo. *J Am Acad Dermatol* 1989;20:903-8.
90. Schwarze HP, Giordano-Labadie F, Loche F, Gorguet MB, Bazex J. Delayed-hypersensitivity granulomatous reaction induced by blepharopigmentation with aluminum-silicate. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:888-91.
91. IPCS Environmental Health Criteria 106. *Beryllium*. Ginevra: World Health Organization; 1990.
92. Covington JS, McBride MA, Slagle WF, Disney AL. Beryllium localization in base metal dental casting alloys. *J Biomed Mat Res* 1985;9:747-50.
93. Tinkle SS, Antonini JM, Rich BA, Roberts JR, Salmen R, DePree K, Adkins EJ. Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease. *Environ Health Perspect* 2003;111:1202-8.
94. Haberman AL, Pratt M, Storrs FJ. Contact dermatitis from beryllium in dental alloys. *Contact Dermatitis* 1993;28:157-62.

95. Vilaplana J, Romaguera C, Grimaldi F. Occupational and non-occupational allergic contact dermatitis from beryllium. *Contact Dermatitis* 1992;26:295-8.
96. Berlin JM, Taylor JS, Sigel JE, Bergfeld WF, Dweik RA. Beryllium dermatitis. *J. Am. Acad. Dermatol* 2003;49:939-41.
97. Di Gioacchino M, Di Giampaolo L, Verna N, Reale M, Di Sciascio MB, Volpe AR, Carmignani M, Ponti J, Paganelli R, Sabbioni E, Boscolo P. In vitro effects of platinum compounds on lymphocyte proliferation and cytokine release. *Ann Clin Lab Sci* 2004;34:195-202.
98. Fowler JF J, Perryman JH, Quinian B. Positive patch-test reactions to platinum are rare. *Dermatitis* 2008;19:146-7.
99. Koch P, Baum HP. Contact stomatitis due to palladium and platinum in dental alloy. *Contact Dermatitis* 1996;34:253-7.
100. Kozuka T, Fujimoto K, Hashimoto S. Contact dermatitis induced by platinum ring. *Nippon Rinsho* 1977;35:429-30.
101. Merget R, Schulte A, Gebler A, Breitstadt R, Kulzer R, Berndt ED, Baur X, Schultze-Werninghaus G. Outcome of occupational asthma due to platinum salts after transferral to low-exposure areas. *Int Arch Occup Environ Health* 1999;72:33-9.
102. Schena D, Barba A, Costa G. Occupational contact urticaria due to cisplatin. *Contact Dermatitis* 1996;34:220-1.
103. Cantisani C, Cigna E, Grieco T, Miller DM, De Gado F. Allergic contact dermatitis to synthetic rubber following breast augmentation. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2007;39:185-8.
104. Cantisani C, De Gado F, Grieco T, Faina P, Calvieri S, Scuderi N. Patch test reactions and breast implants. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1540-1
105. Brook MA. Platinum in silicone breast implants. *Biomaterials* 27;2006:3274-86.
106. Larese Filon F, Uderzo D, Bagnato E. Sensitization to palladium chloride: a 10-year evaluation. *Am J Contact Dermatitis* 2003;14:78-81.
107. Kanerva L, Kerosuo H, Kullaa A, Kerosuo E. Allergic patch test reactions to palladium chloride in schoolchildren. *Contact Dermatitis* 1996;34:39-42.
108. Goossens A, De Swerd A, De Coninck K, Snauwaert JE, Dedeurwaerder M, De Bonte M. Allergic contact granuloma due to palladium following ear piercing. *Contact Dermatitis* 2006;55:338-41.
109. Suhonen R, Kanerva L. Allergic contact dermatitis caused by palladium on titanium spectacle frames. *Contact Dermatitis* 2001;44:257-8.
110. Fernandez-Redondo V, Gomez-Centeno P, Toribio J. Chronic urticaria from a dental bridge. *Contact Dermatitis* 1998;38:178-9.
111. Hay C, Ormerod A. Severe oral and facial reaction to 6 metals in restorative dentistry. *Contact Dermatitis* 1998;38:216.
112. Mizoguchi S, Setoyama M, Kanzaki T. Linear lichen planus in the region of the mandibular nerve caused by an allergy to palladium in dental metals. *Dermatology* 1998;196:268-70.
113. Katoh N, Hirano S, Kishimoto S, Yasuno H. Dermal contact dermatitis caused by allergy to palladium. *Contact Dermatitis* 1999;40:226-7.
114. Yoshida S, Sakamoto H, Mikami HM, Onuma K, Shoji T, Nakagawa H, Hasegawa H, Amayasu H. Palladium allergy exacerbating bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:1211-2.
115. Moulon C, Vollmer J, Weltzien HU. Characterization of processing requirements and metal cross-reactivities in T cell clones from patients with allergic contact dermatitis to nickel. *Eur J Immunol* 1995;25:3308-15.

116. Pistor FH, Kapsenberg ML, Bos JD, Meinardi MM, von Blomberg ME, Scheper RJ. Cross-reactivity of human nickel-reactive T-lymphocyte clones with copper and palladium. *J Invest Dermatol* 1995;105:92-5.
117. Santucci B, Cannistraci C, Cristaudo A, Picardo M. Multiple sensitivities to transition metals: the nickel palladium reactions. *Contact Dermatitis* 1996;35:283-6.
118. Bedello PG, Goitre M, Roncarolo G, Cane D. Contact dermatitis to rhodium. *Contact Dermatitis* 1987;17:111-2.
119. De La Cuadra J, Grau-Massanés M. Occupational contact dermatitis from rhodium and cobalt. *Contact Dermatitis* 1991;25:182-4.
120. Vilaplana J, Romaguera C, Cornellana F. Contact dermatitis and adverse oral mucous membrane reactions related to the use of dental prostheses. *Contact Dermatitis* 1994;30:80-4.
121. Marcusson JA, Cederbrant K, Heilborn J. Indium and iridium allergy in patients exposed to dental alloys. *Contact Dermatitis* 1998;38:297-8.
122. Santucci B, Valenzano C, De Rocco M, Cristaudo A. Platinum in the environment: frequency of reactions to platinum-group elements in patients with dermatitis and urticaria. *Contact Dermatitis* 2000;43:333-8.
123. Eneström S, Hultman P. Does amalgam affect the immune system? A controversial issue. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;106:180-203.
124. Smart ER, Macleod RI, Lawrence CM. Resolution of lichen planus following removal of amalgam restorations in patients with proven allergy to mercury salts: a pilot study. *Br Dent J* 1995;178:108-12.
125. Guttman-Yassky E, Weltfriend S, Bergman R. Resolution of orofacial granulomatosis with amalgam removal. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003;17:344-7.
126. Pigatto PD, Guzzi G, Persichini P, Barbadillo S. Recovery from mercury-induced burning mouth syndrome due to mercury allergy. *Dermatitis* 2004;15:75-7.
127. Laeijendecker R, Dekker SK, Burger PM, Mulder PG, Van Joost T, Neumann MH. Oral lichen planus and allergy to dental amalgam restorations. *Arch Dermatol* 2004;140:1434-8.
128. Rietschel RL, Fowler Jr JF. Antiseptics and disinfectants In: Rietschel RL, Fowler Jr JF (Ed.). *Fisher's Contact Dermatitis*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 149-155.
129. Sun C. Allergic contact dermatitis of the face from contact with nickel and ammoniated mercury in spectacle frames and skin-lightening creams. *Contact Dermatitis* 1987;17:306-9.
130. Sin KW, Tsang HF. Large-scale mercury exposure due to a cream cosmetic: community-wide case series. *Hong Kong Med J* 2003;9:329-34.
131. Soo YO, Chow KM, Lam CW, Lai FM, Szeto CC, Chan MH, Li PK. A whitened face woman with nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis* 2003;41:250-3.
132. Kawai K, Zhang XM, Nakagawa M, Kawai J, Okada T, Kawai K. Allergic contact dermatitis due to mercury in a wedding ring and a cosmetic. *Contact Dermatitis* 1994;31:330-1.
133. Rietschel RL, Fowler Jr JF. Contact dermatitis and other reactions to metals. In: Rietschel RL, Fowler Jr JF (Ed.). *Fisher's contact dermatitis*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 607-608.
134. Rietschel RL, Fowler Jr JF (Ed.). *Fisher's Contact Dermatitis*. Baltimora: Williams and Wilkins; 1995.
135. Nakada T, Higo N, Iijima M, Nakayama H, Maibach HI. Patch test materials for mercury allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1997;36:237-9.
136. Koch P, Nickolaus G. Allergic contact dermatitis and mercury exanthema due to mercury chloride in plastic boots. *Contact Dermatitis* 1996;34:405-9.

137. Kawai K, Zhang XM, Nakagawa M, Kawai J, Okada T, Kawai K. Allergic contact dermatitis due to mercury in a wedding ring and a cosmetic. *Contact Dermatitis* 1994;31:330-1.
138. Garner LA. Contact dermatitis to metals. *Dermatol Ther* 2004;17:321-7.
139. Björkner B, Bruze M, Möller H. High frequency of contact allergy to gold sodium thiosulfate. An indication of gold allergy? *Contact Dermatitis* 1994;30:144-51.
140. McKenna KE, Dolan O, Walsh YM, Burrows D. Contact allergy to gold sodium thiosulfate. *Contact Dermatitis* 1995;32:143-6.
141. Nonaka H, Nakada T, Iijima M. Gold allergy in Japan. *Contact Dermatitis* 2003;48:112-4.
142. Vamnes JS, Morken T, Helland S, Gjerdet NF. Dental gold alloys and contact hypersensitivity. *Contact Dermatitis* 2000;42:128-33.
143. Schaffran RM, Storrs FJ, Schalock P. Prevalence of gold sensitivity in asymptomatic individuals with gold dental restorations. *Am J Contact Derm* 1999;10:201-6.
144. Yiannias JA, el-Azhary RA, Hand JH, Pakzad SY, Rogers III RS. Relevant contact sensitivities in patients with the diagnosis of oral lichen planus. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:177-82.
145. Kawahara D, Oshima H, Kosugi H, Nakamura M, Sugai T, Tamaki T. Further epidemiologic study of occupational contact dermatitis in the dental clinic. *Contact Dermatitis* 1993;28:114-5.
146. Svedman C, Tillman C, Gustavsson CG, Moller H, Frennby B, Bruze M. Contact allergy to gold in patients with gold-plated intracoronary stents. *Contact Dermatitis* 2005;52:192-6.
147. Brown DH, Smith WE, Fox P, Sturrock RD. The reactions of gold(0) with amino acids and the significance of these reactions in the biochemistry of gold. *Inorg Chim Acta* 1982;67:27-30.
148. Bruze M, Björkner B, Möller H. Skin testing with gold sodium thiomalate and gold sodium thiosulfate. *Contact Dermatitis* 1995;32:5-8.
149. Fowler J. Allergic contact dermatitis to gold. *Arch Dermatol* 1988;124:181-2.
150. Silva R, Pereira F, Bordalo O, Silva E, Barros A, Gonçalves M, Correia T, Pessoa G, Baptista A, Pecegueiro M. Contact allergy to gold sodium thiosulfate. A comparative study. *Contact Dermatitis* 1997;37:78-81.
151. Ehrlich A, Belsito DV. Allergic contact dermatitis to gold. *Cutis* 2000;65:323-6.
152. Camarasa JG, Serra-Baldrich E. Allergic dermatitis caused by gold. Description of a new case. *Med Cutan Ibero Lat Am* 1989;17:187-8.
153. Kobayashi Y, Nanko H, Nakamura J, Mizoguchi M. Lymphocytoma cutis induced by gold pierced earrings. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:457-8.
154. Nakada T, Iijima M, Fujisawa R. Gold dermatitis due to earpiercing. *Jpn J Clin Dermatol* 1992;46(Suppl. 5):16-21.
155. Wöhrl S, Hemmer W, Focke M, Götz M, Jarisch R. Copper allergy revisited. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:863-70.
156. Gerhardsson L, Björkner B, Karlsteen M, Schütz A. Copper allergy from dental copper amalgam? *Sci Total Environ* 2002;290:41-6.
157. Hougeir FG, Yiannias JA, Hinni ML, Hentz JG, el-Azhary R.A. Oral metal contact allergy: a pilot study on the cause of oral squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol* 2006;45:265-71.
158. Vergara G, Silvestre JF, Botella R, Albares MP, Pascual JC. Oral lichen planus and sensitization to copper sulfate. *Contact Dermatitis* 2004;50:374.
159. Pujol RM, Randazzo L, Miralles J, Alomar A. Perimenstrual dermatitis secondary to a copper-containing intrauterine contraceptive device. *Contact Dermatitis* 1998;38:288.

160. Purello D'Ambrosio F, Ricciardi L, Isola S, Gangemi S, Cilia M, Levanti C, Marcazzò A. Systemic contact dermatitis to copper-containing IUD. *Allergy* 1996;51:658-9.
161. Santucci B, Cannistraci C, Cristaudo A, Picardo M. Interaction of metals in nickel-sensitive patients. *Contact Dermatitis* 1993;29:251-3.
162. Paredes Suárez C, Fernández-Redondo V, Toribio J. Bingo-hall worker's occupational copper contact dermatitis from coins. *Contact Dermatitis* 2002;47:182.
163. Hayashi S, Dekio S, Kakizoe E, Jidoi J. A case of contact dermatitis from the microphone of an ambulatory blood pressure monitoring system. *Environ Dermatol* 1995;2:283-6.
164. Narahari SR, Srinivas CR, Kelkar SK. LE-like erythema and periungual telangiectasia among coffee plantation workers. *Contact Dermatitis* 1990;22:296-7.
165. Peters MS, Schroeter AL, van Hale HM, Broadbent JC. Pacemaker contact sensitivity. *Contact Dermatitis* 1984;11:214-8.
166. Yamauchi R, Morita A, Tsuji T. Pacemaker dermatitis from titanium. *Contact Dermatitis* 2000;42:52-3.
167. Lalor PA, Revell P, Gray AB, Wright S, Railton GT, Freeman MA. Sensitivity to titanium. A cause of implant failure? *J Bone Joint Surg* 1991;73:25-8.
168. Mitchell L, Synnott SA, VanDercreek JA. Tissue reaction involving an intraoral skin graft and CP titanium abutments: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1990;5:79-84.
169. Watanabe R, Nanko H, Fukuda S. Lymphocytoma cutis due to pierced earrings. *J Cutan Pathol* 2006;33(Suppl. 2):16-9.
170. High WA, Ayers RA, Adams JR, Chang A, Fitzpatrick J.E. Granulomatous reaction to titanium alloy: an unusual reaction to ear piercing. *J Am Acad Dermatol* 2006;55:716-20.
171. Basketter DA, Whittle E, Monk B. Possible allergy to complex titanium salt. *Contact Dermatitis* 2000;42:310-1.
172. Kim J-W, Lee J-W, Won YO, Kim JH, Lee S-C. Titanium, a major constituent of blue ink, causes resistance to Nd-YAG (1064 nm) laser: results of animal experiments. *Acta Derm Venereol* 2006;86:110-3.

CARATTERIZZAZIONE E RILASCIO DI METALLI SENSIBILIZZANTI DALLA BIGIOTTERIA

Beatrice Bocca (a), Oreste Senofonte (a), Francesco Petrucci (a), Nicola Violante (a), Barbara De Berardis (b), Luigi Paoletti (b), Roberta Feliciani (a), Maria Rosaria Milana (a), Giovanni Forte (a)
(a) *Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*
(b) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Introduzione

La dermatite allergica da contatto (DAC) è legata alla presenza di Ni e altri metalli come Co, Cr, Cu, Ag, Au, Pd e Rh nelle leghe utilizzate per la produzione di vari tipi di oggetti che quotidianamente entrano in contatto con la nostra pelle. Il potere corrosivo del sudore provoca la migrazione del metallo dall'oggetto consentendone la sua penetrazione attraverso la pelle e favorendo il rischio di sensibilizzazione al metallo stesso. Gli oggetti metallici responsabili di sensibilizzazione sono gioielli, bigiotteria e piercing (orecchini, collane, bracciali, spille, orologi, ecc.) o accessori quali bottoni, fermagli, cerniere lampo, spille e fibbie (1-4).

I metalli preziosi quali Ag, Au, Pt, Pd e Rh sono frequentemente utilizzati nelle leghe per gioielleria e nella placcatura degli oggetti e nonostante essi siano stabili nella forma metallica, i loro sali sono in grado di essere irritanti o allergenici a contatto con la pelle (5-7).

Statisticamente il Ni contenuto negli oggetti metallici è responsabile della maggior parte dei casi di sensibilizzazione, ma esistono anche eventi di irritazione dovuti ad oggetti contenenti Ag, Au, Co, Cu, Pd, Rh, ecc. La biodisponibilità dell'allergene è essenziale per indurre l'allergia da contatto. In più di un lavoro è stato sperimentato come i metalli siano facilmente ionizzati quando esposti al sudore creando le condizioni necessarie per generare sensibilizzazione. Inoltre, la presenza di un metallo prezioso in una lega aumenta la ionizzazione di un metallo non prezioso. Per esempio, quando alcuni oggetti di bigiotteria contenenti Au sono immersi in sudore sintetico essi sono capaci di rilasciare Cu e Zn ed in qualche caso Ag, Cd e Ni (8). Una collana contenente Co è in grado di rilasciare in una soluzione simulante il sudore (SSS) una quantità del metallo pari a 40000 volte la dose minima di sensibilizzazione (9). La donna che portava tale collana mostrava un eczema vescicolare nella zona del petto in contatto con l'oggetto. Un altro studio ha osservato il rilascio di Cu, Ni e Zn dalle monete da 1 e 2 Euro mostrando come la moneta corrente possa essere una fonte di esposizione a metalli allergenici (10). Un impiegato di una sala bingo a causa del Cu contenuto nelle monete da 2 Euro ha sviluppato DAC sulle punte delle dita e sulle palpebre ed è risultato positivo al *patch test* con solfato di Cu (11). In maniera del tutto simile, un gioielliere ha sviluppato DAC indotta dall'Ag dopo manipolazione continua e quindi esposizione prolungata al metallo stesso (12).

Altri studi clinici hanno mostrato sviluppo di granulomi ai lobi dell'orecchio indotti da Pd presente in orecchini e noduli intracutanei dovuti ad orecchini contenenti Au (13, 14). Per fare qualche altro esempio, è stata registrata l'esistenza di casi di ipersensibilità dovuta alla sinergia tra Au contenuto in orecchini e Hg (15, 16), e casi di reattività cutanea allo Sn in persone che avevano dato risposta negativa al Ni (17).

In quest'ottica, per ridurre la diffusione della DAC indotta da Ni, la presenza e il rilascio di questo metallo da oggetti che entrano in contatto diretto e continuativo con la pelle è stata regolamentata dalla Direttiva del Consiglio 94/27/CE. Tale documento riporta un limite dello

0,05% (ossia, 500 µg/g) per il contenuto totale di Ni nelle leghe e un tasso massimo di rilascio di Ni pari a 0,5 µg/cm²/settimana nella SSS. Successivamente, per aumentare la protezione del consumatore, la Direttiva della Commissione 2004/96/CE ha limitato ancora di più il tasso di rilascio del Ni portandolo a 0,2 µg/cm²/settimana (18, 19). Per quello che riguarda gli altri metalli in grado di indurre effetti sensibilizzanti, non c'è ancora nessuna legislazione che ne limita il contenuto e/o il rilascio negli oggetti metallici destinati al contatto con la pelle.

Tuttavia, dopo più di dieci anni dall'emanazione della Direttiva rimane ancora da verificare la reale efficacia di tale normativa nella riduzione della DAC da Ni. In Danimarca è stata osservata una diminuzione dell'allergia da Ni dal 24,8% al 9,2% e in Germania dal 36,7% al 25,8% (20, 21). Nonostante ciò, altri lavori confermano come vari oggetti metallici destinati al contatto con la pelle e venduti in paesi coperti dalla Direttiva Europea continuano a dare luogo a sensibilizzazioni e DAC dovute al Ni (22, 23). Anche gli oggetti che riportano in etichetta la dicitura "esenti da Ni" sono responsabili di fenomeni di sensibilizzazione; per esempio, un orecchino (dichiarato essere "esente da Ni") placcato in Rh ha provocato eritema essudativo e prurito al lobo dell'orecchio; con l'uso quotidiano dell'oggetto lo strato di Rh si è consumato favorendo il rilascio del Ni e il suo assorbimento attraverso la pelle (24).

Il presente studio è volto alla caratterizzazione delle leghe utilizzate per la produzione di orecchini e al confronto dei dati relativi alla composizione totale metallica e al rilascio in sudore sintetico con i requisiti delle Direttive in vigore. Gli obiettivi dello studio sono stati i seguenti: 1) caratterizzazione delle leghe tramite microscopio elettronico a scansione (SEM) equipaggiato con uno spettrometro a dispersione di energia a raggi X (EDX); 2) quantificazione della concentrazione di Ni e del suo rilascio nella SSS tramite spettrometria di massa ad alta risoluzione con plasma accoppiato induttivamente (SF-ICP-MS), 3) quantificazione della concentrazione totale e del rilascio di Al, Ag, Au, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ir, Mn, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Sn, V e Zn tramite SF-ICP-MS.

Materiali e metodi

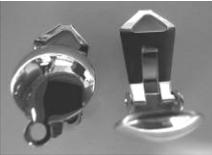
Campioni e reagenti

La Tabella 1 riporta le foto dei dieci componenti per orecchini selezionati per questo studio. Gli articoli, acquistati in negozi di Roma, sono stati scelti al fine di rappresentare i modelli più venduti (ami semplici, monachelle, clip e perni con pallina). Tutti i componenti sono stati venduti come "esenti da Ni". L'HNO₃ e l'HCl sono stati usati per distruggere gli oggetti al fine di quantificare il contenuto totale del metallo in ciascuno di essi. Per le prove di rilascio nella SSS sono stati usati il NaCl, l'acido lattico e l'urea e l'NH₃. Per la diluizione dei campioni e dei calibranti è stata utilizzata acqua deionizzata ad alta purezza. I calibranti sono stati preparati diluendo opportunamente le soluzioni monoelementari standard alla concentrazione di 1 mg/mL.

Strumentazione e prestazioni del metodo

L'analisi tal quale dei campioni è stata effettuata tramite SEM-EDX. Sono stati utilizzati ingrandimenti da 40 a 2000x con un fascio di energia di 15 keV. Lo spettro EDX (0-15 keV) è stato acquisito per rilevare la presenza nei campioni dei metalli prescelti. L'intensità delle linee caratteristiche dei raggi X sono state convertite nella corrispondente concentrazione atomica utilizzando il metodo di correzione ZAF per ciascun elemento.

Tabella 1. Caratteristiche dei componenti per orecchini di bigiotteria

Oggetto (n.)		Modello	Placcatura
1		amo semplice	Au
2		amo semplice	Ag
3		amo semplice	nessuna
4		monachella	Au
5		monachella	Ag
6		clip	Au
7		clip	Ag
8		perno con pallina	Ag
9		perno con pallina	Au
10		perno con pallina	Ag

Per la digestione totale dei campioni è stato impiegato un forno a microonde con contenitori in Teflon. Un bagno termostato è stato usato per gli esperimenti relativi al rilascio nella SSS.

L'analisi delle soluzioni digerite contenenti il metallo è stato effettuata tramite SF-ICP-MS dotato di nebulizzatore di vetro tipo Meinhard, camera di Scott raffreddata, torcia schermata con un foglio di platino (il *guard electrode*) e coni di platino all'interfaccia. L'analisi è stata eseguita impostando la potenza della radiofrequenza a 1,2 kW, il flusso di gas (argon) al plasma pari a 14,0 L/min, quello del gas ausiliario a 1,0 L/min e quello del gas al nebulizzatore a 0,90 L/min. Sono state usate le seguenti masse analitiche (m/z): ^{109}Ag ; ^{27}Al ; ^{197}Au ; ^{111}Cd ; ^{59}Co ; ^{52}Cr ; ^{63}Cu ; ^{56}Fe ; ^{193}Ir ; ^{55}Mn ; ^{60}Ni ; ^{208}Pb ; ^{105}Pd ; ^{195}Pt ; ^{103}Rh ; ^{120}Sn ; ^{51}V e ^{64}Zn . Le scansioni sono state effettuate utilizzando due impostazioni di risoluzione di massa: la bassa risoluzione (BR, 300 m/ Δ m) per gli elementi non interferiti (Ag, Au, Cd, Ir, Pb, Pt e Sn) e la media risoluzione (MR, 4000 m/ Δ m) per gli elementi interferiti (Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pd, Rh, V e Zn) da specie poliatomiche. Tali specie sono prodotte da una combinazione di isotopi provenienti dal plasma, dalla matrice e dai reagenti, e tra le più importanti vanno menzionate le seguenti: CN, ArN,

ArNH che coprono i segnali di Al, Cr, Mn e V; ClO e ClOH che si sovrappongono ai segnali di Cr, Mn e V; ZnCl e ArCu che interferiscono con le masse di Pd e Rh; ClN che cade sulle masse di V e Cr. Inoltre, l'elevato contenuto di Ca, K, Na e Mg nella SSS utilizzata per il rilascio può, durante l'analisi, produrre ossidi, cloruri e argidi che interferiscono con la quantificazione di Co, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn. Lavorando ad una risoluzione maggiore (4000 m/ Δ m anziché 300 m/ Δ m) è stato possibile separare il picco dell'analita dai picchi degli interferenti sopracitati ottenendo un segnale specifico per l'analita di interesse.

Al fine di mantenere sotto controllo l'effetto matrice, la retta di calibrazione è stata costruita in matrice su 5 livelli differenti di concentrazione. Per controllare eventuali derive strumentali, un campione di controllo è stato misurato più volte durante la sequenza analitica dando variazioni medie intorno al 7%. Il limite di quantificazione del metodo è stato calcolato col criterio del 10σ ottenendo valori pari o al di sotto di 5 ng/g per Ag, Au, Cd, Co, Ir, Pb, Pd, Pt, Rh, Sn e V e di circa 10 ng/g per Al, Cr, Mn e Ni. I limiti per Cu, Fe e Zn sono più alti (circa 25 ng/g), ma comunque molto al di sotto delle concentrazioni di questi metalli negli oggetti in studio.

Trattamento dei campioni

Per l'analisi SEM-EDX gli oggetti sono stati analizzati senza essere distrutti. Al fine di una migliore e più precisa caratterizzazione di ogni campione, l'analisi è stata effettuata sia sulla sua superficie tal quale che dopo raschiamento della superficie per valutare la composizione metallica degli strati più interni.

Per l'analisi SF-ICP-MS i campioni sono stati pesati nei contenitori di Teflon e, dopo aggiunta di una miscela di HNO₃ e HCl (6+3 v/v), sono stati sottoposti a microonde usando il seguente ciclo di potenza: 10 min a 250W, 5 min a 400W, 5 min a 500W e 5 min a 600W. Dopo il raffreddamento, i campioni sono stati quantitativamente trasferiti in provette di plastica e diluiti fino ad un volume finale di 15 mL con acqua.

Gli oggetti sono stati sottoposti a prove per verificare il rilascio dei metalli nella SSS. Tale soluzione era composta da una soluzione acquosa di urea allo 0,1%, di NaCl allo 0,5% e di acido lattico allo 0,1%. Una soluzione di NH₃ all'1% è stata utilizzata per regolare il pH della soluzione al valore di 6,5. Ogni orecchino è stato lasciato a bagno nella SSS nel rapporto 1:1 (cioè, 1 mL di soluzione per 1 cm² di superficie dell'oggetto) a 30 °C per 1 settimana. I dettagli del metodo sono riportati nella norma UNI EN 1811 (25). Le soluzioni così ottenute sono state analizzate tramite SF-ICP-MS.

Risultati e discussione

Caratterizzazione degli oggetti tramite l'analisi SEM-EDX

Gli ami semplici (n. 1 e 3) e le monachelle (n. 4 e 5) risultano avere la stessa composizione metallica di base, vale a dire sono leghe binarie di Cu e Zn. La superficie del campione n. 1 è uniformemente rivestita da un sottile strato di Au contenente una piccola percentuale di Pd (Figura 1); L'amo n. 2 è costituito da Fe ricoperto da uno strato di Ni. La placcatura è data da uno strato sottile di Ag (Figura 2a e 2b).

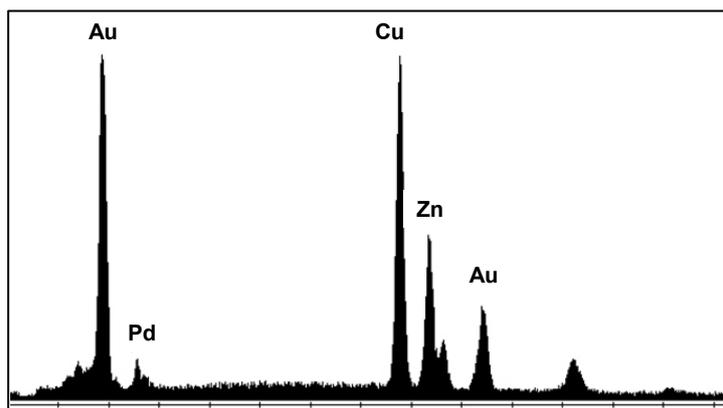


Figura 1. Spettro EDX dell'amo semplice n. 1. Parte interna in Cu/Zn e rivestimento in Au

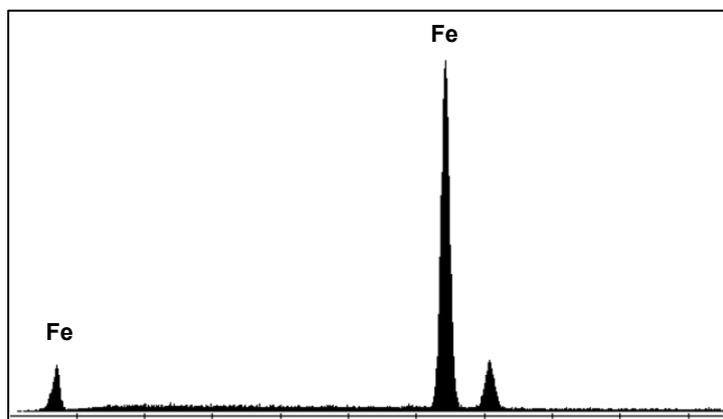


Figura 2a. Spettro EDX dell'amo semplice n. 2. Parte interna di solo Fe

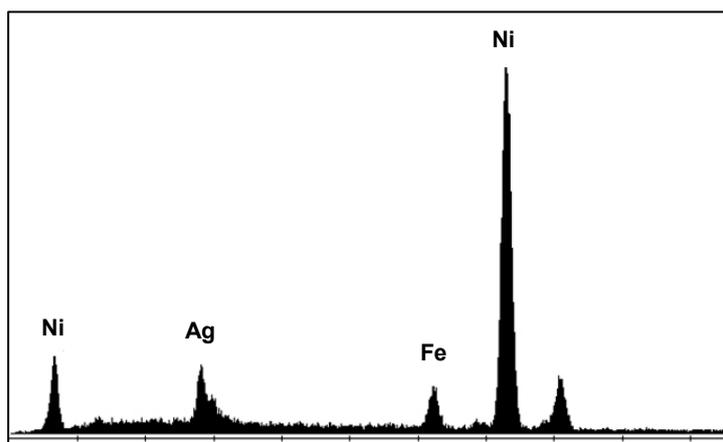


Figura 2b. Spettro EDX dell'amo semplice n. 2. Strato intermedio di Ni placcato in Ag

L'amo n. 3 è costituito sia all'interno che all'esterno da Cu e Zn, non si nota alcuna placcatura. Le monachele n. 4 e n. 5 presentano un rivestimento di Sn al di sopra del nucleo in Cu-Zn; più esternamente è presente una placcatura in Au nel campione n. 4 e una placcatura in Ag nel campione n. 5.

Le clip n. 6 e n. 7 mostrano una struttura metallica di base diversa a seconda delle diverse parti dell'oggetto (sfera e fermo per la chiusura), ma il Ni è sempre presente come strato intermedio. Nel campione n. 6, la sfera è costituita internamente da Fe ed esternamente è placcata in Au, mentre lo strato intermedio è costituito da Ni (Figura 3). Il fermo è di Cu e Zn, ricoperto da Ni e più esternamente da Au.

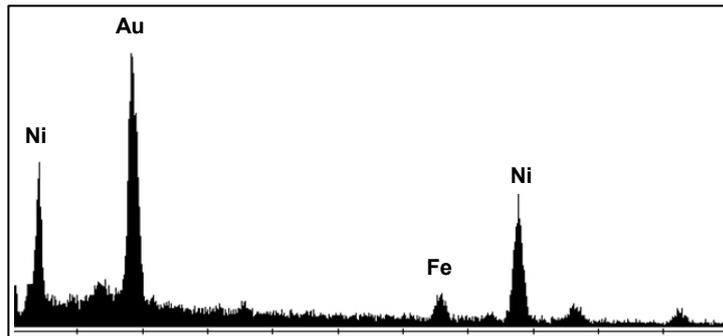


Figura 3. Spettro EDX della clip n. 6. Strato intermedio di Ni placcato in Au

Nel campione n. 7, la sfera è costituita da Fe, ricoperta da uno strato di Ni a sua volta rivestito da un sottile strato di Ag, mentre il fermo è una lega di Cu e Zn ricoperti di Ni ed esternamente da Ag.

I perni con pallina n. 8-10 mostrano una differente composizione metallica a seconda della zona in esame (pallina, perno e fermo). Nel campione n. 8, il perno è una lega di Fe-Cr-Ni, la pallina e il fermo sono leghe Cu-Zn ricoperte da uno strato di Ag (Figura 4).

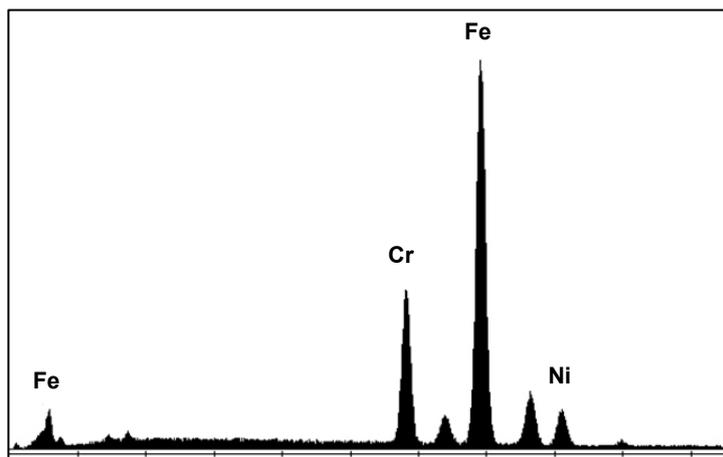


Figura 4. Spettro EDX del perno con pallina n. 8. Composizione in acciaio

Nel campione n. 9 il perno è costituito da Fe, Cr e Ni, mentre la pallina e il fermo sono di Cu e Zn nella parte interna e sono rivestiti di Au in superficie. Nel campione n. 10 il perno ha un nucleo di Fe-Cr-Ni ricoperto di Zn, mentre la placcatura esterna è in Ag; il fermo e la pallina sono di Cu e Zn placcati in Ag.

I dati mostrano che i componenti per orecchini hanno una struttura metallica diversa a seconda della parte analizzata. Il nucleo è di ottone binario (Cu-Zn) o di solo Fe o di acciaio (Fe-Cr-Ni); i rivestimenti sono costituiti da strati sottili di metallo prezioso (Ag o Au). In alcuni casi, il metallo prezioso non è stato depositato direttamente sul nucleo, ma è stato applicato sopra uno strato intermedio di Ni. Poiché il rivestimento di Ag o di Au è molto sottile, può essere verosimile pensare che, durante l'uso quotidiano dell'oggetto, le placature possano consumarsi facilmente favorendo il contatto tra la pelle e lo strato sottostante di Ni.

Concentrazione di nichel totale e quantità rilasciata nel sudore artificiale

La Tabella 2 mostra la quantità di Ni contenuta in ciascun campione e quella rilasciata nel sudore artificiale.

L'analisi del totale evidenzia la presenza di Ni in tutti gli oggetti e in cinque di essi (n. 2, 0,61%; n. 6, 0,21%; n. 7, 0,27%; n. 8, 0,48%; e n. 10, 0,069%) la quantità di Ni supera il limite imposto dalla Direttiva (<0,05%). Questi dati ricalcano pienamente quanto ottenuto con l'analisi a raggi X.

Tabella 2. Contenuto totale di Ni e suo rilascio da orecchini di bigiotteria

Oggetto (n.)	Totale ^a (µg/g)	Rilascio ^b (µg/cm ² /settimana)
1	172 ± 16	0,154 ± 0,011
2	6066 ± 355	4,62 ± 0,25
3	53,9 ± 2,1	0,194 ± 0,015
4	42,4 ± 1,2	0,021 ± 0,001
5	47,1 ± 1,5	0,088 ± 0,005
6	2153 ± 184	225 ± 14
7	2763 ± 200	10,9 ± 0,3
8	4791 ± 153	0,030 ± 0,002
9	396 ± 24	0,058 ± 0,003
10	686 ± 44	0,032 ± 0,002

^a <0,05% (ovvero <500 µg/g), come riportato nella Direttiva 94/27/CE

^b <0,5 µg/cm²/settimana, come riportato nella Direttiva 94/27/CE

L'analisi delle soluzioni di rilascio indica che tutti i campioni cedono quantità misurabili di Ni. In particolare, solo in tre casi il Ni è inferiore a 0,05 µg/cm²/settimana rispettando il limite fissato dalla Direttiva. Gli altri sette oggetti superano tale limite: i n. 1, 3, 5 e 9 rilasciano tra 0,06 e 0,19 µg Ni/cm²/settimana, il n. 2 rilascia 4,62 µg Ni/cm²/settimana, il n. 7 cede 10,9 µg Ni/cm²/settimana e il n. 6 rilascia più di 200 µg Ni/cm²/settimana.

Le clip n. 6 e n. 7, uguali nella forma, sono il tipo di orecchino che rilascia la più alta quantità di Ni. La clip placcata in Au cede più Ni di quella in Ag. In questo contesto, Kanerva *et al.* hanno osservato un rilascio di Ni da orecchini rivestiti in Au (ovvero, 142-165 µg/cm²/settimana) maggiore di quello da orecchini ricoperti in Ag (ovvero, 0,8-0,9 µg/cm²/settimana) (3).

La Figura 5 mostra il confronto tra i risultati del Ni totale e del Ni rilasciato dagli oggetti e i livelli limite indicati nelle Direttive 94/27/CE e 2004/96/CE. Dalla figura emerge che quattro leghe (n. 2, 6, 7 e 8) contengono un livello di Ni totale da 4 a 12 volte superiore al limite

regolamentato. Tra questi quattro oggetti, tre di essi (n. 2, 6 e 7) rilasciano Ni non solo al di sopra del limite di $0,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ ma lo rilasciano in quantità molto più alta di $0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$. Vale la pena notare che alcuni campioni (ad esempio, n. 8 e 10), pur contenendo una concentrazione totale di Ni più alta del consentito, rilasciano nel sudore concentrazioni di Ni più basse dei limiti previsti. In questi oggetti il Ni è un componente della lega in acciaio e, probabilmente, per questo motivo è molto più stabile e meno soggetto a migrare dalla lega al sudore. In altri casi, la presenza del Ni a livello più superficiale (campioni n. 2, 6 e 7) rende molto più possibile la tendenza alla migrazione.

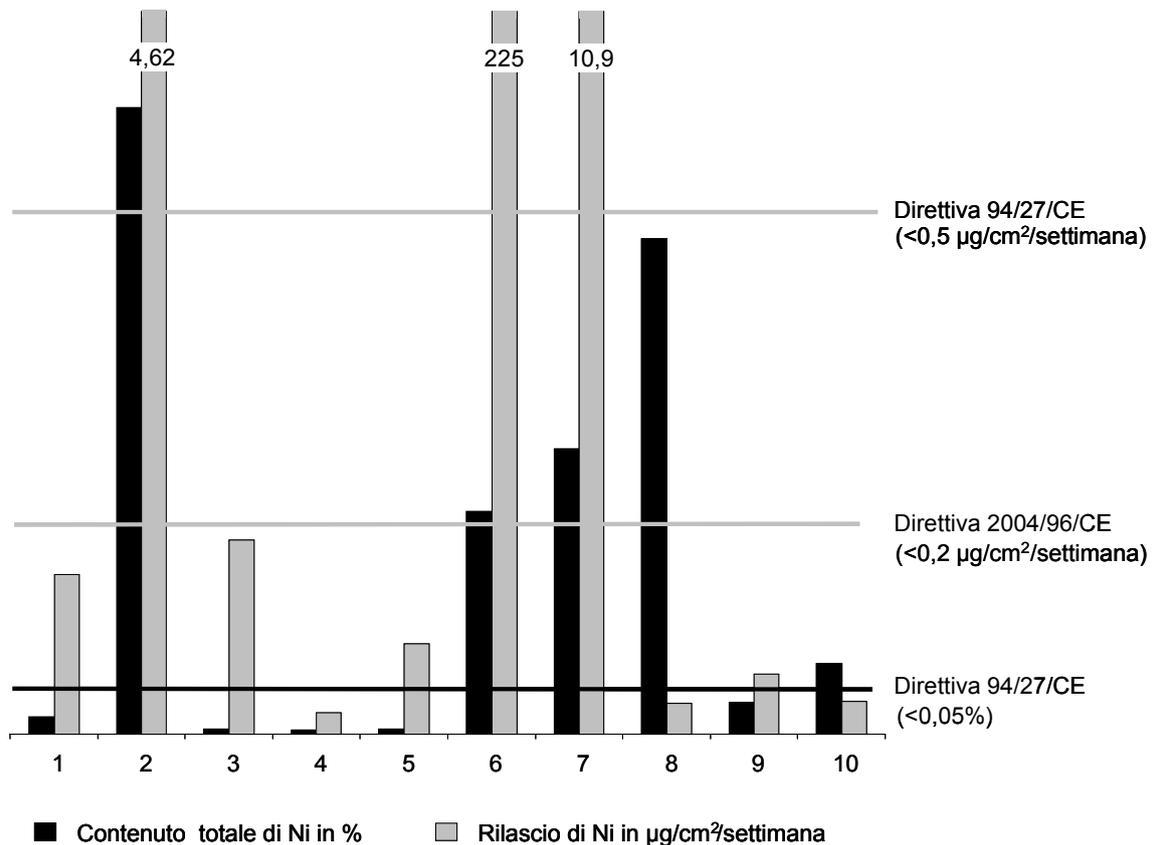


Figura 5. Confronto tra i valori del Ni nei 10 componenti per orecchini e i limiti indicati nelle Direttive 94/27/CE e 2004/96/CE

Un precedente studio condotto nel 1989 in Italia prima dell'introduzione dei regolamenti, ha riportato un rilascio medio di Ni pari a $1024 \mu\text{g}/\text{settimana}$ per le monachelle e $1075 \mu\text{g}/\text{settimana}$ per le clip, seppure in tale studio le superfici degli oggetti non venivano riportate (26). Comunque, considerata la somiglianza tra gli oggetti campionati nel precedente lavoro e quelli da noi campionati, è stata tentata una conversione dei dati da $\mu\text{g}/\text{settimana}$ a $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ utilizzando il valore delle superfici delle monachelle e delle clip analizzate da noi. Tramite questo approccio, il rilascio di Ni è stato di circa $700 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ per le monachelle e circa $300 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ per le clip; ciò indica che la bigiotteria campionata due decenni fa era in grado di rilasciare molto di più della bigiotteria campionata oggi. I nostri dati sono simili a quelli riportati da Fischer *et al.* ($0,05\text{-}442 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) ottenuti su un campione di orecchini (27). Haudrechy *et al.* hanno misurato un rilascio di Ni pari a 100

$\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ da un acciaio rivestito di Ni (28), mentre Menné *et al.* hanno riscontrato rilasci di Ni pari a 20-30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ da una lega di Ag e Ni, a 0,3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ da una lega di Au bianco e a 0,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ da una lega di Ni e Sn (29).

Concentrazione totale di altri metalli e quantità rilasciata nel sudore artificiale

Negli oggetti selezionati, la tecnica SF-ICP-MS è stata utilizzata per quantificare gli elementi minori come Al, Cd, Cr, Co, Ir, Mn, Pb, Pd, Pt, Rh, Sn e V e tali dati sono andati ad integrare quelli ottenuti tramite l'analisi a raggi X.

L'Al è stato quantificato nell'amo n. 2 (8 $\mu\text{g}/\text{g}$) e nelle clip n. 6 e 7 ad un livello di circa 100 $\mu\text{g}/\text{g}$. Il Cd è stato trovato nei perni con pallina n. 8-10 (Cd, circa 33 $\mu\text{g}/\text{g}$) e in minore quantità negli ami n. 1-3 (160-1700 ng/g); il V è presente nei perni con palline n. 8-10 (circa 14 $\mu\text{g}/\text{g}$) e nell'amo semplice in Ag n. 2 (10,4 $\mu\text{g}/\text{g}$). Il Pb mostra una concentrazione massima nei perni con pallina n. 9 e n. 10 (circa 10000 $\mu\text{g}/\text{g}$) mentre negli altri oggetti è al di sotto di 150 $\mu\text{g}/\text{g}$. I perni con pallina (n. 8-10) hanno anche mostrato la più alta concentrazione di Cr (circa 8500 $\mu\text{g}/\text{g}$). Quantità più basse di Cr sono state osservate nelle due clip (n. 6: 37,5 $\mu\text{g}/\text{g}$; n. 7: 574 $\mu\text{g}/\text{g}$) e nell'amo in Ag (n. 2: 209 $\mu\text{g}/\text{g}$). L'amo in Ag n. 2 conteneva anche la più alta concentrazione di Co (29,7 $\mu\text{g}/\text{g}$) e Mn (2080 $\mu\text{g}/\text{g}$). In tutti gli altri componenti il Co è stato trovato a concentrazioni inferiori a 20 $\mu\text{g}/\text{g}$ mentre il Mn era al di sotto di 600 $\mu\text{g}/\text{g}$. Lo Sn è stato quantificato sia nelle due monachelle (circa 4000 $\mu\text{g}/\text{g}$) che nei due perni con pallina (n. 9 e 10) a livello di 1300 $\mu\text{g}/\text{g}$.

Come previsto, dato che il campionamento è stato dedicato a bigiotteria a basso costo, i metalli preziosi sono presenti a concentrazioni molto basse in tutti gli oggetti con il seguente ordine di abbondanza: Rh (media di 8,18 $\mu\text{g}/\text{g}$) > Pd (media di 0,46 $\mu\text{g}/\text{g}$) > Pt (media di 0,014 $\mu\text{g}/\text{g}$) > Ir (<0,005 $\mu\text{g}/\text{g}$). In questo contesto l'amo n. 1 placcato in Au contiene un'alta concentrazione di Pd (158 $\mu\text{g}/\text{g}$) confermando l'analisi a raggi X (vedi Figura 1), mentre gli ami n. 2 e 3 contengono Pt (0,7 $\mu\text{g}/\text{g}$).

La Tabella 3 riporta la quantità dei metalli rilasciata nel sudore sintetico. Rame, Fe e Zn sono rilasciati da tutti i campioni, e la percentuale di rilascio varia di molto fra gli oggetti e varia anche all'interno della stessa tipologia di oggetto. Se consideriamo le concentrazioni mediane lo Zn è l'elemento più rilasciato dalle leghe (32,9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) seguito dal Cu (4,65 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) e poi dal Fe (0,305 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$). L'amo n. 2, che ha il più basso contenuto totale di Cu e Zn, ha mostrato bassi valori di rilascio per entrambi gli elementi.

La clip placcata in Au (n. 6) rilascia quantità di Cu, Fe e Zn molto più alte della clip rivestita in Ag (n. 7). Per quello che riguarda l'Ag, solamente tre oggetti lo rilasciano a basse concentrazioni. Il Pb, invece, viene rilasciato da quasi tutti gli oggetti con un massimo di rilascio nell'amo n. 2 (0,25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$).

Per quanto concerne gli altri metalli, rilasci di Al, Cd, Co, Cr e Sn sono stati osservati nel 30% - 40% dei campioni con concentrazioni sempre inferiori a 0,2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$. Il rilascio di Mn va da 0,72 a 21,7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$. I più alti rilasci di Co (0,18 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$), Cr (0,25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) e Mn (21,7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) si osservano per l'oggetto n. 2. Infine, non si osservano cessioni di Au, Ir, Pt, Pd e Rh da nessuno dei campioni investigati.

I nostri dati sono in accordo con un precedente lavoro dove il Cu e lo Zn veniva ceduto dalla maggior parte dei gioielli in Au, mentre Au, Rh e Pd non venivano mai ceduti e Ag e Ni solo in pochi casi (8).

Considerando anche la Tabella 2, gli oggetti n. 2, 6 e 7, oltre a rilasciare il più alto quantitativo di Ni, cedono alte concentrazioni di altri metalli. Infatti, l'amo n. 2 mostra il maggior rilascio di Ag, Co, Cr, Mn, Pb e V, e le clip rilasciano le più alte concentrazioni di Fe.

**Tabella 3. Rilascio di altri metalli (in $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) da 10 componenti per orecchini *
(in parentesi la deviazione standard)**

Ogg. n.	Ag	Al	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Pb	Sn	V	Zn
1	nr	nr	0,015 (0,001)	nr	nr	8,88 (0,51)	0,033 (0,002)	nr	0,009 (0,001)	nr	nr	103 (9)
2	0,078 (0,002)	0,015 (0,001)	nr	0,181 (0,010)	0,253 (0,014)	0,117 (0,007)	0,320 (0,015)	21,7 (1,1)	0,253 (0,013)	nr	0,015 (0,001)	0,262 (0,011)
3	nr	nr	0,008 (0,001)	0,013 (0,001)	nr	16,7 (0,9)	0,773 (0,029)	nr	0,015 (0,001)	nr	nr	81,3 (3,8)
4	nr	nr	nr	nr	nr	16,4 (1,1)	0,400 (0,014)	nr	nr	nr	nr	22,6 (1,1)
5	nr	nr	nr	nr	nr	1,99 (0,02)	0,173 (0,009)	nr	nr	0,015 (0,001)	nr	160 (12)
6	nr	0,083 (0,006)	nr	0,166 (0,011)	0,035 (0,003)	30,9 (2,2)	586 (36)	1,55 (0,09)	0,017 (0,002)	nr	nr	29,7 (1,9)
7	nr	0,071 (0,002)	nr	0,025 (0,002)	0,019 (0,002)	0,134 (0,008)	358 (22)	0,717 (0,026)	0,010 (0,001)	nr	nr	0,141 (0,009)
8	0,004 (0,001)	nr	nr	nr	nr	3,90 (0,14)	0,290 (0,011)	nr	nr	nr	nr	18,5 (1,3)
9	nr	nr	nr	nr	nr	5,40 (0,29)	0,116 (0,008)	nr	0,006 (0,001)	0,020 (0,002)	nr	41,9 (3,4)
10	0,003 (0,001)	nr	0,011 (0,001)	nr	nr	0,796 (0,041)	0,072 (0,002)	nr	0,056 (0,002)	0,026 (0,003)	nr	36,0 (2,8)

* nessuno degli oggetti studiati ha rilasciato Au e gli EGP; nr: non rilasciato.

Conclusioni

I componenti per orecchini di bigiotteria sono costituiti da differenti leghe metalliche (Cu-Zn e Fe-Cr-Ni) o da solo Fe. Tali materiali sono rivestiti da uno strato sottile di metallo nobile (Ag o Au). In alcuni casi, il metallo nobile è depositato sopra uno strato di Ni. Dato che gli strati di rivestimento superficiali sono piuttosto sottili, l'uso quotidiano dell'oggetto potrebbe consumare tali strati ed esporre la pelle al Ni ponendo le basi per una possibile sensibilizzazione.

In questo contesto, il 50% della bigiotteria campionata contiene Ni ad una concentrazione superiore allo 0,05% evidenziando, quindi, una non conformità con la Direttiva 94/27/CE. Inoltre, il 30% degli oggetti rilasciano nel sudore artificiale un livello di Ni superiore al limite allergologico di sicurezza riportato nella stessa Direttiva ($<0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$). Rame, Fe e Zn sono rilasciati da tutti i campioni, Pb dal 70% di essi e Ag, Al, Cd, Co, Cr, Mn e Sn dal 30%. Il V è rilasciato da un solo oggetto e per Au, Ir, Pd, Pt e Rh non sono state osservate cessioni. Questo studio ha prodotto dati sulla presenza del Ni e di altri metalli in grado di produrre sensibilizzazione della pelle in oggetti di bigiotteria venduti sul mercato italiano dopo l'introduzione delle Direttive sul Ni. I risultati evidenziano che esiste la necessità di ulteriori sforzi da parte dell'industria per uniformarsi alle normative e degli organi di controllo per sorvegliare il rispetto delle norme al fine di una migliore salvaguardia della salute dei consumatori.

Bibliografia

1. Dotterud LK, Falk ES. Metal allergy in north Norwegian schoolchildren and its relationship with ear piercing and atopy. *Contact Dermatitis* 1994;31:308-13.
2. Ehrlich A, Kucenic M, Belsito DV. Role of body piercing in the induction of metal allergies. *Am J Contact Dermat* 2001;12:151-5.
3. Kanerva L, Sipiläinen-Malm T, Estlander T, Zitting A, Jolanki R, Tarvainen K. Nickel release from metals, and a case of allergic contact dermatitis from stainless steel. *Contact Dermatitis* 1994;31:299-303.
4. Menné T. Quantitative aspects of nickel dermatitis. Sensitization and eliciting threshold concentrations. *Sci Total Environ* 1994;148:275-81.
5. Vilaplana J, Romaguera C. New development in jewellery and dental materials. *Contact Dermatitis* 1998;39:55-7.
6. Cristaudo A, Sera F, Severino V, De Rocco M, Di Lella E, Picardo M. Occupational hypersensitivity to metal salts, including platinum, in the secondary industry. *Allergy* 2005;60:159-64.
7. Ehrlich A, Belsito DV. Allergic contact dermatitis to gold. *Cutis* 2000;65:323-6.
8. Lidén C, Nordenadler M, Skare L. Metal release from gold-containing jewellery materials: no gold release detected. *Contact Dermatitis* 1998;39:281-5.
9. Hindsén M, Persson L, Gruvberger B. Allergic contact dermatitis from cobalt in jewellery. *Contact Dermatitis* 2005;53:350-1.
10. Fournier P-G, Govers TR. Contamination by nickel, copper and zinc during the handling of euro coins. *Contact Dermatitis* 2003;48:181-8.
11. Paredes Suárez C, Fernández-Redondo V, Toribio J. Bingo-hall worker's occupational copper contact dermatitis from coins. *Contact Dermatitis* 2002;47:182.
12. Agarwal S, Gawkrödger DJ. Occupational allergic contact dermatitis to silver and colophonium in a jeweller. *Am J Contact Dermat* 2002;13:74.
13. Goossens A, De Swerdt A, De Connick K, Snauwert JE, Dedeurwaerder M, De Bonte M. Allergic contact granuloma due to palladium following ear piercing. *Contact Dermatitis* 2006;55:338-41.
14. Conde-Taboada A, Rosón E, Fernández-Redondo V, García-Doval I, De La Torre C, Cruces M. Lymphomatoid contact dermatitis induced by gold earrings. *Contact Dermatitis* 2007;56:179-81.
15. Osawa J, Kitamura K, Ikezawa Z, Hariya T, Nakajima H. Gold dermatitis due to ear piercing: correlations between gold and mercury hypersensitivities. *Contact Dermatitis* 1994;31:89-91.
16. Nakada T, Iijima M, Fujisawa R, Nakayama H. Cross hypersensitivity to ionized mercury and not to non-ionized mercury with gold dermatitis patients caused by ear piercing. *J Invest Dermatol* 1993;101:473.
17. de Fine Olivarius F, Baslev E, Menné T. Skin reactivity to tin chloride and metallic tin. *Contact Dermatitis* 1993;29:110-1.
18. Direttiva 94/27/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 30 giugno 1994 che stabilisce la dodicesima modifica della direttiva 76/769/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati Membri relative alla limitazione dell'immissione sul mercato e dell'uso di talune sostanze e preparati pericolosi. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea serie L 188 del 27/7/1994, p. 1-2.
19. Direttiva 2004/96/CE della Commissione, del 27 settembre 2004, recante modifica della direttiva 76/769/CEE del Consiglio per quanto riguarda le restrizioni in tema di commercializzazione e

- uso di nickel in oggetti metallici utilizzati nelle parti perforate ai fini dell'adeguamento dell'allegato I al progresso tecnico. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea serie L 301 del 28/8/2004, p. 51-52.
20. Jensen CS, Lisby S, Baadsgaard O, Vølund A, Menné T. Decrease in nickel sensitization in a Danish schoolgirl population with ears pierced after implementation of a nickel-exposure regulation. *Br J Dermatol* 2002;146:636-42.
 21. Schnuch A, Uter W. Decrease in nickel allergy in Germany and regulatory interventions. *Contact Dermatitis* 2003;49:107-8.
 22. Storace M, Militello G, Pazzaglia M, Vincenti C, Tosti A. Allergic contact dermatitis to nickel in a hair clasp. *Contact Dermatitis* 2007;56:290.
 23. Thyssen JP, Jensen P, Johansen JD, Menné T. Contact dermatitis caused by nickel release from hair clasps purchased in a country covered by the EU Nickel Directive. *Contact Dermatitis* 2009;60:180-1.
 24. Foti C, Amoroso A, Cassano N, Vena GA. Contact sensitization to nickel from rhodium-plated "nickel-free" earrings. *Contact Dermatitis* 2002;46:309.
 25. UNI EN 1811. *Metodo di prova di riferimento per il rilascio di nichel da articoli che vengono in contatto diretto e prolungato con la pelle*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2000.
 26. Santucci B, Ferrari PV, Cristaudo A, Cannistraci C, Picardo M. Nickel dermatitis from cheap earrings. *Contact Dermatitis* 1989;21: 245-8.
 27. Fischer T, Fregert S, Gruvberger B, Rystedt I. Nickel release from ear piercing kits and earrings. *Contact Dermatitis* 1984;10:39-41.
 28. Haudrechy P, Fossereau J, Mantout B, Baroux B. Nickel release from nickel-plated metals and stainless steels. *Contact Dermatitis* 1994;31:249-55.
 29. Menné T, Brandrup F, Thestrup-Pedersen K, Veien NK, Andersen JR, Yding F, Valeur G. Patch test reactivity to nickel alloys. *Contact Dermatitis* 1987;16:255-9.

CARATTERIZZAZIONE E RILASCIO DI METALLI ALLERGENI DAI PIERCING

Beatrice Bocca (a), Stefano Caimi (a), Oreste Senofonte (a), Francesco Petrucci (a), Roberta Feliciani (a), Maria Rosaria Milana (a), Barbara De Berardis (b), Luigi Paoletti (b), Giovanni Forte (a)
(a) *Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*
(b) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Introduzione

In questi ultimi anni l'uso del piercing tra i giovani è in costante aumento, e con esso, la preoccupazione per il rischio allergologico associato. La maggior parte dei piercing sono fatti solitamente in acciaio inossidabile, ma possono essere anche di Au, Pt, Ti o di altre leghe. L'acciaio inossidabile, anche se raramente, può causare reazioni allergiche cutanee poiché alcuni degli oggetti in acciaio non sono totalmente esenti da Ni. L'Au viene spesso utilizzato in combinazione con il Ni o con altri metalli così da conferire alla lega una maggiore durezza e durata. Inoltre, molti oggetti di gioielleria vengono costruiti associando ad un metallo prezioso leghe di basso valore.

I piercing metallici con superfici irregolari e con una bassa resistenza alla corrosione causata dal sudore possono rilasciare ioni metallici nella zona di contatto con la cute dando vita a diversi effetti topici come le dermatiti allergiche da contatto (DAC) (1).

La DAC si presenta con un'eruzione cutanea caratterizzata da arrossamento, desquamazione, screpolature e vescicole. In aggiunta alle affezioni cutanee principali, localizzate nel sito di contatto, si possono verificare altre eruzioni secondarie sulle superfici flessorie delle braccia e dei gomiti (2, 3). L'allergia al Ni è una delle allergie più comuni ed ha un grande impatto socio-economico. Per tale ragione, e con l'obiettivo di fornire informazioni scientifiche necessarie per la prevenzione primaria, è stato istituito il sistema europeo di vigilanza sulle allergie da contatto (ESSCA) che collega i servizi dermatologici di 11 paesi europei. Nel 2004, 11643 pazienti sono stati valutati con il *patch test* e la più alta prevalenza di sensibilizzazione al Ni (32,2%) è stata osservata presso i centri italiani; mentre il dato più basso per la positività al Ni (9,7%) è stato riscontrato tra la popolazione danese (4).

In Europa si stima che il 10-15% delle donne e il 2-5% degli uomini siano sensibili al Ni, quindi, il rischio di sviluppare reazioni allergiche verso il Ni contenuto in moltissimi oggetti con cui si viene a contatto è molto alto. Nella cultura europea, le differenze tra i soggetti di sesso maschile e femminile, riscontrate negli studi di prevalenza, sono correlate con il maggiore uso del piercing tra le donne (5). Il 30-40% di persone sensibili al Ni sviluppa un grave eczema alle mani che può assumere una caratteristica di cronicità ed influire pesantemente sulle capacità lavorative (5). Inoltre, l'allergia da Ni può essere così grave da indurre anche l'asma (6). In uno studio sulla popolazione scandinava, condotto nel 1980, la prevalenza di allergia al Ni tra giovani donne con piercing variava dal 13% al 20% (7), mentre nello stesso studio ripetuto nel 1990 la prevalenza è salita al 30% (8). Nella sola Finlandia, la sensibilità al Ni nella popolazione studentesca femminile è aumentata dal 13% al 39% durante il periodo 1985-1995 (9).

Numerosi studi hanno evidenziato che il rischio di sviluppare allergia è dipendente dal numero di piercing applicati ed è maggiore nei soggetti con una età inferiore ai 20 anni (8). Una più alta sensibilità è stata sviluppata anche dai bambini ai quali era stato applicato un

orecchino nelle prime settimane di vita (10). Una volta che l'allergia al Ni è stata acquisita, essa generalmente dura tutta la vita. In seguito ad una nuova esposizione a concentrazioni di Ni anche più basse di quelle che hanno indotto la prima reazione, un soggetto presensibilizzato può avere una risposta allergica in tempi molto più rapidi.

Inoltre, è stato dimostrato che piccole frazioni di metallo rimangono nella zona di contatto anche dopo aver rimosso l'oggetto che lo conteneva. Alcuni ricercatori hanno ipotizzato che il Ni può essere ritenuto nei tessuti anche per mesi (11).

Recenti studi stanno evidenziando che anche altri metalli come Ag, Au, Co, Cr, Pt e Pd possono essere agenti sensibilizzanti. I dati riportati dall'ESSCA hanno rivelato che la percentuale di popolazione europea allergica al cloruro di Co varia dall'1,1% tra i danesi al 17,6% tra gli italiani. Nella popolazione inglese registriamo una diversa percentuale di allergici al potassio dicromato tra i cittadini di Sheffield (1,3%) e quelli di Liverpool (9,1%). Nella popolazione svedese, 44 ragazze (4,6%) hanno mostrato allergia da contatto al Ni e Co, mentre 7 (0,7%) al solo Co (7). La prova che il piercing all'orecchio aumenta il rischio di sensibilizzazione all'Au è che ci sono state più reazioni positive al cloruro di Au tra pazienti con piercing che in quelli senza piercing (12). In Portogallo, l'allergia da contatto verso il sodio tiosolfato di Au (0,78%) è stata riscontrata in 23 donne che indossavano orecchini in Au (13). Anche l'Ag può causare problemi come l'argiria localizzata, questo genere di lesione è stata, infatti, spesso associata all'utilizzo di oggetti di bigiotteria che contenevano tale elemento. Si ritiene, infatti, che l'Ag ceduto dal metallo per azione del sudore formi dei sali che a contatto con la pelle provochino la lesione cutanea (6). Infine, è da tenere in seria considerazione il problema delle allergie incrociate. Infatti, molti pazienti con una forte allergia al Ni mostrano anche una certa sensibilità al Pd; per cui, in questi casi, la produzione di leghe con Pd al posto del Ni non può rappresentare una valida alternativa.

Gran parte dei dermatologi sono ormai d'accordo nel ritenere che la principale modalità di sensibilizzazione sia il contatto di una zona localizzata della cute con un'alta concentrazione di Ni solubile nel sudore. In particolare, nel caso dei piercing, dove la durata di esposizione può avvenire anche per tutta la vita, l'esposizione cronica a una bassa concentrazione di allergeni presenti nella lega di metallo potrebbe essere sufficiente per scatenare una risposta allergica. Su questa base, la Direttiva Europea 94/27/CE ha limitato il contenuto di Ni in prodotti per i quali un intimo e prolungato contatto con la pelle può provocare un rilascio di tale elemento superiore a $0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ (14). Va notato che un tasso di rilascio di $0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ di Ni potrebbe non proteggere il 100% delle persone colpite da DAC. Tuttavia, i dati clinici indicano che la maggioranza delle persone sensibilizzate a questi livelli di Ni rilasciati non sviluppano DAC e che la maggior parte delle persone che non sono mai state sensibilizzate in precedenza richiedono una concentrazione sostanzialmente più alta di $0,5 \mu\text{g Ni}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ affinché si verifichi una reazione allergica.

La Direttiva ha rappresentato lo strumento principale per la prevenzione primaria e secondaria della DAC indotta dal Ni e molti dei principali produttori di oggetti per bigiotteria stanno cercando di applicare questa norma includendo il Ni nel loro programma di controllo della qualità. Trascorsi alcuni anni dalla emanazione della Direttiva, una delle principali questioni aperte è capire se tale regolamento ha avuto una reale efficacia nel ridurre le allergie. In realtà, alcuni rapporti indicano una diminuzione del tasso di sensibilizzazione al Ni. Tra i bambini e gli adolescenti danesi di età compresa tra 0-18 anni, seguiti per un periodo di 12 anni, l'allergia al Ni è notevolmente diminuita, con una frequenza passata dal 24,8% al 9,2% (15). Nel biennio 2002-2003, uno studio effettuato sui piercing venduti in Svezia, ha evidenziato che solo l'8% degli oggetti testati ha evidenziato la presenza di Ni rispetto ad una percentuale del 25% nel 1999 (16). In uno studio pubblicato nel 2003 ed effettuato tra le donne tedesche di età inferiore ai 30 anni seguite per un periodo di 9 anni, è stato evidenziato

che la sensibilizzazione al Ni era notevolmente diminuita passando dal 36,7% al 25,8% (17). Negli Stati Uniti, dove non è stata mai introdotta alcuna norma che regolasse la presenza di Ni negli oggetti utilizzati per il piercing, tale metallo continua ad essere responsabile delle suddette patologie tra i giovani (18).

In altri paesi la situazione è diversa. In Italia, nel 2005, la percentuale di soggetti che vivono a Roma, allergici al Ni contenuto in gioielli a basso costo è la stessa di quella trovata nel 1994; e una parte degli oggetti testati risulta non ancora conforme con la suddetta Direttiva Europea (19). Allo stesso modo, in Finlandia, negli anni 1995-97 e 2000-02 i *patch test* per allergia al Ni hanno rivelato percentuali del 20,8% e 21,9% rispettivamente, testimoniando così che la frequenza delle allergie è rimasta allo stesso livello, nonostante la Direttiva (20).

Da un punto di vista sperimentale, le leghe utilizzate per i piercing non sono ancora del tutto caratterizzate sia per quanto riguarda il contenuto che per il rilascio di metalli allergenici. Per questo motivo, l'obiettivo dello studio è duplice: i) studiare la composizione metallica dei piercing più comuni disponibili sul mercato italiano, sia quello ufficiale che quello non ufficiale (bancarella); ii) quantificare la cessione dei metalli liberati dal piercing in una soluzione che simula il sudore umano. A tale scopo verranno studiati i seguenti elementi: Al, Co, Cr, Cu, Fe, Ir, Mn, Ni, Pd, Pt, Rh, Ti, V e Zn.

Materiali e metodi

Raccolta dei campioni

I tre piercing di acciaio inossidabile (vedi Figura 1, n. 1, 2 e 3) e i due di colore nero (vedi Figura 2, n. 4 e 5) impiegati su orecchie, labbra, sopracciglia, capezzolo e ombelico sono stati caratterizzati sia per il loro contenuto totale di metallo che per il loro rilascio in soluzioni di sudore sintetico. Allo stesso modo è stato analizzato anche un piercing di Ti (vedi Figura 3). Tutti questi oggetti, tra i più richiesti, sono stati acquistati in negozi di Roma. Invece, i quattro piercing mostrati nella Figura 4, uno incolore (n. 7), due di colore nero (n. 8 e 9) e uno di colore blu (n. 10), sono stati acquistati sul mercato parallelo non ufficiale (bancarella).

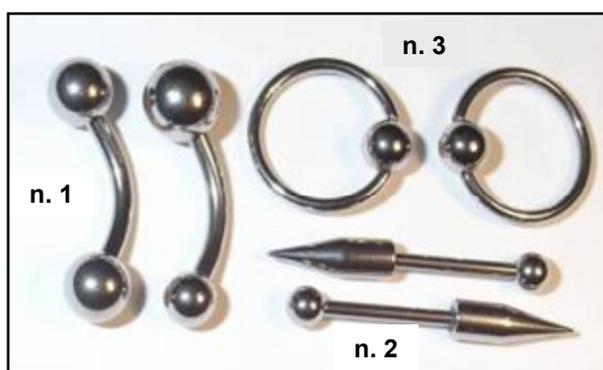


Figura 1. Piercing in acciaio inossidabile (n. 1, 2 e 3)

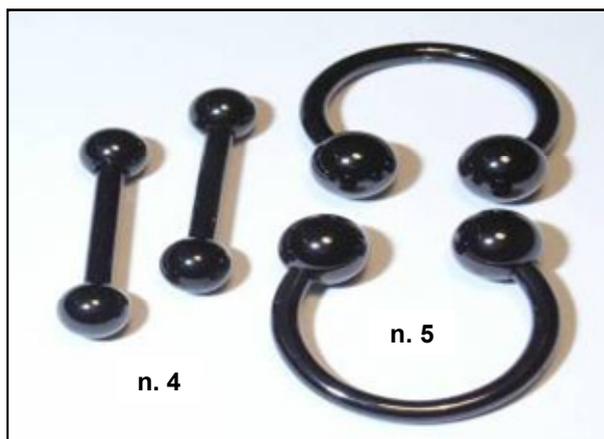


Figura 2. Piercing a base di Ti e C (n. 4 e n. 5, entrambi di colore nero)

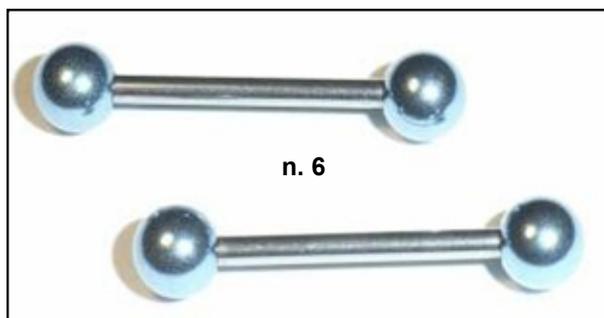


Figura 3. Piercing a base di Ti (n. 6)

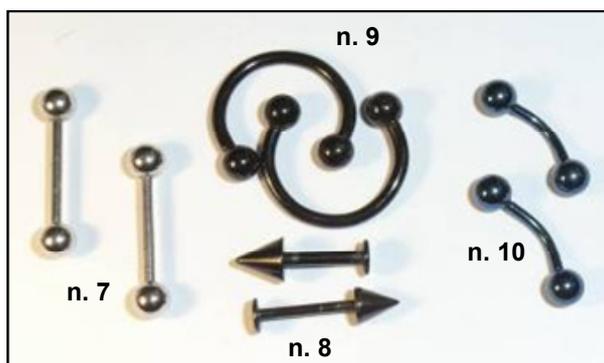


Figura 4. Piercing in acciaio incoloro (n. 7), di colore nero (n. 8 e n. 9) e di colore blu (n. 10)

Preparazione del campione

Tutti i piercing sono stati sottoposti all'analisi ai raggi X senza che questi subissero manipolazioni tali da inficiare l'analisi. Le prove di rilascio sono state eseguite immergendo i manufatti in una soluzione simulante il sudore (SSS) nel rapporto 1:1 (1 mL di soluzione per 1 cm² di superficie del piercing). Il rilascio è avvenuto in bagno termostato a 30 °C per una settimana. La SSS è composta dallo 0,1% di urea, dallo 0,5% di NaCl e dallo 0,1% di acido lattico. Il pH della soluzione è stata aggiustato al valore di 6,5 con una soluzione all'1% di NH₃. Tutti i dettagli della metodica sopra citata sono riportati nella normativa europea UNI EN 1811:2000 (21).

Strumentazione

La determinazione della composizione superficiale è stata eseguita utilizzando un microscopio elettronico a scansione (SEM), dotato di un sistema EDX a finestre sottili per la microanalisi ai raggi X mediante spettrometria a dispersione di energia; gli ingrandimenti utilizzati e l'energia del fascio elettronico sono rispettivamente da 40x a 2000x e di 15 keV. Su ogni oggetto venivano determinati parametri morfologici e la composizione superficiale, attraverso la misura delle intensità delle righe caratteristiche dello spettro a raggi X, convertite nelle concentrazioni atomiche usando il metodo di correzione ZAF. Per la quantificazione dei metalli, sull'intero oggetto e sulle soluzioni di lisciviazione, si è utilizzato uno spettrometro di massa a settore magnetico con sorgente a plasma accoppiato induttivamente (SF-ICP-MS). Lo spettrometro è equipaggiato con un sistema di introduzione del campione che comprende un nebulizzatore concentrico Meinhard in vetro e una camera di espansione raffreddata. La camera di espansione è collegata direttamente ad una torcia equipaggiata con un *guard electrode*. I metalli presenti nel campione nebulizzato vengono ionizzati da un plasma di argon che viene alimentato con una radiofrequenza erogata a potenza di 1200 W. I flussi dei gas sono: 14,0 L/min per il flusso plasmogeno, 0,9 L/min per il flusso ausiliario e 0,9 mL/min per il flusso del campione. I metalli ionizzati vengono quindi inviati in uno spettrometro di massa ad alta risoluzione per essere separati e determinati. Le risoluzioni dello spettrometro di massa utilizzate per la quantificazione degli analiti risultano essere 300 m/Δm (bassa risoluzione) per determinare Pt e Ir, mentre per Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pd, Rh, Ti, V e Zn viene utilizzata una risoluzione di 4000 m/Δm (media risoluzione). Le calibrazioni analitiche sono state effettuate con il metodo delle aggiunte standard, in questo modo si è potuto tenere sotto controllo l'effetto matrice. Inoltre un campione di controllo, vale a dire il punto più basso della retta di calibrazione, è stato letto frequentemente durante l'analisi dei campioni reali al fine di considerare l'eventuale deriva strumentale.

Risultati

Prestazioni analitiche

La Tabella 1 mostra gli isotopi utilizzati per l'analisi, le risoluzioni impiegate in questo studio e le potenziali interferenze spettrali. Elementi come Pt e Ir, che non presentano il problema delle interferenze spettrali, sono stati quantificati in bassa risoluzione utilizzando l'isotopo più abbondante al fine di ottenere la massima sensibilità. Per Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pd, Rh, Ti, V e Zn la quantificazione è stata effettuata in media risoluzione onde evitare

gravi interferenze che potevano portare a sovrastimare il dato ottenuto. Infatti, sia l'elevato contenuto di Ca, Cl, K, Na e Mg nelle soluzioni di lisciviazione che le notevoli quantità di Cu, Fe e Zn presenti nella matrice metallica possono generare interferenze non trascurabili. In particolare, le interferenze che possono interessare gli analiti sotto esame sono: CN e CNH su Al; ArNa, KO e CaO su Co; ArC, ArO, ArN, ClO e CIN su Cr; ArNa su Cu; ArO, CaO, KO su Fe; ClO, ArN su Mn; NaCl, ArMg e CaO su Ni; ArCu e ZnCl su Pd e Rh; NOO su Ti; ArNH e CIN su V. L'utilizzo della media risoluzione ha permesso di separare fisicamente queste interferenze consentendo un'accurata determinazione della massa dell'elemento in esame.

Tabella 1. Isotopi dei metalli selezionati e risoluzione di massa scelta

Metalli	m/z	Abbondanza (%)	Risoluzione (m/Δm)	Possibili interferenze
Al	27	100	4000	$^{11}\text{B}^{16}\text{O}$, $^{10}\text{B}^{16}\text{O}^1\text{H}$, $^{13}\text{C}^{14}\text{N}$, $^{12}\text{C}^{15}\text{N}$, $^{12}\text{C}^{14}\text{N}^1\text{H}$, $^{54}\text{Fe}^{++}$
Co	59	100	4000	$^{40}\text{Ar}^{19}\text{F}$, $^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}$, $^{41}\text{K}^{18}\text{O}$, $^{36}\text{Ar}^{23}\text{Na}$, $^{42}\text{Ca}^{16}\text{O}^1\text{H}$
Cr	52	83,8	4000	$^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$, $^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}$, $^{38}\text{Ar}^{14}\text{N}$, $^{35}\text{Cl}^{17}\text{O}$, $^{37}\text{Cl}^{15}\text{N}$, $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^1\text{H}$
Cu	63	69,2	4000	$^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}$, $^{44}\text{Ca}^{19}\text{F}$
Fe	56	91,7	4000	$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}$, $^{39}\text{K}^{17}\text{O}$, $^{40}\text{K}^{16}\text{O}$
Ir	193	62,7	300	^a
Mn	55	100	4000	$^{37}\text{Cl}^{18}\text{O}$, $^{40}\text{Ar}^{15}\text{N}$, $^{39}\text{K}^{16}\text{O}$, $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^1\text{H}$
Ni	60	26,1	4000	$^{44}\text{Ca}^{16}\text{O}$, $^{23}\text{Na}^{37}\text{Cl}$, $^{36}\text{Ar}^{24}\text{Mg}$, $^{120}\text{Sn}^{++}$
Pd	105	27,3	4000	$^{40}\text{Ar}^{65}\text{Cu}$, $^{68}\text{Zn}^{37}\text{Cl}$, $^{70}\text{Zn}^{35}\text{Cl}$
Pt	195	33,8	300	^a
Rh	103	100	4000	$^{40}\text{Ar}^{63}\text{Cu}$, $^{206}\text{Pb}^{++}$, $^{68}\text{Zn}^{35}\text{Cl}$, $^{66}\text{Zn}^{37}\text{Cl}$
Ti	47	7,30	4000	$^{15}\text{N}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$, $^{36}\text{Ar}^{11}\text{B}$
V	51	99,8	4000	$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}$, $^{37}\text{Cl}^{14}\text{N}$, $^{40}\text{Ar}^{11}\text{B}$, $^{36}\text{Ar}^{14}\text{N}^1\text{H}$
Zn	64	48,6	4000	$^{40}\text{Ar}^{24}\text{Mg}$, $^{48}\text{Ca}^{16}\text{O}$, $^{36}\text{Ar}^{28}\text{Si}$

^a nessuna interferenza rilevante

Generalmente, l'analita è stato quantificato utilizzando l'isotopo che presentava l'abbondanza più elevata. Tuttavia, ci sono alcune eccezioni: la massa 58 del Ni, con abbondanza del 68,7%, non è stata utilizzata perché ostacolata dall'interferenza isobarica del ^{58}Fe ; allo stesso modo la massa 49 del Ti (73,8%) non è stata presa in considerazione vista la presenza della massa interferente isobara del ^{49}Ca ; il ^{106}Pd (27,3%) invece è interferito da una specie poliatomica (ArZn). Nella Tabella 2 sono riportate le prestazioni analitiche del SF-ICP-MS nell'analisi delle soluzioni di sudore artificiale.

La ripetibilità media calcolata su 10 determinazioni replicate di una soluzione di lisciviazione è pari al 3,9%. Le prove di accuratezza, data la mancanza di un idoneo materiale di riferimento, sono state effettuate tramite prove di recupero aggiungendo ai campioni di lisciviazione quantità note di una soluzione multi elementare che comprendeva tutti gli elementi sotto esame. Il recupero medio è risultato del 97,6%.

Caratterizzazione chimica

I risultati dell'analisi ai raggi X indicano che i tre piercing di acciaio inossidabile (n. 1, 2 e 3) sono ricavati da una lega di Fe/Cr/Ni (%: 68,5/17,5/14,0). Nella Figura 5 viene riportato, come esempio, lo spettro EDX del piercing n. 1. La composizione elementare è stata riscontrata sia nel corpo dell'oggetto che nelle sferette di chiusura laterali. I due piercing di colore nero (n. 4 e 5) presentano una base di Fe/Cr/Ni (%: 68,5/18,0/13,5) ricoperta da un primo strato di Ti di circa 0,5 μm e da un secondo strato di 0,04 μm di C. La Figura 6 mostra

la composizione della parte centrale del piercing n. 4; la composizione delle sfere è simile al corpo centrale. Il piercing n. 6 mostra una composizione pari al 100% di Ti (Figura 7), in conformità a quanto dichiarato sulla composizione dell'oggetto. I piercing provenienti dal mercato non ufficiale sono prodotti con diversi tipi di acciaio; infatti, il corpo del piercing n. 7 è costituito da una lega di Fe/Cr/Ni (%: 72,5/18/9,5) diversa da quella che compone le sfere poste alle estremità, ovvero una lega di Fe/Mn/Cr (%: 71,5/16,5/12,0) (Figura 8). I piercing di colore nero e blu (n. 8-10), sia nel corpo che nelle chiusure laterali, sono ricoperti da un film di circa 0,36 µm di Ti (Figura 9).

Tabella 2. Prestazioni analitiche del SF-ICP-MS nell'analisi di soluzioni di sudore artificiale

Metalli	Ripetibilità (%)	Soluzione Aggiunta (µg/L)	Recupero (%)
Al	3,1	5,0	95,4
Co	4,2	1,0	94,3
Cr	2,2	1,0	92,5
Cu	5,6	5,0	98,6
Fe	3,0	5,0	100
Ir	2,9	0,1	90,9
Mn	5,6	1,0	104
Ni	2,5	1,0	97,8
Pd	3,6	0,1	98,5
Pt	2,7	0,1	102
Rh	5,4	0,1	94,8
Ti	4,9	1,0	97,8
V	3,6	1,0	99,2
Zn	5,4	5,0	101

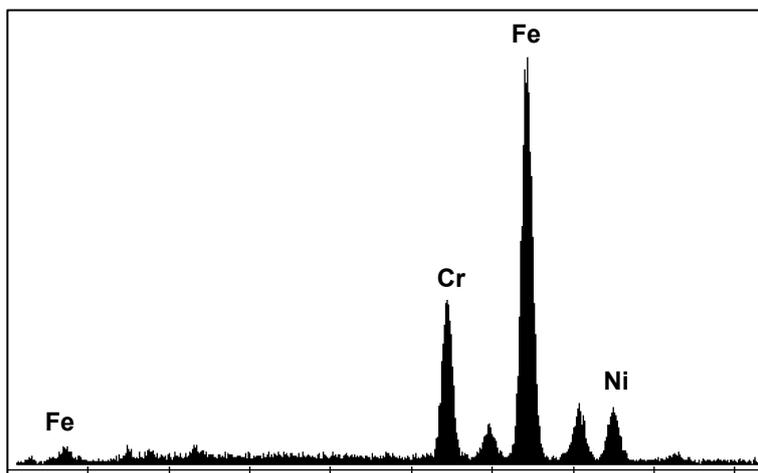


Figura 5. Spettro EDX del piercing n. 1, lega a base di Fe/Cr/Ni

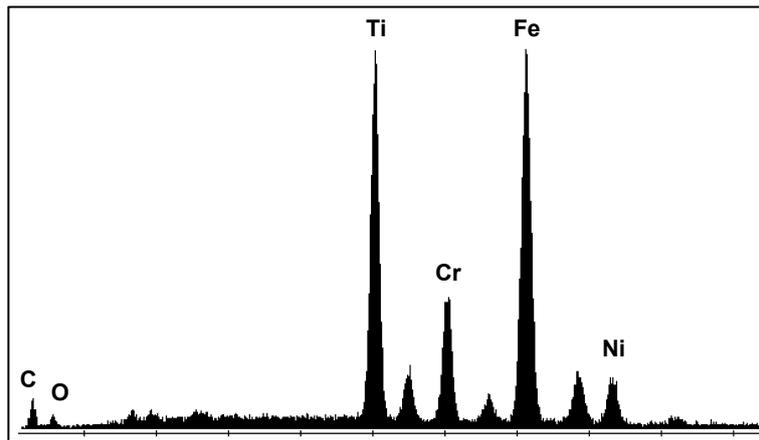


Figura 6. Spettro EDX del piercing n. 4, lega a base di Fe/Cr/Ni ricoperta da uno strato di C e di Ti

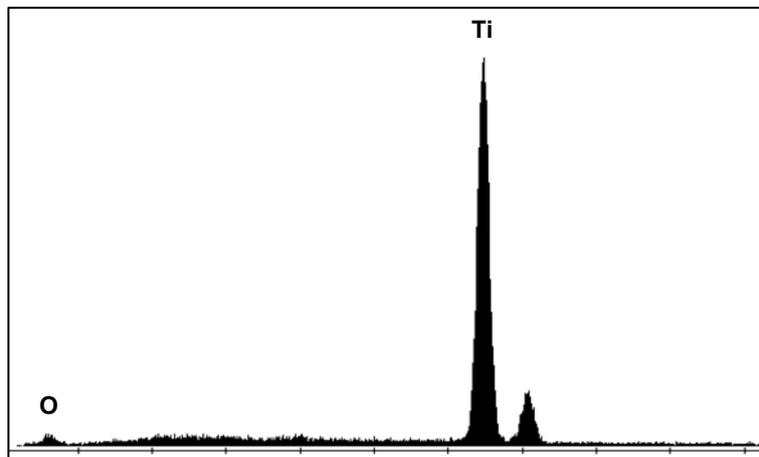


Figura 7. Spettro EDX del piercing n. 6 di Ti puro

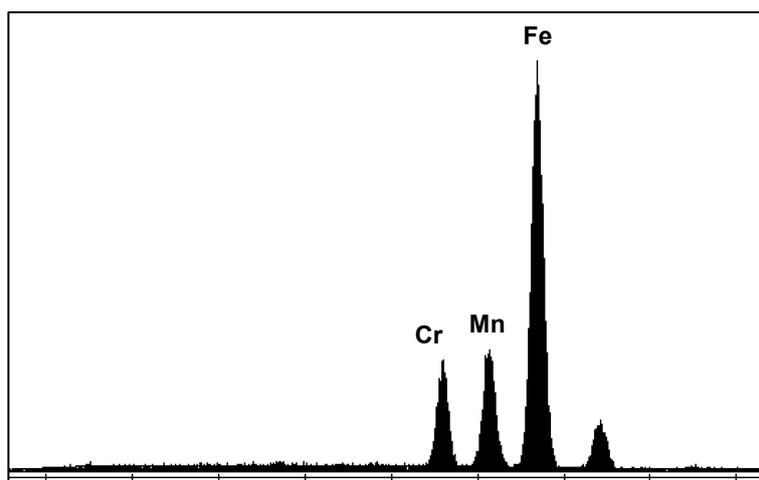


Figura 8. Spettro EDX delle sfere di chiusura del piercing n. 7, lega a base di Fe/Mn/Cr

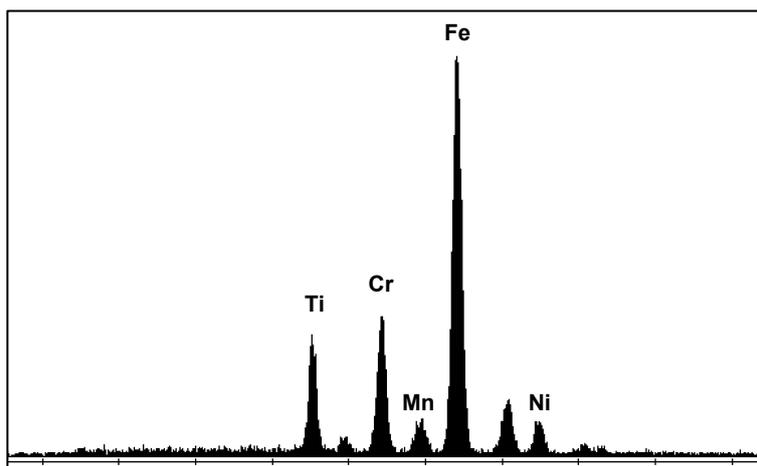


Figura 9. Spettro EDX del piercing n. 10, lega a base di Fe/Cr/Ni ricoperta di uno strato di Ti

Lisciviazione in sudore sintetico

Nella Tabella 3 sono riportati i risultati delle determinazioni analitiche degli elementi rilasciati dai piercing quando sono messi a contatto con la SSS. L'analisi con SF-ICP-MS delle soluzioni simulanti ha evidenziato concentrazioni non rilevabili di Ir, Pd, Pt e Rh mentre per gli altri metalli si sono riscontrate concentrazioni quantificabili in tutti i 10 piercing presi in esame. Nel caso del V, le concentrazioni di questo elemento sono risultate apprezzabili solo in tre casi su dieci. Le concentrazioni mediane (in $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) dei piercing (n. 1-6) acquistati nei negozi ufficiali sono risultate assai basse: Al, 0,00635; Co, 0,0003; Cr, 0,00275; Cu, 0,0053; Fe, 0,020; Mn, 0,0057; Ni, 0,012; Ti, 0,023; V, non rilevato, e Zn, 0,0088.

Vale la pena sottolineare che dai piercing di acciaio inossidabile, contenenti il 17% di Cr e il 12% di Ni, non si sono riscontrate migrazioni di questi elementi nella SSS. Tale risultato prova che, generalmente, soggetti che indossano piercing di acciaio non manifestano risposte allergiche a tale lega. Andamento simile lo si riscontra nel piercing di Ti (n. 6), dando prova della sua elevata sicurezza dal punto di vista allergologico. Dalle analisi effettuate si sono rilevate differenze sostanziali tra gli oggetti acquistati nei negozi ufficiali e quelli disponibili sul mercato parallelo non ufficiale. Generalmente gli oggetti provenienti dal mercato non ufficiale (n. 7-10) mostrano in primo luogo una scarsa resistenza alla corrosione (soluzioni colorate durante l'esperimento) ed in secondo luogo i tassi di rilascio di alcuni metalli sono risultati significativi.

Infatti, il rilascio di Co e Cr è risultato assai basso a livello di tracce ($<0,003 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) nei piercing acquistati nei negozi ufficiali (n. 1-6), mentre il rilascio di oggetti provenienti dalla bancarella (n. 7-10) mostrano livelli di concentrazioni assai più elevati (da 0,017 a 0,056 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ per il Co e da 0,5 a 3,11 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ per il Cr). Anche il Fe viene rilasciato molto di più (1000 volte) dagli oggetti acquistati su bancarella rispetto a quelli comprati nei negozi, rispettivamente 26,95 e 0,020 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$. Andamento simile lo si può rilevare per il Mn con un rilascio medio di 51,15 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ per gli oggetti dal mercato non ufficiale contro un rilascio di 0,0057 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ per quelli reperibili sul mercato autorizzato.

Tabella 3. Metalli rilasciati in 10 differenti piercing ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) *

Piercing	Al	Co	Cr	Cu	Fe
Fig. 1, n. 1	0,0035±0,0003	0,00045±0,00002	0,0053±0,0003	0,0077±0,0005	0,029±0,002
Fig. 1, n. 2	0,016±0,001	0,00063±0,00003	0,0041±0,0002	0,013±0,001	0,051±0,003
Fig. 1, n. 3	0,022±0,001	0,00044±0,00002	0,0040±0,0002	0,0013±0,0001	0,098±0,004
Fig. 2, n. 4	0,0047±0,0002	0,00016±0,00002	0,00034±0,00003	0,0029±0,0001	0,0084±0,0005
Fig. 2, n. 5	0,0038±0,0003	0,00010±0,00001	0,00038±0,00002	0,0029±0,0002	0,011±0,001
Fig. 3, n. 6	0,0080±0,0007	0,00010±0,00001	0,0015±0,0001	0,021±0,001	0,0010±0,0001
Fig. 4, n. 7	0,0046±0,0003	0,037±0,003	2,45±0,14	0,060±0,003	30,0±1,8
Fig. 4, n. 8	0,104±0,034	0,017±0,002	0,510±0,019	0,119±0,007	1,72±0,11
Fig. 4, n. 9	0,030±0,002	0,056±0,002	11,6±0,6	0,093±0,004	84,5±3,7
Fig. 4, n. 10	0,00016±0,00002	0,035±0,002	3,11±0,22	0,019±0,002	23,9±2,0

Piercing	Mn	Ni	Ti	V	Zn
Fig. 1, n. 1	0,0042±0,0003	0,016±0,001	0,001±0,0001	nr	0,0076±0,0005
Fig. 1, n. 2	0,068±0,003	0,014±0,001	0,002±0,0001	nr	0,010±0,001
Fig. 1, n. 3	0,0072±0,0005	0,010±0,001	0,002±0,0002	nr	0,0054±0,0003
Fig. 2, n. 4	0,028±0,002	0,024±0,002	0,048±0,002	nr	0,020±0,001
Fig. 2, n. 5	0,0009±0,00005	0,0011±0,0001	0,044±0,003	nr	0,010±0,001
Fig. 3, n. 6	0,0014±0,0001	0,0023±0,0001	0,054±0,003	nr	0,0023±0,0002
Fig. 4, n. 7	50,8±4,1	0,087±0,007	nr	0,0038±0,0002	0,0033±0,0002
Fig. 4, n. 8	0,553±0,022	0,988±0,024	0,057±0,002	nr	0,124±0,008
Fig. 4, n. 9	84,3±3,7	0,119±0,008	0,023±0,002	0,019±0,002	0,020±0,002
Fig. 4, n. 10	51,5±1,9	0,194±0,011	0,003±0,0002	0,0063±0,0003	0,0079±0,0003

* Per Ir, Pd, Pt, e Rh non è stato osservato rilascio da nessun oggetto sotto esame; nr: non rilasciato.

Il rilascio di Cu ($0,0765 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) da oggetti non ufficiali (n. 7-10) risulta essere 10 volte più alto di quello da oggetti acquistati nei negozi ufficiali. Invece le quantità rilasciate di Al, Ti, V e Zn risultano simili tra i prodotti ufficiali e non ufficiali. L'entità di Ni rilasciato è al disotto di $0,05 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ in tutti i piercings reperibili nei negozi autorizzati, per questo motivo questi oggetti possono essere considerati allergologicamente sicuri. Invece, per quelli del mercato non autorizzato il rilascio di Ni risulta essere tra $0,087$ e $0,988 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$. Dal confronto di questi dati con il valore della normativa vigente di $0,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ si può evincere che il rischio di sensibilizzazione è assai elevato specialmente per l'oggetto n. 8. I risultati ottenuti da questa indagine sono confrontabili con quelli riportati in letteratura. Fischer *et al.* hanno, infatti, trovato un intervallo di rilascio di Ni tra $0,05$ - $442 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ nei piercing ai lobi delle orecchie (23). Nello studio di Haudrechy *et al.* il Ni rilasciato da oggetti di acciaio placcati con Ni risulta di $100 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ (24), mentre Menné *et al.* hanno trovato un valore di Ni di 20 - $30 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ in leghe di Ni-Ag, di $0,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ in leghe di Au bianco e di $0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ in leghe di Ni-Sn (25). Kanerva *et al.* hanno osservato un rilascio di Ni da orecchini placcati in Au pari a 142 - $145 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$, molto più alto di quello che si osserva da orecchini a base di Ag ($0,8$ - $0,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$) (26). Dai risultati ottenuti da Summer *et al.* si evidenzia che il rilascio di Ni e Cr da oggetti in acciaio inossidabile è uguale a $0,30$ e $0,38 \mu\text{g}/\text{cm}^2/2$ giorni rispettivamente (27). In un altro studio, il rilascio di Ni da piercing di acciaio inossidabile ha evidenziato valori al disotto di $0,05 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{settimana}$ così da considerare questi oggetti sicuri per la maggior parte degli individui presensibilizzati al Ni (15).

Anche se le concentrazioni di allergeni come Co, Cr e Ni in piercing di acciaio e di Ti sono relativamente basse, eventuali frammenti di metallo possono rimanere per molto tempo in piccole lesioni della pelle anche dopo la rimozione dell'oggetto. È noto che il tempo di ritenzione del Ni

nei tessuti è dell'ordine di centinaia di giorni (11) e che i piccoli residui di questo metallo possono causare varie reazioni infiammatorie cutanee, come la DAC (28). Si deve tener conto che la DAC tende a persistere per diversi mesi. Kobayashi *et al.* segnalano un caso di una donna con lesioni linfocitotomose indotte da orecchini in Au; le lesioni diventate sempre più estese si sono protratte per 20 anni, anche se la paziente aveva rimosso gli orecchini (29). Un caso simile di reazione granulomatosa, dovuta ad una lega di Ti, si è manifestata in una donna che circa 10 anni prima aveva rimosso da un lobo dell'orecchio un piercing di questo materiale (30). La legislazione europea impone la sostituzione degli strati intermedi di Ni con metalli anallergici (31). McDonagh *et al.* asseriscono che i fornitori dovrebbero essere incoraggiati ad offrire orecchini esenti da Ni al fine di ridurre la frequenza di sensibilizzazione (32).

Conclusioni

Il fenomeno del piercing oggi è molto esteso e la sua comprensione stimola ricercatori, medici, genitori ed insegnanti. Conseguentemente, è indubbio che sono necessari sforzi per la comprensione di questo fenomeno sociale, al fine di avere una veduta d'insieme reale sui possibili pericoli e sull'adozione di eventuali programmi di prevenzione.

La presenza di ioni metallici sulla pelle, dovuti alla corrosione dei piercing da parte del sudore cutaneo, può essere un fattore critico per lo sviluppo di reazioni infiammatorie cutanee, come la DAC. Questo studio ha rilevato che i piercing acquistati sul mercato non ufficiale mostrano una bassa resistenza alla corrosione, infatti metalli come Co, Cr, Fe, Mn e Ni sono lisciviati in quantità notevole. Al contrario, si può certamente dire che i piercing acquistati nei negozi autorizzati mostrano inequivocabilmente una buona resistenza alla corrosione da sudore e possono essere considerati allergologicamente sicuri per il consumatore.

È auspicabile un maggiore impegno sia nello sviluppo e standardizzazione del contenuto dei metalli nei piercing, sia nell'evidenza e forza delle raccomandazioni cliniche.

Bibliografia

1. Azevedo CRF. Characterization of metallic piercings. *Eng Fail Anal J* 2003;10:255-63.
2. Mortz CG, Andersen KE. Allergic contact dermatitis in children and adolescents. *Contact Dermatitis* 1999;41:121-30.
3. Belsito DV. Allergic contact dermatitis. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB (Ed.), *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*, New York: McGraw-Hill; 1999. p.1447-1461.
4. The ESSCA Writing Group. The European Surveillance System of Contact Allergies (ESSCA): results of patch testing the standard series, 2004. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008;22:174-81.
5. Lidén C, Bruze M, Menné T. Metals. In: Rycroft RG, Menné T, Frosch PJ Lepoitteir JP (Ed.), *Textbook of Contact Dermatitis*, Berlino: Springer; 2001. p. 935-950.
6. Koenig LM, Carnes M. Body piercing. Medical concerns with cutting-edge fashion. *J Gen Intern Med* 1999;14:379-85.
7. Larsson-Stymne, B, Widstrom L. Ear piercing-a cause of nickel allergy in schoolgirls? *Contact Dermatitis* 1985;13:289-93.
8. Dotterud L, Falk E. Metal allergy in north Norwegian schoolchildren and its relationship with ear piercing and atopy. *Contact Dermatitis* 1994;31:308-13.

9. Mattila L, Kilpeläinen M, Terho EO, Koskenvuo M, Helenius H, Kalimo K. Prevalence of nickel allergy among Finnish university students in 1995. *Contact Dermatitis* 2001;44:218-23.
10. Fisher AA. Nickel dermatitis in children. *Cutis* 1991;47:19-21.
11. Suzuki H. Nickel and gold in skin lesions of pierced earlobes with contact dermatitis. A study using scanning electron microscopy and x-ray microanalysis. *Arch Dermatol Res* 1998;290:523-527.
12. Nakada T, Iijima M, Nakayama H, Maibach HI. Role of ear piercing in metal allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1997;36:233-236.
13. Silva R, Pereira F, Bordalo O, Silva E, Barros A, Gonçalo M, Correia T, Pessoa G, Baptista A, Pecegueiro M. Contact allergy to gold sodium thiosulfate. A comparative study. *Contact Dermatitis* 1997;37:78-81.
14. Direttiva 94/27/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 30 giugno 1994 che stabilisce la dodicesima modifica della direttiva 76/769/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati Membri relative alla limitazione dell'immissione sul mercato e dell'uso di talune sostanze e preparati pericolosi. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea serie L 188 del 27/7/1994, p. 1-2.
15. Jensen CS, Lisby S, Baadsgaard O, Vølund A, Menné T. Decrease in nickel sensitization in a Danish schoolgirl population with ears pierced after implementation of a nickel-exposure regulation. *Brit J Dermatol* 2002;146:636-642.
16. Lidén C, Norberg K. Nickel on the Swedish market. Follow-up after implementation of the Nickel Directive. *Contact Dermatitis* 2005;52:29-35.
17. Schnuch A, Uter W. Decrease in nickel allergy in Germany and regulatory interventions. *Contact Dermatitis* 2003;49:107-108.
18. Nguyen SH, Dang TP, Macpherson C, Maibach H, Maibach HI. Prevalence of patch test results from 1970 to 2002 in a multi-centre population in North America (NACDG). *Contact Dermatitis* 2008;58:101-106.
19. Bocca B, Forte G, Senofonte O, Violante N, Paoletti L, De Berardis B, Petrucci F, Cristaudo A. A pilot study on the content and the release of Ni and other allergenic metals from cheap earrings available on the Italian market. *Sci Total Environ* 2007;388:24-34.
20. Hasan T, Rantanen T, Alanko K, Harvima RJ, Jolanki R, Kalimo K, Lahti A, Lammintausta K, Lauerma AI, Laukkanen A, Luukkaala T, Riekkilä R, Turjanmaa K, Varjonen E, Vuorela AM. Patch test reactions to cosmetic allergens in 1995-1997 and 2000-2002 in Finland - a multicentre study. *Contact Dermatitis* 2005;53:40-45.
21. UNI EN 1811. *Metodo di prova di riferimento per il rilascio di nichel da articoli che vengono in contatto diretto e prolungato con la pelle*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2000.
22. Direttiva 2004/96/CE della Commissione, del 27 settembre 2004, recante modifica della direttiva 76/769/CEE del Consiglio per quanto riguarda le restrizioni in tema di commercializzazione e uso di nickel in oggetti metallici utilizzati nelle parti perforate ai fini dell'adeguamento dell'allegato I al progresso tecnico. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea serie L 301 del 28/8/2004, p. 51-52.
23. Fischer T, Fregert S, Gruvberger B, Rystedt I. Nickel release from ear piercing kits and earrings. *Contact Dermatitis* 1984;10:39-41.
24. Haudrechy P, Fossereau J, Mantout B, Baroux B. Nickel release from nickel-plated metals and stainless steels. *Contact Dermatitis* 1994;31:249-55.
25. Menné T, Brandrup F, Thestrup-Pedersen K, Veien NK, Andersen JR, Yding F, Valeur G. Patch test reactivity to nickel alloys. *Contact Dermatitis* 1987;16:255-59.

26. Kanerva L, Sipiläinen-Malm T, Estlander T, Zitting A, Jolanki R, Tarvainen K. Nickel release from metals, and a case report of allergic contact dermatitis from stainless steel. *Contact Dermatitis* 1994;31:299-303.
27. Summer B, Fink U, Zeller R, Rueff F, Maier S, Roider G, Thomas P. Patch test reactivity to a cobalt-chromium-molybdenum alloy and stainless steel in metal-allergic patients in correlation to the metal ion release. *Contact Dermatitis* 2007;57:35-9.
28. Hendricks WM. Complications of ear piercing: treatment and prevention. *Cutis*;1991;48:386-94.
29. Kobayashi Y, Nanko H, Nakamura J, Mizoguchi M. Lymphocytoma cutis induced by gold pierced earrings. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:457-58.
30. High WA, Ayers RA, Adams JR, Chang A, Fitzpatrick JE. Granulomatous reaction to titanium alloy: an unusual reaction to ear piercing. *J Am Acad Dermatol* 2006;55:716-20.
31. Lidén C, Menné T, Burrows D. Nickel-containing alloys and platings and their ability to cause dermatitis. *Br J Dermatol* 1996;134:193-198.
32. McDonagh AJ, Wright AL, Cork MJ, Gawkrödger DJ. Nickel sensitivity: the influence of ear piercing and atopy. *Br J Dermatol* 1992;126:16-18.

CONTENUTO DI METALLI ALLERGENI E TOSSICI IN COLORI PER TATUAGGI

Giovanni Forte (a), Francesco Petrucci (a), Antonio Cristaudo (b), Beatrice Bocca (a)

(a) Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Servizio di Dermatologia Allergologica Professionale ed Ambientale, Istituto Dermatologico San Gallicano-IRCCS, Roma

Introduzione

La pratica del tatuaggio è da considerarsi un'arte antica, nata per soddisfare un impulso umano con connotazioni non solo individualistiche, ma anche con risvolti sociali. La moda dei tatuaggi sta guadagnando una popolarità crescente in tutto il mondo, a livello di qualsiasi classe sociale ed in particolare tra gli adolescenti. Mayers *et al.* hanno riferito che il 25% di 302 studenti di un college degli Stati Uniti ha almeno un tatuaggio (1), mentre Forbes ha evidenziato che la tendenza del tatuaggio interessa il 23% di studenti universitari (n = 491) dello Stato di New York (2). Su un campione di 1762 studenti in USA è emerso che la percentuale di adolescenti che hanno un tatuaggio sul proprio corpo è aumentata del 9% nel triennio 1993-1995, mentre l'età media alla quale viene effettuato il primo tatuaggio si è abbassata dai 16 anni ai 14,5 anni (3). Da una recente indagine dell'Eurispes – nell'ambito del 3° *Rapporto Nazionale sulla Condizione dell'Infanzia e dell'Adolescenza* – condotta su un campione di 3800 studenti italiani tra i 12 e i 18 anni, è emerso che la moda del tatuaggio interessa il 6,6% dei ragazzi. Rispetto al sesso, il tatuaggio è più utilizzato dai maschi (7,2%) che dalle femmine (5,7%) e questo dato è probabilmente spiegabile con il significato rituale e simbolico che il tatuaggio riveste e con il fatto che probabilmente le donne hanno a disposizione, e preferiscono, altre pratiche di abbellimento del corpo (4). Rispetto all'area geografica, vi è una maggiore diffusione della pratica del tatuaggio nell'Italia del Nord-Ovest rispetto alle altre aree del Paese. Questo dato può essere attribuito ad un fatto culturale e geografico. L'Italia del Nord-Ovest, a differenza di quella del Nord-Est, risente di più dell'influenza dei paesi della mitteleuropa, dove tale pratica è più diffusa tra i giovani (4). In una regione italiana, la Toscana, il 4,8% di 496 studenti intervistati ha almeno un tatuaggio sul corpo (5).

Insieme all'aumento del fenomeno dei tatuaggi è in aumento anche la conoscenza delle possibili complicazioni a loro associate. Queste complicazioni dipendono sostanzialmente dalle condizioni in cui si eseguono tali procedure (condizioni igieniche non adeguate), dai materiali utilizzati e dalle parti del corpo interessate. In questo contesto bisogna considerare che nell'eseguire un tatuaggio i pigmenti sono iniettati sotto pelle per mezzo di un ago e i lisosomi del derma catturano le particelle di inchiostro mediante fagocitosi e le trattengono per decenni. È noto che il contatto continuativo con i pigmenti è in grado di generare infiammazioni varie della pelle come allergie, eczemi, lichenoidi, pseudolinfomi e granulomi a causa di uno o più componenti dei pigmenti (6). Un ruolo importante nel causare tali malattie è svolto dai metalli, dato che i sali di Cr, Co, Cd e Hg rappresentano gli ingredienti base per il verde, il blu, il giallo ed il rosso, mentre l'ossido di Fe, il biossido di Ti, il C ed il Mn sono prevalentemente usati per il marrone, il bianco, il nero ed il viola. Inoltre, i pigmenti organici vengono spesso combinati con metalli quali l'Al, il Ca, il Cd, ecc. per creare diverse tonalità, sfumature o luminosità (7). In questo contesto, Schmitz *et al.*, tramite microanalisi EDX, hanno riscontrato la presenza di Al,

Cu, Si e Ti in vari inchiostri quali il giallo, il verde ed il rosso (8), mentre Al, Fe, Ca, Ti, Si, Hg e Cd sono stati identificati in un inchiostro rosso (9).

Sempre più frequentemente vengono riportati casi di granuloma (noduli che si formano attorno al materiale iniettato che il corpo percepisce come estraneo) nella zona del corpo coperta dal tatuaggio; in un caso la zona colorata conteneva sali di Hg, Cr e Co (10), in un altro caso Cd, Co e Ni erano i componenti base di un tatuaggio di colore nero (11). Una forma di granuloma allergico è stato segnalato in una donna coreana che aveva utilizzato un cosmetico per truccare il sopracciglio; la biopsia, il *patch test* e le analisi chimiche sul pigmento avevano evidenziato il Cr quale causa della malattia (12). In maniera del tutto simile, l'ossido di Fe contenuto in un pigmento usato per disegnare le sopracciglia aveva generato una reazione granulomatosa (13). Infine è stato osservato un caso di orticaria sul deltoide destro di un paziente a causa della presenza di Co nel colore blu usato per il tatuaggio (14).

Considerando l'ampia diffusione del tatuaggio e le gravi complicazioni per la salute, dovrebbe essere emanata una normativa che ne limiti l'applicazione. Al momento, non esistono linee guida concernenti le materie prime che possono essere utilizzate nella produzione del pigmento né, tanto meno, un'indicazione sulle analisi da effettuare sul prodotto finito per saggiarne la sicurezza. Inoltre, nella maggior parte dei casi è molto difficile recuperare le informazioni circa gli ingredienti dell'inchiostro perché sono relativamente pochi i fornitori che rilasciano insieme al prodotto la relativa documentazione. In questo contesto, ogni Servizio Sanitario Nazionale dovrebbe raccogliere campioni d'inchiostro sia presso le case produttrici sia presso i tatuatori per verificare la componente metallica del colore. Tra l'altro, considerando che sta diventando sempre più diffusa la pratica della rimozione chirurgica del tatuaggio, la conoscenza della composizione chimica dei pigmenti aiuterebbe il medico nella scelta del migliore trattamento in termini di efficacia di riuscita e di riduzione del dolore durante l'intervento.

Tutto ciò ci ha spinto a campionare 56 pigmenti per tatuaggi venduti in Italia da 4 diverse case produttrici. I campioni sono stati sottoposti a digestione acida in forno a microonde ed analizzati per il loro contenuto in Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sr e V tramite spettrometria di massa ad alta risoluzione con plasma accoppiato induttivamente (SF-ICP-MS). Questa indagine del mercato italiano può rappresentare un primo passo per garantire la sicurezza delle persone che si tatuano e per pianificare un'attività legislativa in materia a livello nazionale.

Materiali e metodi

Campioni, reagenti e trattamento

Un totale di 56 colori sono stati acquistati da 4 fornitori diversi: 13 colori della "Starbrite Colors", 10 colori della "Millennium Colorworks Inc.", 13 colori della "Intenze Prod." e 20 colori della "Diabolo" by Deep Colors". Circa 0,25 g di pigmento liquido sono stati pesati in un contenitore di Teflon a cui è stata aggiunta una miscela di 4 mL di HNO₃, 1 mL di HF e 1 mL di H₂O₂. Dopo la chiusura dei contenitori, i campioni sono stati mineralizzati in forno a microonde tramite il seguente programma di tempo/potenza: 5 minuti a 250 W; 5 minuti a 400 W; 10 minuti a 600 W. La soluzione così ottenuta è stata trasferita in provette di polietilene e portata ad un volume finale di 15 mL con acqua deionizzata. I campioni sono stati preparati in duplicato.

Analisi quantitativa

Le soluzioni sono state ulteriormente diluite 1:4 v/v con acqua deionizzata ed analizzate tramite SF-ICP-MS dotato di nebulizzatore di vetro tipo Meinhard, camera di Scott raffreddata ad acqua, torcia schermata con un foglio di platino (*guard electrode*) e coni di platino all'interfaccia. L'analisi è stata eseguita impostando una radiofrequenza con potenza pari a 1,2 kW, il flusso del gas (argon) al plasma pari a 14,0 L/min, quello del gas ausiliario a 1,0 L/min e quello del gas al nebulizzatore a 0,90 L/min. Sono state usate le seguenti masse analitiche (m/z): ^{27}Al ; ^{138}Ba ; ^{111}Cd ; ^{59}Co ; ^{52}Cr ; ^{63}Cu ; ^{56}Fe ; ^{202}Hg ; ^{55}Mn ; ^{60}Ni ; ^{208}Pb ; ^{121}Sb ; ^{88}Sr ; ^{51}V . Le scansioni sono state effettuate utilizzando due impostazioni di risoluzione di massa: la bassa risoluzione (BR, 300 m/ Δ m) per elementi non interferiti (Ba, Cd, Hg, Pb e Sb) e la media risoluzione (MR, 4000 m/ Δ m) per elementi pesantemente interferiti (Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e V) da specie poliatomiche prodotte da una combinazione di isotopi provenienti dal plasma, dalla matrice e dai reagenti. Le interferenze causate dal plasma sono $^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}$, $^{40}\text{Ar}^{18}\text{OH}$, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ e interferiscono sui segnali di ^{52}Cr , ^{59}Co e ^{56}Fe ; le interferenze originate dalla matrice organica ricca di C, Ca e Mg sono $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$, $^{44}\text{Ca}^{16}\text{O}$, $^{24}\text{Mg}^{36}\text{Ar}$, $^{48}\text{Ca}^{40}\text{Ar}$ e si sovrappongono alle masse del ^{52}Cr , ^{60}Ni e ^{88}Sr ; le interferenze provenienti dai reagenti (HNO_3 e HF) sono $^{12}\text{C}^{15}\text{N}$, $^{36}\text{Ar}^{14}\text{NH}$, $^{38}\text{Ar}^{14}\text{N}$, $^{40}\text{Ar}^{15}\text{N}$, $^{40}\text{Ar}^{19}\text{F}$, $^{44}\text{Ca}^{19}\text{F}$ e influenzano i segnali analitici del ^{27}Al , ^{51}V , ^{52}Cr , ^{55}Mn , ^{59}Co e ^{63}Cu . Usando la MR siamo riusciti ad evitare queste sovrapposizioni spostando il segnale dell'interferente al di fuori della finestra di massa dell'analita di interesse. Il controllo di eventuali derive strumentali è stato effettuato con l'aggiunta di due standard interni – l'indio (^{115}In) e lo scandio (^{45}Sc) – alla concentrazione di 1 ng/mL nelle soluzioni analitiche. Per ridurre l'effetto matrice è stata costruita una retta di calibrazione in matrice su 5 livelli differenti di concentrazione.

Risultati e discussione

Prestazioni del metodo

Il metodo è stato validato per i limiti di rivelabilità (LR) e di quantificazione (LQ), il recupero e la precisione calcolata sia durante un giorno di analisi (precisione giornaliera) sia su giorni diversi. Il LR è stato calcolato come 3,3 volte la deviazione standard (DS) ottenuta su 10 bianchi reagenti indipendenti, mentre il LQ è stato espresso come 10 volte la DS su 10 bianchi reagenti indipendenti. Il recupero è stato valutato aggiungendo uno standard a concentrazione nota contenente gli elementi di interesse a 5 bianchi reagenti indipendenti.

La precisione giornaliera espressa come DS relativa (DSR) è stata calcolata su 10 misurazioni diverse di un pigmento digerito in una sola occasione, mentre la precisione tra i giorni è stata calcolata applicando lo stesso protocollo ma in tre distinte occasioni.

La Tabella 1 riassume i dati di validazione per l'analisi dei metalli in colori per tatuaggio. Il LR varia da 0,02 ng/mL (Cd) a 3 ng/mL (Al e Fe), mentre il LQ varia da 0,07 ng/mL (Cd) a 10 ng/mL (Al e Fe) dimostrando l'elevata sensibilità del metodo. Il recupero è compreso tra il 92% per il Cd e il 109% per lo Sr indicando la buona accuratezza del metodo. La precisione giornaliera è compresa tra il 2,67% (Co) e il 7,05% (Cu) mentre quella tra giorni è nell'intervallo 1,58% (Co) - 5,33% (Cu).

Tabella 1. Prestazioni del metodo

Parametri	Al	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Sb	Sr	V
LR (ng/mL)	3,00	0,60	0,02	0,06	0,80	0,60	3,00	0,50	0,20	0,40	0,12	0,04	0,40	0,12
LQ (ng/mL)	10,0	2,00	0,07	0,20	2,64	2,00	10,0	1,65	0,66	1,32	0,40	0,13	1,32	0,40
Quantità aggiunta (ng/mL)	100	5,00	0,25	0,50	5,00	5,00	50,0	5,00	1,00	5,00	1,00	0,50	5,00	1,00
Quantità trovata (ng/mL)	104	4,86	0,23	0,47	4,80	5,12	48,9	5,23	0,97	5,16	1,02	0,46	5,44	0,98
Recupero (%)	104,0	97,2	92,0	94,0	96,0	102,4	97,8	104,6	97,0	103,2	102,0	92,0	108,8	98,0
Precisione giornaliera (%)	4,54	3,66	2,09	1,58	2,07	5,33	2,97	3,88	3,04	4,05	2,58	2,44	4,62	1,96
Precisione tra giorni (%)	6,04	5,83	5,20	2,67	2,99	7,05	3,46	4,55	4,21	5,11	3,98	4,67	5,83	3,87

Contenuto di metalli nei colori per tatuaggio

I risultati delle analisi chimiche su 56 colori per tatuaggi venduti in Italia da 4 diverse case produttrici sono riportati nelle Tabelle 2-5. La concentrazione minima e massima riscontrata per ciascun elemento e per ciascuna marca di prodotto sono riportate nella Tabella 6. Tutti i metalli oggetto di studio sono stati trovati nei 56 colori analizzati, solo il Hg è sotto il limite di quantificazione in 16 di essi. Gli inchiostri mostrano una composizione in metalli molto variabile sia da produttore a produttore che da colore a colore. In generale, Al, Ba, Cu, Fe e Sr sono i principali costituenti degli inchiostri (da poche unità di $\mu\text{g/g}$ a decine di mg/g). Cromo, Mn, Ni, Pb e V variavano da qualche ng/g a $\mu\text{g/g}$. I livelli più bassi sono stati riscontrati per Cd, Co, Hg e Sb.

Tabella 2. Concentrazione in ng/g dei metalli nei colori della serie "Starbrite Colors"

Colore	Nome	Al*	Ba*	Cd	Co	Cr	Cu*	Fe*
Arancione	Brite	2079 ± 134	2,68 ± 0,13	13,7 ± 1,2	125 ± 10	4720 ± 350	18,2 ± 1,5	119 ± 10
Bianco	Brite	2166 ± 109	0,058 ± 0,003	497 ± 33	11,0 ± 0,8	315 ± 38	53,4 ± 2,9	4,40 ± 0,28
Blu	Country	869 ± 51	610 ± 24	1150 ± 94	11,1 ± 0,7	521 ± 20	2407 ± 168	6,07 ± 0,21
	Deep	5,64 ± 0,38	9,17 ± 0,34	124 ± 8	65,0 ± 3,3	1368 ± 44	31310 ± 1048	42,0 ± 2,1
	Deep turquoise	2024 ± 98	1226 ± 88	285 ± 14	34,5 ± 3,0	1809 ± 210	11158 ± 959	36,3 ± 2,2
Giallo	Canary	428 ± 36	10,3 ± 0,6	45,4 ± 2,0	24,5 ± 1,1	1900 ± 129	0,806 ± 0,066	43,3 ± 2,4
	Golden	395 ± 29	0,138 ± 0,011	48,9 ± 1,4	2,88 ± 0,35	357 ± 15	0,750 ± 0,059	18,4 ± 1,1
Marrone	Deep	8,01 ± 0,37	7,03 ± 0,35	7,65 ± 0,81	2,78 ± 0,31	451 ± 89	16,2 ± 1,1	16,4 ± 1,8
Nero	Ink	130 ± 9	1,91 ± 0,15	17,9 ± 1,5	24,7 ± 1,9	3064 ± 164	2078 ± 116	97,8 ± 5,2
Rosso	Scarlet	179 ± 12	446 ± 11	6,67 ± 0,59	16,6 ± 1,3	1073 ± 69	0,382 ± 0,015	29,0 ± 3,0
Verde	Deep	254 ± 19	240 ± 18	361 ± 11	95,5 ± 8,3	4108 ± 133	22043 ± 997	101 ± 10
	Lime	443 ± 24	10,6 ± 0,5	47,0 ± 2,2	43,0 ± 2,7	1791 ± 131	551 ± 13	44,2 ± 2,9
Viola	Deep	3762 ± 110	0,841 ± 0,044	369 ± 19	32,3 ± 2,8	4046 ± 124	45,2 ± 3,1	36,2 ± 3,0

Colore	Nome	Hg	Mn	Ni	Pb	Sb	Sr*	V
Arancione	Brite	66,1 ± 7,4	583 ± 16	811 ± 61	779 ± 50	7,05 ± 0,81	0,802 ± 0,066	766 ± 37
Bianco	Brite	<LQ	121 ± 9	602 ± 55	28,5 ± 1,1	212 ± 19	0,806 ± 0,064	1443 ± 103
Blu	Country	<LQ	563 ± 49	771 ± 28	22,7 ± 1,3	175 ± 14	1,45 ± 0,11	547 ± 48
	Deep	55,4 ± 6,0	293 ± 21	348 ± 40	13,3 ± 0,9	141 ± 10	0,528 ± 0,038	9,90 ± 0,84
	Deep turquoise	9,70 ± 1,1	530 ± 37	283 ± 12	258 ± 22	108 ± 7	2,95 ± 0,18	688 ± 28
Giallo	Canary	128 ± 6	1339 ± 101	429 ± 34	105 ± 8	107 ± 7	4,03 ± 0,31	135 ± 10
	Golden	11,5 ± 1,3	83,7 ± 3,1	37,5 ± 4,0	15,9 ± 0,8	11,6 ± 0,7	1,06 ± 0,09	25,6 ± 1,7
Marrone	Deep	43,5 ± 1,9	151 ± 10	66,7 ± 7,2	28,8 ± 1,5	7,17 ± 0,64	1,23 ± 0,09	6,22 ± 0,59
Nero	Ink	<LQ	659 ± 48	424 ± 16	72,7 ± 2,5	50,0 ± 2,1	0,370 ± 0,022	123 ± 6
Rosso	Scarlet	107 ± 5	371 ± 12	179 ± 18	76,2 ± 4,0	21,7 ± 1,8	1,92 ± 0,16	112 ± 7
Verde	Deep	179 ± 19	1790 ± 143	2318 ± 154	834 ± 61	92,5 ± 8,1	2,73 ± 0,19	92,9 ± 5,7
	Lime	164 ± 10	1404 ± 99	564 ± 37	98,8 ± 3,9	102 ± 9	3,78 ± 0,20	130 ± 10
Viola	Deep	54,0 ± 5,7	288 ± 16	1107 ± 94	87,4 ± 7,1	162 ± 15	1,11 ± 0,07	1070 ± 81

*Valori in µg/g

Tabella 3. Concentrazione in ng/g dei metalli nei colori della serie "Millennium Colorworks Inc."

Colore	Nome	Al*	Ba*	Cd	Co	Cr	Cu*	Fe*
Arancione	Agent	304 ± 18	1,01 ± 0,064	23,5 ± 1,8	16,0 ± 1,0	648 ± 37	3,22 ± 0,16	24,9 ± 1,1
Bianco	Power	5868 ± 249	0,549 ± 0,011	465 ± 41	35,0 ± 1,7	841 ± 39	10,0 ± 1,0	77,8 ± 4,0
Blu	Ice	2963 ± 137	0,960 ± 0,073	278 ± 16	56,9 ± 3,3	3340 ± 199	3683 ± 211	92,1 ± 5,9
Giallo	Hello	1120 ± 88	0,709 ± 0,055	144 ± 5	21,3 ± 1,5	1118 ± 49	3,50 ± 0,31	52,5 ± 3,36
Grigio	Hound	5893 ± 200	2,84 ± 0,13	516 ± 33	44,0 ± 2,9	1007 ± 77	29,6 ± 1,5	92,9 ± 7,6
Marrone	Doo Doo	150 ± 10	3,96 ± 0,18	34,6 ± 2,0	17,3 ± 1,3	1502 ± 126	0,679 ± 0,051	46,9 ± 2,8
Nero	Onyx	189 ± 13	2,74 ± 0,11	1,35 ± 0,11	13,0 ± 0,8	1106 ± 91	0,789 ± 0,043	69,3 ± 3,0
Rosso	Monthly	2,41 ± 0,15	9,74 ± 0,38	26,3 ± 1,4	10,7 ± 0,6	1131 ± 74	0,790 ± 0,039	0,717 ± 0,057
Verde	Mean	1960 ± 115	0,748 ± 0,052	88,8 ± 3,7	25,1 ± 2,4	1087 ± 83	4540 ± 188	54,5 ± 1,68
Viola	Violent	5110 ± 108	1,17 ± 0,061	280 ± 25	39,3 ± 2,0	1708 ± 118	21,9 ± 1,63	85,4 ± 6,6

Colore	Nome	Hg	Mn	Ni	Pb	Sb	Sr*	V
Arancione	Agent	20,7 ± 1,4	293 ± 11	62,5 ± 2,7	99,7 ± 7,4	3,84 ± 0,11	3,42 ± 0,22	79,6 ± 2,5
Bianco	Power	<LQ	1287 ± 68	200 ± 15	70,7 ± 4,7	101 ± 8	0,488 ± 0,033	1588 ± 124
Blu	Ice	<LQ	1450 ± 106	644 ± 52	72,7 ± 4,0	62,4 ± 3,3	1,07 ± 0,04	1522 ± 94
Giallo	Hello	<LQ	1151 ± 79	114 ± 10	103 ± 6	48,9 ± 3,5	0,979 ± 0,059	272 ± 16
Grigio	Hound	112 ± 10	1525 ± 125	1067 ± 82	71,9 ± 3,1	575 ± 44	1,09 ± 0,08	1490 ± 101
Marrone	Doo Doo	<LQ	827 ± 28	118 ± 8	113 ± 7	19,3 ± 1,7	0,370 ± 0,025	84,8 ± 4,1
Nero	Onyx	<LQ	408 ± 22	86,8 ± 3,4	87,2 ± 5,5	114 ± 10	0,275 ± 0,018	153 ± 11
Rosso	Monthly	<LQ	619 ± 39	44,8 ± 3,7	422 ± 30	9,03 ± 0,64	0,320 ± 0,028	27,0 ± 1,1
Verde	Mean	11,2 ± 0,7	918 ± 48	154 ± 11	87,9 ± 2,9	39,3 ± 3,0	0,745 ± 0,036	735 ± 22
Viola	Violent	22,6 ± 1,8	1265 ± 84	263 ± 19	116 ± 7	141 ± 12	0,648 ± 0,049	2521 ± 194

* Valori in µg/g

Tabella 4. Concentrazione in ng/g dei metalli nei colori della serie "Intenze Prod."

Colore	Nome	Al*	Ba*	Cd	Co	Cr	Cu*	Fe*
Arancione	Peach	1828 ± 146	0,518 ± 0,035	2986 ± 220	26,2 ± 1,9	889 ± 49	32,4 ± 1,1	13,0 ± 1,0
Bianco	Snow Opaque	2987 ± 197	0,129 ± 0,009	556 ± 40	10,0 ± 1,0	335 ± 29	44,9 ± 3,07	3,97 ± 0,22
Blu	Baby	2180 ± 158	24,0 ± 1,8	776 ± 60	184 ± 13	637 ± 50	558 ± 38	9,27 ± 0,41
Giallo	Banana Cream	1702 ± 110	61,1 ± 4,4	249 ± 21	11,1 ± 0,8	452 ± 24	26,8 ± 1,9	5,00 ± 0,38
Grigio	Platinum	2903 ± 135	0,135 ± 0,010	69,3 ± 4,6	16,6 ± 1,2	737 ± 61	41,4 ± 2,6	5,93 ± 0,42
Marrone	Dark Chocolate	105 ± 10	19,3 ± 1,6	347 ± 30	6439 ± 348	147229 ± 9918	260 ± 18	88443 ± 2784
Nero	True	9,36 ± 0,34	0,170 ± 0,011	12,6 ± 1,1	10,5 ± 0,8	1549 ± 140	5,02 ± 0,29	6,42 ± 0,38
Rosa	Rose	1727 ± 115	0,529 ± 0,037	372 ± 28	11,1 ± 1,0	484 ± 24	65,2 ± 4,0	6,24 ± 0,53
Rosso	Cherry Bomb	670 ± 49	161 ± 12	36,0 ± 3,0	8,88 ± 0,66	4144 ± 391	1,47 ± 0,094	38,5 ± 1,8
	True Magenta	7,13 ± 0,52	36,7 ± 2,84	12,5 ± 0,9	30,5 ± 2,5	4672 ± 319	1,27 ± 0,11	34,6 ± 2,90
Verde	Grasshopper	2012 ± 100	102 ± 8	296 ± 16	24,2 ± 1,4	2529 ± 186	1606 ± 128	19,6 ± 1,2
Viola	Grape	2702 ± 95	20,9 ± 1,3	520 ± 44	42,2 ± 1,8	1462 ± 103	146 ± 9	10,0 ± 0,6
	Lavender	1625 ± 110	0,069 ± 0,004	918 ± 73	14,3 ± 1,1	495 ± 33	11,0 ± 0,9	6,81 ± 0,40

Colore	Nome	Hg	Mn	Ni	Pb	Sb	Sr*	V
Arancione	Peach	<LQ	479 ± 31	140 ± 13	14798 ± 1182	290 ± 20	0,323 ± 0,029	1505 ± 131
Bianco	Snow Opaque	<LQ	118 ± 10	196 ± 17	56,1 ± 4,2	134 ± 8	0,384 ± 0,017	1423 ± 129
Blu	Baby	<LQ	580 ± 41	274 ± 15	33,2 ± 1,8	196 ± 12	0,347 ± 0,025	593 ± 44
Giallo	Banana Cream	<LQ	213 ± 10	151 ± 10	75,0 ± 4,4	96,0 ± 7,0	0,699 ± 0,043	1128 ± 80
Grigio	Platinum	<LQ	299 ± 17	233 ± 15	106 ± 10	97,8 ± 8,0	0,391 ± 0,027	2600 ± 194
Marrone	Dark Chocolate	146 ± 10	98790 ± 5574	9592 ± 651	8128 ± 422	4116 ± 381	0,382 ± 0,029	11049 ± 681
Nero	True	10,9 ± 0,09	79,2 ± 6,4	70,4 ± 4,9	56,9 ± 3,8	69,6 ± 1,7	0,174 ± 0,016	98,3 ± 8,0
Rosa	Rose	<LQ	359 ± 30	141 ± 10	86,7 ± 6,8	181 ± 13	2,64 ± 0,18	1510 ± 100
Rosso	Cherry Bomb	34,1 ± 1,8	274 ± 16	66,8 ± 2,2	389 ± 26	44,7 ± 1,8	8,21 ± 0,40	168 ± 11
	True Magenta	6,77 ± 0,49	360 ± 27	641 ± 55	106 ± 11	61,4 ± 2,9	0,970 ± 0,067	27,2 ± 1,3
Verde	Grasshopper	9,35 ± 0,09	582 ± 43	259 ± 20	204 ± 14	156 ± 10	14,3 ± 0,9	1404 ± 116
Viola	Grape	<LQ	159 ± 13	271 ± 14	64,3 ± 3,7	138 ± 11	0,424 ± 0,036	1170 ± 85
	Lavender	35,3 ± 2,4	445 ± 29	260 ± 22	45,3 ± 3,8	241 ± 18	0,291 ± 0,024	677 ± 48

* Valori in µg/g

Tabella 5a. Concentrazione in ng/g dei metalli nei colori della serie "Diabolo by Deep Colours"

Colore	Nome	Al*	Ba*	Cd	Co	Cr	Cu*	Fe*
Arancione	Dark	1,59 ± 0,13	1,90 ± 0,088	35,7 ± 1,8	26,0 ± 1,8	428 ± 35	0,580 ± 0,049	6,52 ± 0,49
Bianco	Orange	70,3 ± 4,4	9,14 ± 0,63	48,9 ± 1,9	21,6 ± 1,4	1276 ± 109	0,324 ± 0,022	17,6 ± 1,25
	Intense	112 ± 8	5,68 ± 0,40	107 ± 8	48,2 ± 3,0	1876 ± 168	20,6 ± 1,7	15,1 ± 1,1
	Blue	32,0 ± 2,9	1030 ± 79	60,8 ± 4,8	20,4 ± 1,4	1399 ± 110	8329 ± 359	8,09 ± 0,29
Blu	Turquoise	55,4 ± 3,7	682 ± 21	41,0 ± 3,1	15,2 ± 1,0	1236 ± 81	5933 ± 303	9,63 ± 0,33
	Ultramarine	39,6 ± 1,7	111 ± 8	52,1 ± 4,0	17,5 ± 1,3	1114 ± 69	14759 ± 907	6,69 ± 0,41
	Basic	93,4 ± 6,08	8,40 ± 0,26	14,5 ± 1,0	18,0 ± 1,3	731 ± 65	0,488 ± 0,040	18,3 ± 1,1
Giallo	Dark	40,7 ± 3,18	9,16 ± 0,51	57,9 ± 3,9	14,7 ± 0,7	786 ± 51	0,436 ± 0,036	17,1 ± 1,4
	Grey	118 ± 9	8,21 ± 0,64	97,0 ± 6,4	15,5 ± 1,2	2053 ± 149	125 ± 10	15,8 ± 1,3
Grigio	Sumi	6,47 ± 0,41	0,451 ± 0,039	11,3 ± 0,8	29,2 ± 1,9	366 ± 32	0,076 ± 0,005	2,95 ± 0,13
	Noisette	42,9 ± 3,5	3,63 ± 0,27	64,4 ± 4,6	30,6 ± 2,0	1364 ± 110	23,9 ± 1,8	23,2 ± 1,9
Marrone	Magic	1,92 ± 0,16	68,3 ± 4,95	138 ± 10	72,2 ± 3,4	872 ± 53	10,4 ± 0,6	5,47 ± 0,32
	Basic	39,2 ± 2,54	7,06 ± 0,34	32,8 ± 2,7	69,9 ± 5,1	1243 ± 94	0,813 ± 0,069	25,4 ± 1,7
Rosso	Bordeaux	25,9 ± 2,0	269 ± 15	60,0 ± 3,1	38,3 ± 2,1	884 ± 57	1145 ± 80	12,4 ± 0,95
	Chinese	21,2 ± 1,75	6,51 ± 0,21	29,0 ± 1,6	75,2 ± 5,4	767 ± 60	0,147 ± 0,012	13,9 ± 1,3
Verde	Port	29,0 ± 1,6	438 ± 34	92,3 ± 4,8	32,3 ± 1,7	819 ± 72	3942 ± 241	14,5 ± 0,9
	Basic	254 ± 17	25,1 ± 1,9	41,4 ± 1,8	110 ± 9	2008 ± 156	5887 ± 408	44,9 ± 3,1
Viola	Willow	137 ± 11	12,1 ± 1,0	31,6 ± 1,8	17,5 ± 1,1	1683 ± 100	1494 ± 86	16,4 ± 1,1
	Light	20,9 ± 1,5	199 ± 13	68,2 ± 2,7	20,4 ± 1,1	1208 ± 94	1048 ± 80	10,1 ± 0,8
	Violet	44,1 ± 3,0	250 ± 14	91,9 ± 5,9	45,0 ± 2,7	1722 ± 128	6304 ± 294	10,9 ± 0,7

* Valori in µg/g

Tabella 5b. Concentrazione in ng/g dei metalli nei colori della serie "Diabolo by Deep Colours"

Colore	Nome	Hg	Mn	Ni	Pb	Sb	Sr*	V
Arancione	Dark	146 ± 9	83,5 ± 4,8	143 ± 10	187 ± 18	97,3 ± 6,8	2,19 ± 0,16	58,3 ± 3,7
	Orange	165 ± 13	651 ± 49	335 ± 14	501 ± 32	84,8 ± 6,7	6,68 ± 0,44	22,3 ± 1,6
Bianco	Intense	138 ± 12	887 ± 53	409 ± 27	447 ± 31	42,2 ± 2,9	3,92 ± 0,26	776 ± 57
	Blue	137 ± 11	234 ± 17	871 ± 49	872 ± 55	1098 ± 85	24,4 ± 1,8	1984 ± 152
Blu	Turquoise	98,1 ± 7,9	258 ± 17	855 ± 70	763 ± 58	1115 ± 80	17,0 ± 1,3	1917 ± 167
	Ultramarine	124 ± 10	168 ± 15	1616 ± 120	277 ± 20	2259 ± 183	36,4 ± 2,0	1797 ± 152
Giallo	Basic	118 ± 7	898 ± 76	435 ± 37	175 ± 13	13,5 ± 1,0	6,29 ± 0,40	29,9 ± 2,1
	Dark	148 ± 10	665 ± 40	123 ± 7	308 ± 24	23,1 ± 2,0	6,69 ± 0,45	16,7 ± 1,2
Grigio	Grey	92,0 ± 7,4	229 ± 15	470 ± 32	502 ± 46	35,2 ± 2,4	4,39 ± 0,35	766 ± 66
	Sumi	130 ± 11	582 ± 43	221 ± 18	60,5 ± 3,7	18,3 ± 1,4	1,19 ± 0,08	7,93 ± 0,80
Nero	Magic	190 ± 15	1037 ± 57	73,3 ± 5,9	1448 ± 130	166 ± 10	4,11 ± 0,31	5,98 ± 0,48
Marrone	Noisette	126 ± 11	275 ± 20	518 ± 36	746 ± 43	189 ± 16	4,88 ± 0,29	801 ± 64
	Basic	175 ± 9	1399 ± 94	382 ± 26	290 ± 18	72,4 ± 6,5	5,66 ± 0,47	16,3 ± 1,0
Rosso	Bordeaux	133 ± 11	232 ± 19	583 ± 34	257 ± 19	148 ± 13	10,6 ± 0,8	186 ± 15
	Chinese	253 ± 20	1556 ± 117	204 ± 19	89,5 ± 8,0	21,7 ± 1,9	4,99 ± 0,38	19,7 ± 1,4
Verde	Port	158 ± 9	161 ± 13	1407 ± 118	231 ± 14	223 ± 15	19,3 ± 0,8	287 ± 17
	Basic	120 ± 10	1701 ± 125	5049 ± 345	120 ± 7	671 ± 48	5,59 ± 0,34	580 ± 37
Viola	Willow	186 ± 15	468 ± 35	1168 ± 81	540 ± 41	231 ± 13	6,10 ± 0,42	453 ± 34
	Light	126 ± 10	144 ± 10	258 ± 23	834 ± 60	374 ± 28	8,09 ± 0,52	1186 ± 97
	Violet	187 ± 16	186 ± 11	2046 ± 143	704 ± 53	797 ± 61	32,1 ± 1,7	1558 ± 114

* Valori in µg/g

Tabella 6. Intervalli (minimo-massimo) di concentrazione in ng/g dei metalli nei colori delle 4 case produttrici

Metallo	Casa produttrice			
	“Starbrite”	“Millennium”	“Intenze”	“Diabolo”
Al*	5,64-3762	2,41-5893	7,13-2987	1,59-254
Ba*	0,058-1226	0,549-9,74	0,069-161	0,451-1030
Cd	6,67-1150	1,35-516	12,5-2986	11,3-138
Co	2,78-125	10,7-56,9	8,88-6439	14,7-110
Cr	315-4720	648-3340	335-147229	366-2053
Cu*	0,382-31310	0,679-4540	1,27-1606	0,076-14759
Fe*	4,40-119	0,717-92,9	3,97-88443	2,95-44,9
Hg	<LQ-179	<LQ-112	<LQ-146	92,0-253
Mn	83,7-1790	293-1525	79,2-98790	83,5-1701
Ni	37,5-2318	44,8-1067	66,8-9592	73,3-5049
Pb	15,9-834	70,7-422	33,2-14798	60,5-1448
Sb	7,05-175	3,84-575	61,4-4116	13,5-2259
Sr*	0,370-4,03	0,275-3,42	0,174-14,3	1,19-36,4
V	6,22-1443	27,0-2521	98,3-11050	5,98-1984

* Valori in µg/g

Tra i metalli con una nota rilevanza allergologica, il Cr ha mostrato la concentrazione più alta (315 - 147229 ng/g), seguito dal Ni (37,5 - 9592 ng/g) e poi dal Co (2,78 - 6439 ng/g) (vedi Tabella 6). I valori ottenuti per Co, Cr e Ni possono essere confrontati con i livelli individuati come allergologicamente sicuri per i consumatori esposti a prodotti contenenti tali metalli. In questo contesto, Basketter *et al.* (2003) hanno dimostrato che in presenza di sostanze irritanti e/o in seguito a ripetute esposizioni a Co, Cr e Ni raramente le persone manifestano una reazione allergica e/o sensibilizzante a livelli inferiori a 10 ppm. Per questo motivo gli stessi autori raccomandano che i prodotti di consumo debbano contenere meno di 5 ppm di Co, Cr e Ni o, per una maggiore sicurezza, meno di 1 ppm (15). La Figura 1 mostra i livelli di Cr e Ni contenuti nei colori analizzati rispetto al limite di sicurezza pari ad 1 ppm. Vale la pena notare che una percentuale elevata, ovvero il 62,5%, di inchiostri contiene livelli di Cr al di sopra del limite di 1 ppm; il 69,2% di questi inchiostri appartengono alla “Starbrite”, l’80,0% alla “Millennium”, il 46,1% alla “Intenze” e il 60,0% alla “Diabolo”. Per quanto riguarda il Ni, il 16,1% dei campioni superano il limite, e di questi il 15,3% è della “Starbrite”, il 10,0% della “Millennium”, il 7,7% della “Intenze” e il 25,0% della “Diabolo”. Nel caso del Co, un solo campione (ovvero l’1,8% di tutti i casi) supera il limite di sicurezza allergologica. Tali risultati indicano che il contatto della pelle con le quantità di Cr e Ni contenute negli inchiostri analizzati sono in grado di rappresentare un rischio per lo sviluppo di patologie dermatologiche in pazienti tatuati.

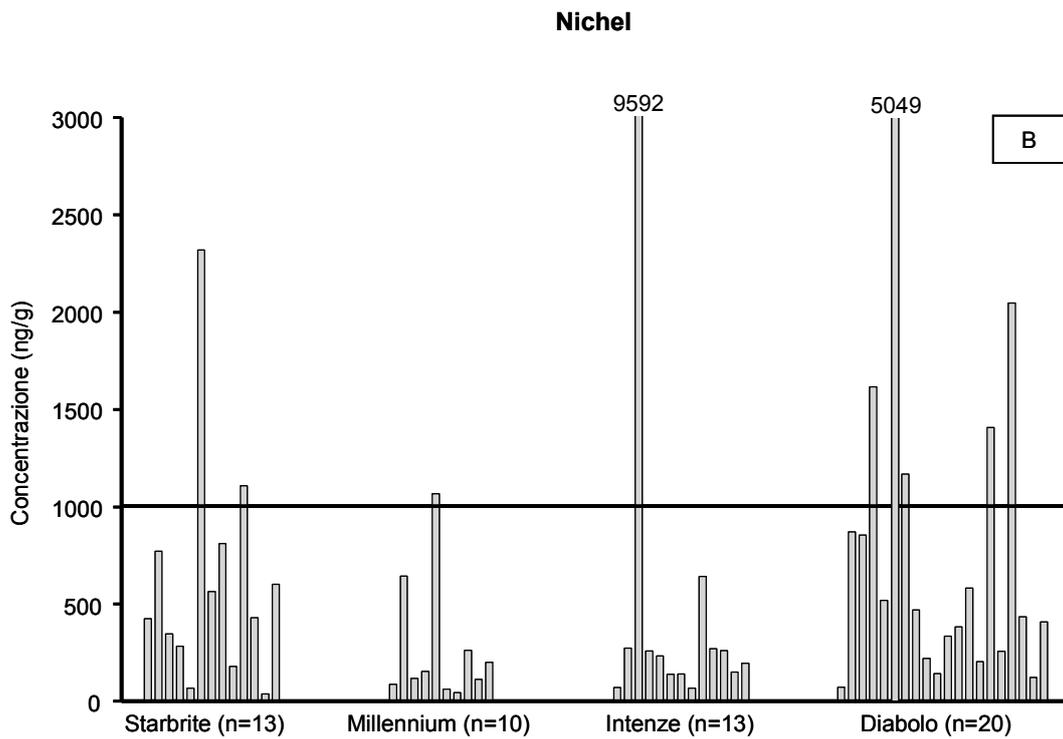
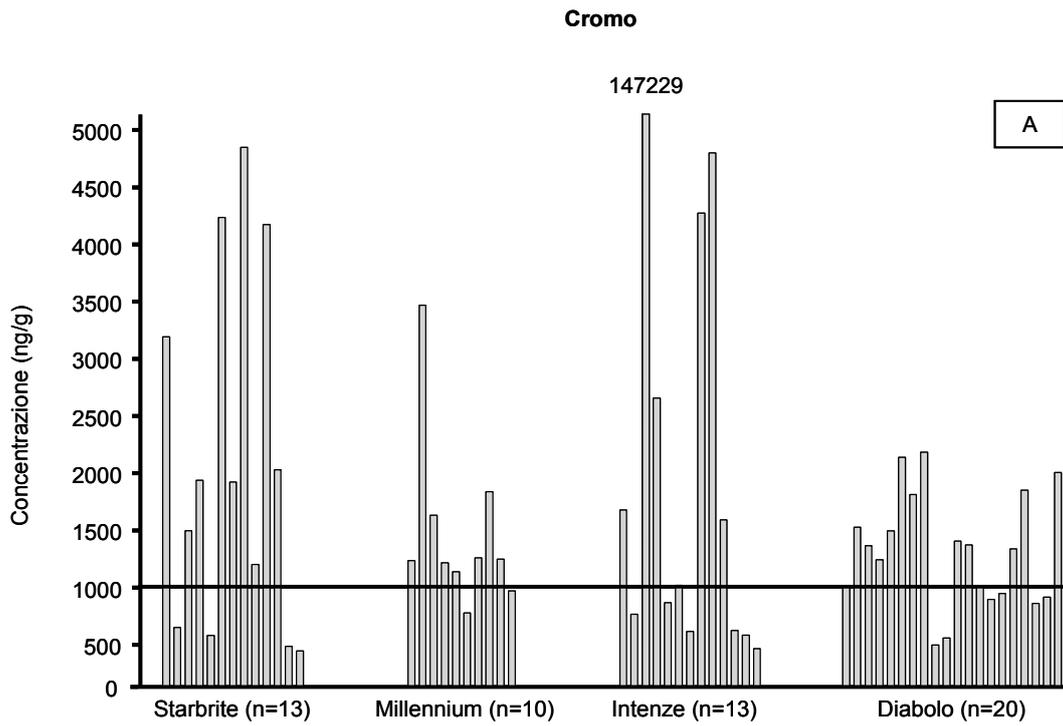


Figura 1. Concentrazioni di Cr (A) e Ni (B) nei colori confrontate con il limite di sicurezza allergologico di 1 ppm (linea orizzontale)

Per quanto riguarda i metalli tossici, Mn (79,2 - 98790 ng/g), Pb (15,9 - 14798 ng/g) e V (5,98 - 11050 ng/g) mostrano i valori più alti, seguiti da Cd (1,35 - 2986 ng/g) e Sb (3,84 - 4116 ng/g). Il Hg è in tracce o addirittura non rilevabile (<LQ - 253 ng/g).

La maggior parte dei tatuaggi sono inchiostri a base di sali metallici il cui uso primario non è proprio quello di essere inseriti sotto la pelle. Attualmente, gli organismi di regolamentazione, come la *Food and Drug Administration*, non approvano l'uso di inchiostri colorati da iniettare sotto pelle. L'idea comune è che questi pigmenti siano inerti e che non siano in grado di causare problemi per la salute umana, eppure, in letteratura, sono state documentate un numero piuttosto elevato di reazioni avverse in persone tatuate proprio a causa dei sali metallici inorganici contenuti nei colori.

L'arancione può essere considerato una tonalità del rosso. Timko *et al.* riportano la composizione di due campioni di arancione e uno di essi è costituito principalmente da C mentre l'altro da Ti, C e Al (16). Nei 5 inchiostri arancioni da noi analizzati, l'Al è il componente principale (70,3 - 2079 µg/g), mentre gli altri metalli sono generalmente a livelli bassi. In alcuni pigmenti arancioni sono presenti picchi di Cr (circa 5000 ng/g, "Starbrite" *brite orange*), Cd (circa 3000 ng/g, "Intenze" *peach*) e Pb (circa 15000 ng/g, "Intenze" *peach*).

I pigmenti bianchi derivano dal biossido di Ti, naturalmente presente nell'ambiente come anatasio o rutilo. Questo composto è stato utilizzato per sostituire altri sali come il solfato di Ba e il più tossico carbonato di Pb (biacca). In un lavoro precedente, in 3 inchiostri bianchi sono stati trovati due metalli – vale a dire il Ti (>94% in peso) e l'Al (16) – come costituenti principali. I bianchi analizzati in questo studio mostrano un tenore molto basso di Pb e Ba, mentre l'Al mostra nuovamente un'elevata concentrazione (112 - 5868 µg/g).

Tra le sostanze utilizzate per la produzione del blu sono da includere: carbonato di Cu (azzurrite), silicati di Na e Al (lapislazzuli), silicati di Cu e Ca (blu egiziano), Cu ftalocianina, alluminato di Co (blu di cobalto) e ossidi di Cr. Gli inchiostri a base di Cu sembrano essere più stabili e meno tossici dei pigmenti a base di Co; infatti, casi di orticaria, granuloma e pseudolinfoma sono stati attribuiti a vari pigmenti contenenti il Co (10, 14, 17, 18). È stato descritto anche un caso di ipersensibilità al Cr trovato in un tatuaggio blu chiaro (19). I dati ottenuti negli 8 diversi tipi di blu da noi studiati rivelano un'alta concentrazione di Cu (da 558 µg/g a 31310 µg/g) e Al (da 5,64 µg/g a 2963 µg/g), mentre il Co (11,1 - 184 ng/g) e il Cr (521 - 1809 ng/g) sono piuttosto bassi. In un colore blu ("Starbrite" *country blue*) è stato riscontrato un elevato livello di Cd (1150 ng/g), ed in tutti e tre i pigmenti blu della serie "Diabolo" anche Pb, Sb, Sr e V sono piuttosto alti (medie di 637 ng/g, 1491 ng/g, 25,9 µg/g, e 1899 ng/g, rispettivamente).

L'inchiostro nero naturale è ottenuto dalla magnetite e dalla wustite (ossidi di Fe) o dalla combustione di C amorfo. Il colore nero può anche essere inchiostro "India" che contiene particelle di C o il cosiddetto *logwood* che viene estratto dalla pianta *Haematoxylum campechisnum* (contenente Cr). La presenza di Fe e C come componenti principali del colore nero è stata confermata da Timko *et al.* e Kim *et al.* Nel primo studio, il Fe è stato trovato ad un livello pari a circa l'86% in peso in inchiostri neri e il C al 92,2% in un inchiostro "India" (16); nel secondo studio, il C è pari al 32,8% e il Fe al 1,0% in un pigmento nero (20). Esistono pochi casi di sensibilizzazione cutanea dovuta ai pigmenti di color nero. L'ossido di Fe presente in un inchiostro usato per creare la pigmentazione del sopracciglio ha provocato dermatite granulomatosa (13). Morales-Callaghan *et al.* hanno riportato il caso di un paziente con granulomi sarcoidali nella zona di un tatuaggio nero e l'analisi chimica del pigmento ha rivelato alti livelli di Fe (13% in peso), Co (14 µg/g) e Ni (12 µg/g) (11). Nel nostro studio, il livello di Fe è di circa 100 µg/g nei colori neri sia della serie "Starbrite" che di quella "Millennium", mentre è più basso (circa 6 µg/g) negli altri due marchi. Gli altri elementi sono generalmente

bassi, ad eccezione del Cr (3000 ng/g nel nero “Starbrite”) e del Pb (1500 ng/g nel nero “Diabolo”).

Il pigmento giallo è realizzato col solfuro di Cd. La caratteristica di questo composto è la marcata proprietà di fotoconduzione. Per questo motivo esistono casi di dermatiti fotoallergiche e fototossiche quando il colore giallo è esposto alla luce (21); più di un autore ha evidenziato casi di pazienti con gonfiore sul sito di applicazione di un tatuaggio di colore giallo (21-23). Nei nostri campioni i livelli di Cd sono molto bassi (al di sotto di 249 ng/g) e per ciò il rischio di tossicità per la salute dovrebbe essere piuttosto limitato.

Il colore grigio è di solito un prodotto a base di C; i 4 inchiostri grigi analizzati mostrano alte concentrazioni di Al, Cu e Fe, mentre tutti gli altri elementi sono bassi.

L’ocra che è composta da ossidi di Fe mescolati con argilla è il componente base del marrone. Nei 4 marroni il Fe cade nell’intervallo 16,4 µg/g - 88443 µg/g ed è il metallo più abbondante, seguito dall’Al (8,01 - 150 µg/g). Simile osservazione è stata fatta da Timko *et al.* (16) che riportano per il Fe un intervallo dal 57,26% al 79,85% in peso in vari inchiostri marroni e da Kim *et al.* (20) dove il Fe è stato trovato in quantità pari al 72,7% e 65,4% in peso in altri due pigmenti marroni. Inoltre, il campione chiamato *dark chocolate* della serie “Intenze” ha evidenziato concentrazioni elevate per vari elementi tossici quali il Mn (98790 ng/g), il Pb (8128 ng/g), l’Sb (4116 ng/g) ed il V (11049 ng/g), e per i principali elementi allergenici (Co, 6439 ng/g; Cr, 147229 ng/g; Ni, 9592 ng/g).

Un nuovo colore usato nei tatuaggi è il rosa. Il *rose* di “Intenze” è una combinazione di pigmenti rossi e bianchi a base di biossido di Ti. Il metallo con la più alta concentrazione è nuovamente l’Al (1727 µg/g), seguito da Cu e Fe. Il rosa sembra contenere livelli relativamente elevati di Sr (2,64 µg/g) e V (1510 ng/g).

Il rosso è il colore più frequentemente associato allo sviluppo di patologie della pelle. Infatti, sono state osservate reazioni granulomatose (9, 24), eczematose (25), pseudolinfomatose (10) e lichenoidi (26). Il colorante rosso è di solito dovuto al solfuro di Hg, ma possono anche essere usati il solfuro di Cd e il seleniuro di Cd, o in alternativa l’ossido di Fe (ruggine) e l’idrato ferrico (terra di siena/ocra rossa). Un precedente lavoro ha mostrato che i componenti principali di 5 pigmenti rossi sono il Ti, il C e l’Al, ed, in aggiunta, Fe e Al sono stati riscontrati in alcune singole occasioni (16). In questo studio, tutti gli 8 campioni contengono Al, Fe e Ba alle concentrazioni più alte, mentre Cd e Hg sono in tracce o addirittura sotto il livello dell’LQ. In più, due inchiostri rossi della serie “Intenze” contengono Cr a circa 4000 ng/g, e quelli della serie “Diabolo” contengono Ni a 1400 ng/g e Cu al di sopra di 1 mg/g.

L’ingrediente utilizzato per la produzione dei pigmenti verdi è principalmente l’ossido di Cr, ma vengono usati anche altri composti quali i sali di Cu (ftalocianina di Cu e malachite), il cromato di Pb (giallo cromo) e il ferricianuro ferrico (blu di Prussia). Vari autori hanno evidenziato casi di dermatite erpetiforme o eczematosa e di reazioni pseudolinfomatose nelle zone tatuate con un pigmento verde contenente Cr (10, 27, 28). Timko *et al.* (2001) hanno analizzato 6 diverse tonalità di verde: 1 di loro conteneva Cr al 72,66% in peso, 4 contenevano Cu e tutti i campioni mostravano tracce di Al (16). I 6 verdi esaminati nel nostro studio possono essere considerati derivati del Cu in quanto questo metallo è sicuramente il costituente principale (552 - 22043 µg/g); in più, in campioni della stessa marca (la “Starbrite”, per esempio) la sua concentrazione varia notevolmente in funzione della diversa tonalità (il Cu nel *deep green* è circa 40 volte maggiore che nel *lime green*). L’Al è il secondo elemento più abbondante dopo il Cu (137 - 2012 µg/g), seguito da Fe (16,4 - 101 µg/g), Cr (1087 - 4108 ng/g) e Pb (al di sotto di 1000 ng/g). Per quanto riguarda il Ni, 3 campioni (*deep green* della “Starbrite” e *basic* e *willow green* della “Diabolo”) contengono il metallo tra 1 e 5 ppm.

Il sale metallico usato per il colore viola contiene Mn. Malattie della pelle causate da questo elemento sembrano essere molto rare. Uno studio ha segnalato il Mn come possibile causa di

gonfiore e prurito al sito di applicazione di un tatuaggio viola (23). Altri autori riportano un caso di eritema nella regione viola di un tatuaggio associato alla presenza di un granuloma nelle immediate vicinanze delle particelle di Mn (29). La presenza di Mn nei nostri campioni è relativamente bassa con un massimo di concentrazione nel *violent violet* della serie "Millennium" (1265 ng/g). Il V è più alto di 1 ppm in 5 diversi colori viola.

Conclusioni

La pratica del tatuaggio è ampiamente adottata in tutto il mondo eppure i componenti inorganici presenti nei pigmenti, una volta iniettati sotto pelle, possono causare patologie croniche o sistemiche. In questo contesto, lo scopo di questa ricerca è stato quello di caratterizzare la composizione chimica di 56 inchiostri per tatuaggio presenti sul mercato italiano e far luce sui rischi connessi.

I dati hanno indicato che il contributo relativo dei metalli alla composizione del pigmento è estremamente variabile tra i campioni, tra i marchi, ed anche all'interno della stessa tonalità di colore. Alluminio, Ba, Cu, Fe e Sr sono i metalli più abbondanti. Tra i metalli allergenici il Cr è più alto del limite di sicurezza allergologico di 1 ppm in 35 colori, il Ni in 9 colori ed il Co in un solo colore. Elementi tossici come Cd, Mn, Pb, Sb e V sono maggiori di 1 ppm solo in casi sporadici, mentre il Hg è in tracce o assente.

Considerato che il contatto tra la pelle e il tatuaggio dura tutta la vita, siamo esposti in modo continuativo a sostanze tossiche e/o allergizzanti contenute nei pigmenti, con conseguente possibile accumulo di metalli nel corpo. Per questo motivo è necessario che le autorità regolamentino questo tipo di prodotti destinati ad un contatto prolungato con la pelle ed è auspicabile avere dalle ditte che vendono insieme a questi prodotti informazioni dettagliate circa la composizione metallica del materiale che verrà iniettato nella pelle.

Bibliografia

1. Mayers LB, Judelson DA, Moriarty BW, Rundell KW. Prevalence of body art (body piercing and tattooing) in university undergraduates and incidence of medical complications. *Mayo Clin Proc* 2002;77:29-34.
2. Forbes GB. College students with tattoos and piercings: motives, family experiences, personality factors, and perception by others. *Psychol Rep* 2001;89:774-86.
3. Armstrong ML, Murphy KP. Tattooing: another adolescent risk behavior warranting health education. *Appl Nurs Res* 1997;10:181-9.
4. Eurispes. 3° rapporto nazionale sulla condizione dell'infanzia e dell'adolescenza. Roma, ottobre 2002.
5. Boncompagni G, Lazzeri G, Martiello MA, Incandela L, Santori R, Spinelli GM, Senatore R, Gentili G, Pozzi T, Giacchi M. Related risks of tattoos and piercings: prevalence study in a convenience sample. *J Prev Med Hyg* 2005;46:153-8
6. Kaatz M, Elsner P, Bauer A. Body-modifying concepts and dermatologic problems: tattooing and piercing. *Clin Dermatol* 2008;26:35-44.
7. Duke D, Urioste SS, Dover JS, Anderson RR. A reaction to a red lip cosmetic tattoo. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:488-90.
8. Schmitz I, Müller K-M. Elemental analysis of tattoo dyes-is there a potential risk from tattoo dyes? *JDDG* 2004;2:250-3.

9. Sowden JM, Byrne JP, Smith AG, Hiley C, Suarez V, Wagner B, Slater DN. Red tattoo reactions: X-ray microanalysis and patch-test studies. *Br J Dermatol* 1991;124:576-80.
10. Blumental G, Okun MR, Pontich JA. Pseudolymphomatous reaction to tattoos. *J Am Acad Dermatol* 1982;6:485-8.
11. Morales-Callaghan AM, Aguilar-Bernier M, Martínez-García G, Miranda-Romero A. Sarcoid granuloma on black tattoo. *J Am Acad Dermatol* 2006;55:S71-S73.
12. Eun HC, Kim KH. Allergic granuloma from cosmetic eyebrow tattooing. *Contact Dermatitis* 1989;21:276-8.
13. Rubianes EI, Sánchez JL. Granulomatous dermatitis to iron oxide after permanent pigmentation of the eyebrows. *J Dermatol Surg Oncol* 1993;19:14-6.
14. Basketter DA, Angelini G, Ingber A, Kern PS, Menné T. Nickel, chromium and cobalt in consumer products: revisiting safe levels in the new "Millennium". *Contact Dermatitis* 2003;49:1-7.
15. Bagnato GF, De Pasquale R, Giacobbe O, Chirico G, Ricciardi L, Gangemi S, Purello d'Ambrosio F. Urticaria in a tattooed patient. *Allergol Immunopathol* 1999;27:32-3.
16. Timko AL, Miller CH, Johnson FB, Victor Ross E. In vitro quantitative chemical analysis of tattoo pigments. *Arch Dermatol* 2001;137:143-7.
17. Björnberg A. Allergic reaction to cobalt in light blue tattoo marking. *Acta Derm Venereol* 1961;41:259-63.
18. Smith JD, Odom RB, Maibach HI. Contact urticaria from cobalt chloride. *Arch Dermatol* 1975;111:1610-1.
19. Tazelaar DJ. Hypersensitivity to chromium in a light-blue tattoo. *Dermatologica* 1970;141:282-7.
20. Kim J-W, Lee J-W, Won YO, Kim JH, Lee S-C. Titanium, a major constituent of blue ink, causes resistance to Nd-YAG (1064 nm) laser: results of animal experiments. *Acta Derm Venereol* 2006;86:110-3.
21. Björnberg A. Reactions to light in yellow tattoos from cadmium sulfide. *Arch Dermatol* 1963;88:267-71.
22. Tindall JP, Smith JG. Unusual reactions in yellow tattoos: microscopic studies on histologic sections. *South Med J* 1962;55:792-5.
23. Nguyen LQ, Allen HB. Reactions to manganese and cadmium in tattoos. *Cutis* 1979;23:71-2.
24. Verdich J. Granulomatous reaction in a red tattoo. *Acta Derm Venereol* 1981;61:176-7.
25. Pauluzzi P, Giordani M, Guarnieri GF, Pascone M. Chronic eczematous reaction to red tattoo. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1998;11:187-8.
26. Corazza M, Zampino MR, Pagnoni A, Virgili A. Lichenoid reaction from a permanent red tattoo: has nickel a possible aetiologic role? *Contact Dermatitis* 2002;46:114-5.
27. Björnberg A. Allergic reactions to chrome in green tattoo markings. *Acta Derm Venereol* 1959;39:23-9.
28. Loewenthal LJA. Reactions in green tattoos. *Arch Dermatol* 1960;82:237-43.
29. Schwartz RA, Mathias CGT, Miller CH, Rojas-Corona R, Lambert WC. Granulomatous reaction to purple tattoo pigment. *Contact Dermatitis* 1987;16:198-202.

PALLADIO IN PAZIENTI CON PROTESI DENTARIE METALLICHE

Stefano Caimi (a), Francesco Petrucci (a), Antonio Cristaudo (b), Valentina Bordignon (b)

(a) Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Servizio di Dermatologia Allergologica Professionale ed Ambientale, Istituto Dermatologico San Gallicano-IRCCS, Roma

Introduzione

Il Pd è uno dei metalli del gruppo del platino, e la sua produzione ed utilizzo risultano più che raddoppiati negli ultimi dieci anni (1, 2). Una riduzione dei costi delle materie prime e della produzione si è registrata da quando il Pd è stato sempre più usato come sostituto di altri metalli nel settore industriale, nelle leghe per relè e sistemi di commutazione, nelle apparecchiature per telecomunicazioni, come catalizzatore nella produzione di oro bianco, negli impianti elettrici in aviazione, e nella maggior parte degli impianti dentali e amalgame (le leghe dentali possono contenere fino al 10% di Pd) (3-7). Inoltre, i dati di tossicità a livello locale (8) e sistemico (9) sembrano dimostrare la sicurezza del Pd. Grazie alla qualità delle manufatti e al fatto che le leghe odontoiatriche contenenti Pd sono sempre più utilizzate per la loro resistenza all'usura meccanica (10, 11), la popolazione sta diventando sempre più esposta a questo elemento. L'aumento della domanda per tale metallo è anche attribuibile all'emanazione della Direttiva Europea 94/27/CE (12-14) che regola l'uso del Ni in tutti i prodotti industriali messi a contatto diretto e prolungato con la pelle per limitare il contatto del consumatore con questo potenziale allergene. Tale normativa ha portato ad un aumento dell'uso di altri metalli, tra cui il Pd, per specifiche applicazioni come nella realizzazione di leghe per l'ortopedia, per i gioielli "esenti da Ni" (4) e per gli apparecchi ortodontici (15). Fino ad oggi, è stato ritenuto che il Pd fosse un metallo a basso rischio in odontoiatria a causa della sua bassa capacità di dissoluzione; tuttavia, nonostante nel passato i casi di dermatite indotta da Pd siano stati rari (5), recentemente è stato registrato un aumento nella casistica (1, 3, 16, 17). È stato osservato un numero significativo di pazienti allergici al solfato di Ni che hanno dato reazioni positive anche al cloruro di Pd (18, 19) e sono stati riportati casi associati a dermatite allergica da contatto (DAC) con sintomi a carico del cavo orale (20, 21) o con dermatiti esterne alla mucosa orale (22). Nel corso dell'ultimo decennio, sono stati pubblicati diversi lavori sulla sensibilizzazione al Pd in cui venivano descritti sintomi come DAC della mucosa orale (21), cheilite, stomatite (23), bruciore alla bocca, reazioni lichenoidi, granulomatosi oro facciale, tumefazione di labbra e guance, vertigini, asma, orticaria cronica (1, 24, 25). In alcuni casi le evidenze sintomatiche sono scomparse dopo sostituzione con ricostruzioni "esenti da Pd" (26). La sensibilizzazione al cloruro di Pd ha raggiunto la più alta percentuale (9,7%) in Italia nel corso del 2000 (1). Da quando il Pd ha iniziato a sostituire nelle amalgame dentali il mercurio, per via della sua tossicità, e l'oro per ragioni economiche, è stato segnalato un aumento della sensibilizzazione del 9,4% in Inghilterra (27), 8% in Europa (28) e 8,3% in Austria (16). L'alta percentuale di sensibilizzazione costituisce il primo indicatore di un problema sanitario emergente. Pertanto, incoraggiati dai positivi risultati dei *patch test* in alcuni pazienti affetti da sindrome della bocca che brucia, nel 1996 il Pd è stato incluso nella lista dei *patch test* di routine per la DAC presso il Dipartimento di Allergologia dell'Istituto Dermatologico San Gallicano di Roma. Il presente studio è stato intrapreso con l'obiettivo di analizzare l'andamento dei fenomeni di

sensibilizzazione al Pd in una popolazione affetta da DAC confrontando i dati dei pazienti del 1996 con quelli di un gruppo esaminato a distanza di dieci anni (2006). Inoltre, dal momento che molti studi *in vitro* hanno sia confermato la corrosione delle leghe dentali che evidenziato il rilascio di metalli nella cavità orale (29, 30), il contenuto di Pd è stato esaminato nella saliva, nel siero e in urina di soggetti selezionati con sospetta reazione avversa a protesi dentarie. Inoltre, una prova di rilascio e un'analisi micro morfologica per immagini sono state eseguite su protesi ortodontiche in Pd. La determinazione del Pd in campioni di origine biologica necessita di tecniche di analisi di adeguato potere di rilevabilità. Pertanto, è stato sviluppato un metodo specifico di analisi per la determinazione del Pd nella saliva, nel siero e nelle urine. Le misurazioni sono state eseguite mediante spettrometria di massa ad alta risoluzione con plasma accoppiato induttivamente (SF-ICP-MS), tecnica analitica particolarmente adatta per la determinazione di elementi in tracce e ultratracce in campioni ambientali e biologici. Le uniche limitazioni potrebbero risiedere nelle interferenze isobariche e poliatomiche che potrebbero costituire un problema durante l'analisi del Pd in tali matrici e, pertanto, uno studio delle interferenze è stato effettuato per applicare opportune correzioni.

Materiali e metodi

Pazienti

Tutti i soggetti sottoposti a *patch test* presso il Dipartimento di Allergologia dell'Istituto Dermatologico San Gallicano nel corso di un anno nel 1996 (n = 3071) e nel 2006 (n = 3093) sono stati inclusi nella popolazione sotto analisi. È stata effettuata una dettagliata anamnesi dei pazienti, in cui venivano registrati dati quali la storia dell'esposizione a metalli e l'uso di protesi dentarie metalliche. Sei pazienti tra quelli osservati nel corso del 2006 sono stati selezionati per l'analisi del contenuto di Pd in campioni biologici. Essi avevano mostrato una reazione positiva al *patch test* di Pd insieme a sintomi orali tra cui gengivite, alterazione del gusto, secchezza della bocca, e bruciore associati alla presenza di applicazioni odontoiatriche in metallo (escluse quelle in amalgama). Dieci soggetti con *patch test* negativo e senza alcun tipo di applicazione in metallo o amalgame sono stati selezionati come controlli. In un paziente, i livelli del Pd sono stati confrontati nei liquidi biologici raccolti prima e un mese dopo la rimozione delle protesi dentarie. Tutti i soggetti inclusi nella popolazione sono stati debitamente informati circa lo scopo dello studio ed è stato ottenuto il loro consenso al trattamento dei dati.

Campioni biologici

Fluido salivare, urine e siero sono stati raccolti da ciascun paziente e dai soggetti di controllo. La saliva (1 mL) è stata prelevata in tubi di polietilene "Metal Free" (PE) prima di colazione e dell'uso dello spazzolino da denti. Questa procedura è stata ripetuta dopo 2 giorni. I campioni sono stati trattati con 1 mL di HNO₃ ultra puro in forno a microonde a 80 °C per 1 ora, diluiti fino a 10 mL con acqua deionizzata e successivamente analizzati. Campioni di sangue ed urine sono stati raccolti al mattino in tubi in PE. Dal sangue è stato ottenuto il siero per centrifugazione. Entrambi i fluidi biologici sono stati conservati a -20 °C sino al momento dell'analisi. Il trattamento pre-analitico dei campioni di siero ed urine è consistito in una diluizione (1:5 v/v) con acqua deionizzata.

Patch test

I *patch test* sono stati eseguiti applicando gli apteni sulla pelle inalterata della parte superiore della schiena dei soggetti adoperando allergeni da contatto della Serie Europea Standard addizionata con dosaggi di cloruro di Pd all'1% in petrolato. Le risposte ai *patch test* sono state esaminate dopo due giorni e definita secondo le linee guida dell'*International Contact Dermatitis Research Group* (31).

Analisi SF-ICP-MS

L'analisi delle soluzioni digerite contenenti il metallo è stata effettuata tramite SF-ICP-MS dotato di nebulizzatore di vetro tipo Meinhard, di camera di Scott raffreddata ad acqua, di torcia schermata con lamina di platino (*guard electrode*) e di coni di platino all'interfaccia. L'analisi è stata eseguita a media risoluzione ($m/\Delta m = 3000$) impostando la potenza della radiofrequenza a 1,25 kW, il flusso di gas (argon) del plasma pari a 14,0 L/min, quello del gas ausiliario a 1,0 L/min e quello del gas di nebulizzazione a 1,10 L/min.

La scelta degli isotopi analitici ^{105}Pd , ^{106}Pd e ^{108}Pd tra quelli disponibili è stata dettata dalla loro maggiore abbondanza. Le interferenze potenziali su queste masse sono riportate in Tabella 1.

Tabella 1. Potenziali interferenze sugli isotopi del Pd

Massa analitica (abbondanza,%)	Potenziali interferenze
^{105}Pd (22,3)	$^{209}\text{Bi}^{++}$, $^{65}\text{Cu}^{40}\text{Ar}$, $^{67}\text{Zn}^{38}\text{Ar}$, $^{69}\text{Ga}^{36}\text{Ar}$, $^{89}\text{Y}^{16}\text{O}$, $^{88}\text{Sr}^{17}\text{O}$, $^{87}\text{Sr}^{18}\text{O}$, $^{104}\text{Pd}^1\text{H}$, $^{104}\text{Ru}^1\text{H}$, $^{93}\text{Nb}^{12}\text{C}$, $^{92}\text{Zr}^{13}\text{C}$, $^{90}\text{Zr}^{15}\text{N}$, $^{91}\text{Zr}^{14}\text{N}$, $^{89}\text{Y}^{15}\text{N}^1\text{H}$, $^{90}\text{Zr}^{14}\text{N}^1\text{H}$, $^{87}\text{Sr}^{17}\text{O}^1\text{H}$, $^{88}\text{Sr}^{16}\text{O}^1\text{H}$, $^{87}\text{Rb}^{17}\text{O}^1\text{H}$, $^{86}\text{Kr}^{18}\text{O}^1\text{H}$, $^{86}\text{Sr}^{18}\text{O}^1\text{H}$, $^{86}\text{Sr}^{19}\text{F}$, $^{74}\text{Ge}^{31}\text{P}$, $^{74}\text{Se}^{31}\text{P}$, $^{72}\text{Ge}^{33}\text{S}$, $^{73}\text{Ge}^{32}\text{S}$, $^{68}\text{Zn}^{37}\text{Cl}$, $^{70}\text{Zn}^{35}\text{Cl}$
^{106}Pd (27,3)	^{106}Cd (1,25), $^{66}\text{Zn}^{40}\text{Ar}$, $^{68}\text{Zn}^{38}\text{Ar}$, $^{70}\text{Ga}^{36}\text{Ar}$, $^{70}\text{Zn}^{36}\text{Ar}$, $^{89}\text{Y}^{17}\text{O}$, $^{88}\text{Sr}^{18}\text{O}$, $^{105}\text{Pd}^1\text{H}$, $^{93}\text{Nb}^{13}\text{C}$, $^{94}\text{Zr}^{12}\text{C}$, $^{94}\text{Mo}^{12}\text{C}$, $^{92}\text{Zr}^{14}\text{N}$, $^{92}\text{Mo}^{14}\text{N}$, $^{89}\text{Y}^{16}\text{O}^1\text{H}$, $^{87}\text{Rb}^{18}\text{O}^1\text{H}$, $^{87}\text{Sr}^{19}\text{F}$, $^{87}\text{Rb}^{19}\text{F}$, $^{75}\text{As}^{31}\text{P}$, $^{72}\text{Ge}^{34}\text{S}$, $^{74}\text{Ge}^{32}\text{S}$, $^{73}\text{Ge}^{33}\text{S}$, $^{69}\text{Ga}^{37}\text{Cl}$, $^{71}\text{Ga}^{35}\text{Cl}$
^{108}Pd (22,6)	^{108}Cd (0,89), $^{68}\text{Zn}^{40}\text{Ar}$, $^{70}\text{Ge}^{38}\text{Ar}$, $^{72}\text{Ge}^{36}\text{Ar}$, $^{92}\text{Zr}^{16}\text{O}$, $^{92}\text{Mo}^{16}\text{O}$, $^{90}\text{Zr}^{18}\text{O}$, $^{107}\text{Ag}^1\text{H}$, $^{96}\text{Mo}^{12}\text{C}$, $^{96}\text{Ru}^{12}\text{C}$, $^{96}\text{Zr}^{12}\text{C}$, $^{95}\text{Zr}^{13}\text{C}$, $^{93}\text{Nb}^{15}\text{N}$, $^{94}\text{Mo}^{14}\text{N}$, $^{94}\text{Zr}^{14}\text{N}$, $^{93}\text{Nb}^{14}\text{N}^1\text{H}$, $^{91}\text{Zr}^{16}\text{O}^1\text{H}$, $^{90}\text{Zr}^{17}\text{O}^1\text{H}$, $^{89}\text{Y}^{18}\text{O}^1\text{H}$, $^{89}\text{Y}^{19}\text{F}$, $^{77}\text{Se}^{31}\text{P}$, $^{74}\text{Ge}^{34}\text{S}$, $^{74}\text{Se}^{34}\text{S}$, $^{76}\text{Se}^{32}\text{S}$, $^{75}\text{As}^{33}\text{S}$, $^{76}\text{Ge}^{32}\text{S}$, $^{71}\text{Ga}^{37}\text{Cl}$, $^{73}\text{Ge}^{35}\text{Cl}$

Tra tutti i possibili interferenti, alcuni di questi si sono rivelati particolarmente pesanti a causa dell'elevata concentrazione del metallo interferente (Cl, Cu, F, Rb, Sr e Zn) nei campioni biologici e non è stato possibile ignorare l'influenza di tali segnali sulla massa analitica. Infatti, per il ^{105}Pd particolare attenzione è stata rivolta alle seguenti specie $^{65}\text{Cu}^{40}\text{Ar}$, $^{88}\text{Sr}^{16}\text{O}^1\text{H}$, $^{86}\text{Sr}^{19}\text{F}$, $^{68}\text{Zn}^{37}\text{Cl}$ e $^{70}\text{Zn}^{35}\text{Cl}$, mentre l'incidenza delle interferenze da $^{67}\text{Zn}^{38}\text{Ar}$, $^{88}\text{Sr}^{17}\text{O}$, $^{87}\text{Sr}^{18}\text{O}$, $^{87}\text{Rb}^{18}\text{O}$ e $^{87}\text{Rb}^{17}\text{O}^1\text{H}$ si è rivelata abbastanza improbabile a causa delle basse abbondanze degli isotopi ^{38}Ar (0,06%), ^{17}O (0,04%) e ^{18}O (0,2%). Per quanto riguarda l'isotopo ^{106}Pd , gli ioni molecolari capaci di influenzare il segnale analitico erano ^{106}Cd (abbondanza 1,25%), $^{66}\text{Zn}^{40}\text{Ar}$, $^{87}\text{Sr}^{19}\text{F}$ e $^{87}\text{Rb}^{19}\text{F}$, mentre i contributi di $^{88}\text{Sr}^{18}\text{O}$, $^{87}\text{Sr}^{18}\text{O}^1\text{H}$ e $^{87}\text{Rb}^{18}\text{O}^1\text{H}$ sono stati di moderata intensità. Infine, la massa del ^{108}Pd era interferita principalmente da $^{68}\text{Zn}^{40}\text{Ar}$ e dall'isotopo ^{108}Cd (abbondanza 0,89%). Le restanti specie interferenti elencate nella Tabella 1 non sono risultate importanti grazie alla concentrazione molto bassa di As, Ga, Ge, Kr, Mo, Nb, Ru, Se, Y e Zr sulle matrici analizzate.

La calibrazione è stata effettuata in matrice mediante aggiunte note dei singoli elementi alle soluzioni analitiche di saliva, siero e urine. Per compensare la deriva strumentale e gli effetti matrice, l'In è stato aggiunto come standard interno (SI) per ciascun campione. I limiti di rivelabilità (LR) sono stati calcolati sulla base del criterio del 3σ su campioni di saliva, urine e siero ottenuti da soggetti non esposti. Gli stessi campioni sono stati utilizzati per le prove di precisione giornaliera. Per sopperire alla mancanza sul mercato di materiali di riferimento certificati per i livelli di Pd nelle matrici in esame, sono state effettuate prove di recupero per valutare l'accuratezza del metodo. A tal fine, una soluzione contenente Pd è stata addizionata prima del trattamento dei campioni biologici, con aliquote di 10, 50 e 100 ng/L di analita.

Prove di rilascio

Al fine di valutare il rilascio di Pd nella saliva, due diversi tipi di perni metallici e un ponte a corona sono stati lasciati a contatto con la saliva in un bagno termostatico a 37 °C per 24 ore. Dopo tale periodo, i campioni di saliva sono stati mineralizzati ed analizzati, come indicato sopra. I campioni sono stati testati in doppio. Per la prova è stata utilizzata saliva prelevata da due soggetti del gruppo di controllo, non esposti al Pd.

Immagini 3D di protesi dentarie

Al fine di esaminare la degradazione delle protesi dentarie, è stata eseguita l'analisi dell'ambiente micro morfologico esterno e interno delle strutture di impianti ortodontici utilizzando la micro tomografia computerizzata a raggi X (SkyScan 1072, SkyScan bvba, Aartselaar, Belgio). In particolare, sono stati confrontati due impianti dentali in Pd, uno rimosso da un paziente sofferente di sintomi orali e uno nuovo dello stesso tipo.

Risultati

Patch test

Nel 1996, dei 3071 pazienti testati con evidenza clinica di eczema, 897 (29,2%) hanno mostrato una reazione positiva ad almeno un allergene. I soggetti avevano le seguenti caratteristiche: 653 donne, 244 uomini, di età compresa tra 21 e 75 anni (media: 43). Nel 2006, tra i 3093 pazienti, 928 (30%) hanno sviluppato almeno una reazione positiva al *patch test*. Il secondo gruppo era costituito da 676 donne; 252 uomini, di età compresa tra 21 e 75 anni (media: 39). Dalle nostre osservazioni si è evidenziato un incremento negli anni della sensibilizzazione al cloruro di Pd da solo. Infatti, episodi di monosensibilizzazione al Pd sono stati riscontrati in un solo paziente (0,1%) tra gli 897 soggetti nel 1996, mentre si è passati a 15 casi nel 2006 (1,6%) tra i 928 pazienti della popolazione esaminata. Il numero di pazienti con risposte positive ai *patch test* per il Ni da solo o con polisensibilizzazione a Pd e Ni è rimasto lo stesso tra il 1996, con 323 casi (36%) positivi al solo Ni e 110 (12,3%) a Ni e Pd, e il 2006, con 328 soggetti (35,3%) positivi al solo Ni e 128 (13,8%) a Ni e Pd. Nel 1996, 463 pazienti (51,6%) hanno mostrato una reazione positiva ad altri allergeni e la stessa percentuale si è ripetuta nel 2006 su 433 pazienti (48,8%).

Osservazioni cliniche

La valutazione clinica dei pazienti sensibili al Pd (vedi Tabella 2) ha dato i seguenti risultati: sintomi orali come cheilite, gengivite e periodontite sono stati osservati nel paziente sensibilizzato nel 1996 e in 5 pazienti positivi nel 2006; sindrome della bocca che brucia è stata osservata in 5 pazienti; glossodinia è stata segnalata in 5 pazienti; mucosite e stomatite sono state osservate in 4 pazienti. Cinque pazienti soffrivano anche di dermatite delle mani ed eczema diffuso. Infine, tutti i pazienti monosensibilizzati erano portatori di protesi dentarie e 4 di loro erano personale dentistico.

Tabella 2. Caratteristiche e sintomi dei 16 pazienti sensibilizzati al solo Pd

Anno	Paziente	Sesso	Gengiviti e periodontiti	Sindrome della bocca che brucia	Glossodinia	Cheilite	Mucositi e stomatiti	Altro*
1996	1	F	X	-	-	X	-	-
2006	2	M	-	X	-	-	-	X
2006	3	M	-	-	X	-	X	-
2006	4	F	X	-	-	-	-	-
2006	5	F	-	X	-	-	-	X
2006	6	F	-	-	X	-	-	-
2006	7	F	X	-	-	X	-	-
2006	8	F	-	-	X	-	X	-
2006	9	M	-	X	-	-	-	X
2006	10	F	X	-	-	X	-	-
2006	11	M	X	-	-	-	X	-
2006	12	M	-	X	-	-	-	X
2006	13	M	-	-	X	-	-	-
2006	14	F	X	-	-	-	-	-
2006	15	F	-	X	-	-	X	X
2006	16	M	-	-	X	X	-	-

* dermatite delle mani ed eczemi diffusi

Prestazioni del metodo

Lo studio delle interferenze è stato effettuato al fine di scegliere il miglior isotopo del Pd e di evitare o superare l'influenza delle interferenze spettrali. Tra gli isotopi del Pd, è stata scelta la massa 108 in quanto il suo segnale è interferito solo da $^{68}\text{Zn}^{40}\text{Ar}$ e ^{108}Cd (Figura 1).

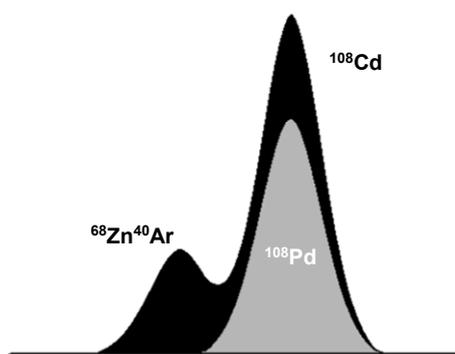


Figura 1. Profilo delle interferenze sulla massa ^{108}Pd a media risoluzione ($m/\Delta m=3000$)

Operando a media risoluzione, l'interferenza poliatomico della specie di Zn è stata spostata fisicamente, mentre per l'interferenza isobarica del ^{108}Cd è stato necessario il ricorso ad una correzione matematica e, pertanto, è stata applicata la seguente equazione:

$$I^{108}\text{Pd} = I^{108} - (x I^{111}\text{Cd RI})$$

dove I è l'intensità (conteggi per secondo) e RI è il rapporto isotopico di abbondanza tra le masse ^{108}Cd e ^{111}Cd . I dati relativi a LR, precisione e recupero sono elencati nelle Tabelle 3 e 4. Il potere di rivelabilità dell'SF-ICP-MS è risultato adeguato per l'analisi del Pd alle concentrazioni attese nelle matrici studiate. Prova dell'affidabilità dell'intero trattamento e delle procedure strumentali è stata la soddisfacente precisione ottenuta su dieci misurazioni. Ad una concentrazione di 50 ng/L, la precisione è variata dal 5,2% per le soluzioni di saliva digerite al 7,9% per le soluzioni di siero e urine diluite in acqua. In quest'ultimo caso, la presenza di materia organica ha portato ad un più elevato (anche se accettabile) grado di instabilità del segnale analitico. In più, i risultati dei recuperi sono stati in buon accordo con le aggiunte per tutte le matrici.

Tabella 3. Limiti di rivelabilità (ng/L) e precisione giornaliera (%) in saliva, siero e urina

Elemento	Saliva		Siero		Urina	
	LR	Precisione	LR	Precisione	LR	Precisione
^{108}Pd	5	5,2	12	6,8	8	7,9

Tabella 4. Dati di recupero per la determinazione del Pd in saliva, siero e urina

Elemento	Saliva		Siero		Urina	
	Aggiunta (ng/L)	Recupero (%)	Aggiunta (ng/L)	Recupero (%)	Aggiunta (ng/L)	Recupero (%)
^{108}Pd	10	101	10	98	10	96
	50	95	50	102	50	98
	100	105	100	103	100	105

Concentrazione di Pd in campioni biologici

Il contenuto di Pd nella saliva, nel siero e nelle urine dei pazienti portatori di applicazioni dentali e del gruppo di controllo è indicato nella Tabella 5. In tutti i campioni biologici sono stati rilevati livelli di Pd superiori al LR. Il valore medio dei livelli di Pd rilevati nei campioni di urina sono stati superiori a quelli trovati nella saliva o nel siero. Tutti i campioni biologici prelevati dai pazienti hanno mostrato livelli significativamente più elevati di Pd rispetto a quelli raccolti dai soggetti di controllo.

Un paziente, che aveva subito la rimozione della protesi dentaria a causa di gravi sintomi orali, ha mostrato una costante riduzione del contenuto di Pd nella saliva (da 250 ng/L a 150 ng/L), nel siero (da 120 ng/L a 50 ng/L) e nelle urine (da 570 ng/L a 280 ng/L) misurato alcuni mesi dopo la rimozione.

Tabella 5. Livelli di Pd (ng/L) in saliva, siero e urina di pazienti e controlli

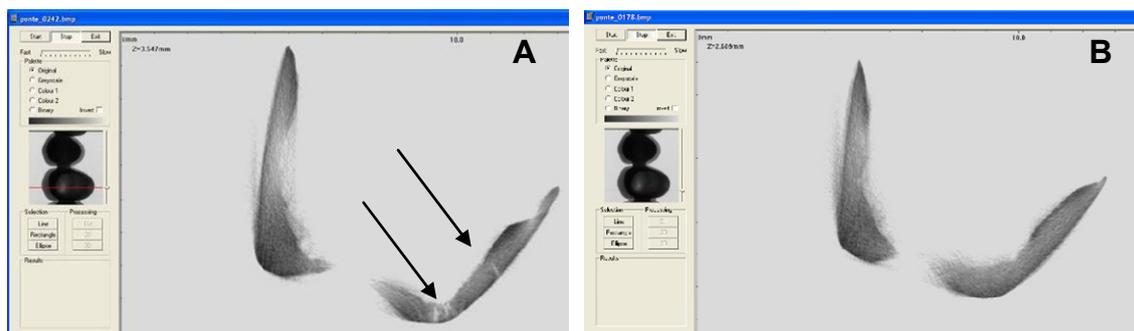
Matrice	Pd nei pazienti (n. 6)		Pd nei Controlli (n. 10)	
	media	mediana	media	intervallo
Saliva	255	160	11	6 - 24
Siero	60	70	15	12 - 28
Urina	580	280	20	8 - 58

Concentrazione di Pd nelle soluzioni di rilascio

Durante le prove di rilascio, non è stata notata alcuna colorazione dei campioni di saliva. Livelli misurabili di Pd sono stati rilasciati nella saliva di controllo da tutti gli apparecchi dentali con cui era stata messa a contatto. In particolare, i valori medi di Pd liberati dai due perni metallici per impianti ($0,73 \pm 0,06$ ng/mL e $0,79 \pm 0,05$ ng/mL) sono stati superiori a quelli rilasciati dai due ponti a corona ($0,12 \pm 0,03$ ng/mL e $0,19 \pm 0,02$ ng/mL).

Tomografia microcomputerizzata

Le immagini 3D hanno evidenziato precisi segni di difetti strutturali nella microarchitettura della protesi dentaria del paziente (Figura 2A) rispetto a quella nuova (Figura 2B). Questa analisi ha confermato che tali dispositivi potrebbero essere sensibili a fenomeni di corrosione una volta impiantati.



**Figura 2. Immagini 3D di protesi dentali;
A: protesi usata con segni di difetti strutturali, B: protesi nuova**

Discussione

L'ipersensibilità ai metalli è un problema incontrato sempre più spesso nei pazienti e potrebbe essere la causa di morbilità significativa. Il Pd è un metallo prezioso usato in gioielleria, nell'industria e nella maggior parte degli impianti dentali (4-7). Anche se questo metallo è stato considerato sicuro, dal 1990 sono stati documentati numerosi casi di pazienti con reazioni positive ai *patch test* con cloruro di Pd (32). Nell'uomo, la sensibilizzazione sembra essere indotta da esposizione cronica a basso dosaggio, infatti Stejskal *et al.* hanno trovato linfociti specifici in pazienti affetti da sintomi locali e sistemici attribuiti ad applicazioni dentali

(33). I pazienti con la sindrome della bocca che brucia spesso non venivano sottoposti a prove di allergia da contatto e nelle prime prove allergiche non erano stati inclusi allergeni potenzialmente rilevanti come il Pd, quindi la causa della sensibilizzazione potrebbe essere rimasta a lungo sconosciuta (21). Nonostante sia ben noto che l'ipersensibilità al Pd è generalmente legata ad una simultanea sensibilizzazione ad altri metalli come Co, Cr e Ni (1, 5, 19, 34, 35), il presente studio ha mostrato che la frequenza di monoreazioni al Pd è aumentata dal 1996 (0,11%) al 2006 (1,6%), suggerendo che questo metallo è sempre più da considerare un "nuovo" potenziale allergene visto il crescente utilizzo che se ne sta facendo negli ultimi dieci anni come sostituto del Ni. È interessante notare che tutti i pazienti monosensibilizzati al Pd con sintomi intraorali portavano protesi dentarie al momento della valutazione clinica. Tale considerazione è in linea con i casi clinici riportati in letteratura, in cui diversi materiali per applicazioni sono stati segnalati come causa di allergie da contatto, di mucositi (36, 37) o della comparsa di lesioni lichenoidi alla mucosa orale a diretto contatto con la ricostruzione dentale (38). In odontoiatria il Pd è un componente molto comune in protesi dentarie e apparecchi di tutti i tipi e pertanto la mucosa orale, gengivale e laterale della lingua sono le più comunemente colpite da reazioni allergiche da contatto (39). Anche se l'allergia da contatto che coinvolge la mucosa orale è una entità clinica ancora scarsamente approfondita, questo e altri articoli suggeriscono che potrebbe essere più comune di quanto precedentemente si ritenesse (37).

La presenza di sintomi orali e l'ipersensibilità al Pd da solo hanno suggerito agli autori di analizzare nei fluidi biologici di pazienti selezionati con impianti dentali i livelli di Pd. In campioni di saliva sono stati rilevati quantità misurabili di Pd e il livello di Pd nel gruppo di studio era maggiore rispetto a quello nei controlli. Questi risultati supportano i dati ottenuti da Garhammer *et al.* che evidenziano come i componenti delle leghe dentali possano essere dispersi nella saliva (40) ed accumularsi nei tessuti molli della cavità orale adiacenti all'impianto (41). Sebbene il contenuto di Pd nella saliva ha mostrato poche variazioni tra i soggetti, sono stati comunque presi in considerazione fattori quali la produzione individuale di saliva, il valore regionale di pH nei dintorni della protesi, la dieta, la presenza di proteine alimentari che potrebbero legarsi ai metalli rilasciati e le abitudini personali (uso di gomme da masticare, ecc.) che avrebbero potuto influenzare la corrosione e il rilascio di ioni metallici dagli apparecchi dentali (29). Alla luce di queste considerazioni, la nostra scelta di escludere i soggetti con amalgame è stata effettuata per evitare la contaminazione da altri metalli (40) e sono state date alcune raccomandazioni (evitare di mangiare, fumare o usare spazzolini da denti prima della raccolta di saliva) (42) per limitare altri fattori confondenti e per standardizzare al meglio il campionamento. Le concentrazioni sieriche di Pd sono risultate piuttosto basse e non riflettono i livelli di Pd trovati nei fluidi salivari e nelle urine, confermando i risultati ottenuti in uno studio sul metabolismo del Pd nei ratti a seguito di esposizione orale sub-acuta (43). In questo studio, la concentrazione di Pd nel siero non era correlata con la dose somministrata ai ratti e i livelli erano più bassi che nelle altre matrici. Nei nostri pazienti i valori medi di Pd urinario sono risultati i più elevati e anche questa tendenza è in accordo con i risultati visti nel lavoro citato (43). Questi dati sono in sintonia con il fatto che il Pd nell'organismo mostra una preferenza per le vie di escrezione (urine e feci) insieme ad un accumulo nel rene (44).

Anche se leghe dentali in Au-Pt-Pd sono considerate i materiali più resistenti alla corrosione elettrochimica e chimica, numerosi parametri non sono sempre controllabili come la qualità della ricostruzione e le abitudini di vita dei pazienti. L'apporto di Pd biologicamente disponibile in forma ionica dipende dal tipo di corrosione in bocca delle leghe dentali contenenti Pd. In linea con altri studi *in vitro* (40, 45, 46), e col supporto delle prove di rilascio qui eseguite, è stata dimostrata la possibilità che avvengano fenomeni di cessione di ioni metallici da vari tipi di leghe per protesi dentarie ed è stata anche confermata la presenza di difetti strutturali negli apparecchi dentali impiantati. Si è rivelato piuttosto interessante il caso di un paziente al quale è

stata rimossa la protesi dentaria a causa di gravi sintomi orali; il soggetto ha presentato una costante riduzione del contenuto di Pd nei fluidi biologici associata ad un evidente miglioramento del quadro clinico.

Conclusioni

Il leggero aumento della monosensibilizzazione da Pd osservato dopo dieci anni nei nostri pazienti potrebbe essere dovuto prevalentemente al crescente utilizzo di Pd nelle leghe per odontoiatria piuttosto che all'esposizione ambientale. In effetti, i pazienti monosensibilizzati al Pd hanno mostrato sintomi clinici associati con livelli misurabili di Pd in tutti i fluidi biologici analizzati. È evidente che sta diventando sempre più importante il ruolo del Pd come elemento capace di causare DAC o reazioni allergiche nei pazienti in cui sia stata effettuata un'applicazione odontoiatrica che lo contenga anche in parte. Il fenomeno merita quindi di essere approfondito mediante una sorveglianza più stretta della popolazione che maggiormente può essere esposta al metallo.

Bibliografia

1. Larese Filon F, Uderzo D, Bagnato E. Sensitization to palladium chloride: a 10-year evaluation. *Am J Contact Dermat* 2003;14(2):78-81.
2. Cristaudo A, Sera F, Severino V, De Rocco M, Di Lella E, Picardo M. Occupational hypersensitivity to metal salts, including platinum, in the secondary industry. *Allergy* 2005;60(2):159-64.
3. Kielhorn J, Melber C, Keller D, Mangelsdorf I. Palladium-a review of exposure and effects to human health. *Int J Hyg Environ Health* 2002;205(6):417-32.
4. Vilaplana J, Romaguera C, Grimalt F, Cornellana F. New trends in the use of metals in jewellery. *Contact Dermatitis* 1991;25(3):145-8.
5. Vincenzi C, Tosti A, Guerra L, Kokelj F, Nobile C, Rivara G. Contact dermatitis to palladium: a study of 2300 patients. *Am J Contact Dermatitis* 1995;6(2):110-2.
6. Gawkrödger DJ, Lewis FM, Shah M. Contact sensitivity to nickel and other metals in jewelry reactors. *J Am Acad Dermatol* 2000;43:31-6.
7. Tobey RG. Palladium-silver: the alloy of the future. *Trends Tech Contemp Dent Lab* 1989;6(6):31-3.
8. Bessing C, Kallus T. Evaluation of tissue response to dental alloys by subcutaneous implantation. *Acta Odontol Scand* 1987;45(4):247-55.
9. Murdoch RD, Pepys J. Enhancement of antibody production by mercury and platinum group metal halide salts. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1986;80(4):405-11.
10. Gil FJ, Sanchez LA, Espias A, Planell JA. In vitro corrosion behaviour and metallic ion release of different prosthodontic alloys. *Int Dent J* 1999;49(6):361-7.
11. Mahler DB, Engle JH, Adey JD. Effect of Pd on the clinical performance of amalgam. *J Dent Res* 1990;69(11):1759-61.
12. Direttiva 94/27/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 30 giugno 1994 che stabilisce la dodicesima modifica della direttiva 76/769/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati Membri relative alla limitazione

- dell'immissione sul mercato e dell'uso di talune sostanze e preparati pericolosi. *Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea* serie L 188 del 27/7/1994, p. 1-2.
13. UNI EN 1811. *Metodo di prova di riferimento per il rilascio di nichel da articoli che vengono in contatto diretto e prolungato con la pelle*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2000.
 14. Liden C. Legislative and preventive measures related to contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 2001;44(2):65-9.
 15. Vamnes JS, Lygre GB, Gronningsaeter AG, Gjerdtet NR. Four years of clinical experience with an adverse reaction unit for dental biomaterials. *Commun Dent Oral Epidemiol* 2004;32:150-7.
 16. Aberer W, Holub H, Strohal R, Slavicek R. Palladium in dental alloys-the dermatologists' responsibility to warn? *Contact Dermatitis* 1993;28(3):163-5.
 17. Guerra L, Misciali C, Borrello P, Melino M. Sensitization to palladium. *Contact Dermatitis* 1988;19(4):306-7.
 18. Van Joost T, Roesyanto-Mahadi ID. Combined sensitization to palladium and nickel. *Contact Dermatitis* 1990;22(4):227-8.
 19. Hindsen M, Spiren A, Bruze M. Cross-reactivity between nickel and palladium demonstrated by systemic administration of nickel. *Contact Dermatitis* 2005;53(1):2-8.
 20. Van Ketel WG, Niebber C. Allergy to palladium in dental alloys. *Contact Dermatitis* 1981;7(6):331.
 21. Downey D. Contact mucositis due to palladium. *Contact Dermatitis* 1989;21(1):54.
 22. Castelain PY, Castelain M. Contact dermatitis to palladium. *Contact Dermatitis* 1987;16(1):46.
 23. Garau V, Masala MG, Cortis MC, Pittau R. Contact stomatitis due to palladium in dental alloys: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2005;93(4):318-20.
 24. Hansen PA, West LA. Allergic reaction following insertion of a Pd-Cu-Au fixed partial denture: a clinical report. *J Prosthodont* 1997;6(2):144-8.
 25. Augthun M, Lichtenstein M, Kammerer G. Studies on the allergenic potential of palladium alloys. *Dtsch Zahnarztl Z* 1990;45(8):480-2.
 26. Prochazkova J, Sterzl I, Kucerova H, Bartova J, Stejskal VD. The beneficial effect of amalgam replacement on health in patients with autoimmunity. *Neuro Endocrinol Lett* 2004;25(3):211-8.
 27. Finch TM, Prais L, Foulds IS. Palladium allergy in a British patch test clinic population. *Contact Dermatitis* 1999;41(6):351-2.
 28. Kranke B, Aberer W. Multiple sensitivities to metals. *Contact Dermatitis* 1996;34(3):225.
 29. Kerosuo H, Moe G, Hensten-Pettersen A. Salivary nickel and chromium in subjects with different types of fixed orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997;111(6):595-8.
 30. Schmalz G, Garhammer P. Biological interactions of dental cast alloys with oral tissues. *Dent Mater* 2002;18(5):396-406.
 31. Rietshel RL, Fowler JF Jr. Practical aspects of patch testing. In: Rietshel RL, Fowler JF Jr (Ed.). *Fisher's Contact Dermatitis*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. p. 9-26.
 32. Rebandel P, Rudzki E. Allergy to palladium. *Contact Dermatitis* 1990;23(2):121-2.
 33. Stejskal VD, Danersund A, Lindvall A, Hudecek R, Nordman V, Yaqob A, Mayer W, Bieger W, Lindh U. Metal-specific lymphocytes: biomarkers of sensitivity in man. *Neuro Endocrinol Lett* 1999;20(5):289-298.
 34. Adams RM. Metal. In: Adams RM (Ed.). *Occupational Skin Disease*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. p. 234.

35. Rietschel RL, Fowler JL Jr. Contact dermatitis and other reactions to metals. In: Rietschel RL, Fowler JF Jr (Ed.). *Fisher's Contact Dermatitis*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 649.
36. Vilaplana J, Romaguera C, Cornellana F. Contact dermatitis and adverse oral mucous membrane reactions related to the use of dental prostheses. *Contact Dermatitis* 1994;30(2):80-4.
37. De Rossi SS, Greenberg MS. Intraoral contact allergy: a literature review and case reports. *J Am Dent Assoc* 1998;129(10):1435-41.
38. Ostman PO, Anneroth G, Skoglund A. Amalgam-associated oral lichenoid reactions. Clinical and histologic changes after removal of amalgam fillings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;81(4):459-65.
39. Laine J, Kalimo K, Happonen RP. Contact allergy to dental restorative materials in patients with oral lichenoid lesions. *Contact Dermatitis* 1997;36(3):141-6.
40. Garhammer P, Hiller KA, Reitinger T, Schmalz G. Metal content of saliva of patients with and without metal restorations. *Clin Oral Investig* 2004;8(4):238-42.
41. Garhammer P, Schmalz G, Hiller KA, Reitinger T. Metal content of biopsies adjacent to dental cast alloys. *Clin Oral Investig* 2003;7(2):92-7.
42. Grocholewicz K, Nocoń I, Gutowska I. The influence of hygiene and health habits on the concentration of some ions in saliva of postmenopausal women. *Ann Acad Med Stetin* 2006;52(Suppl. 1):25-9.
43. Iavicoli I, Bocca B, Fontana L, Caimi S, Petrucci F, Carelli G, Alimonti A. Distribution and elimination of palladium in male wistar rats following 14-day oral exposure in drinking water. *J Toxicol Environ Health A* 2009;72:88-93.
44. Violante N, Petrucci F, Senofonte O, Cristaudo A, Di Gregorio M, Forte G, Alimonti A. Assessment of workers' exposure to palladium in a catalyst production plant. *J Environ Monit* 2005;7(5):463-8.
45. Jensen CS, Lisby S, Baadsgaard O, Byrialsen K, Menne T. Release of nickel ions from stainless steel alloys used in dental braces and their patch test reactivity in nickel-sensitive individuals. *Contact Dermatitis* 2003;48(6):300-4.
46. Barrett RD, Bishara SE, Quinn JK. Biodegradation of orthodontic appliances. Part I. Biodegradation of nickel and chromium in vitro. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1993;103(1):8-14.

NICHEL E ALTRI METALLI POTENZIALMENTE ALLERGENICI IN CREME IDRATANTI PER IL CORPO

Beatrice Bocca (a), Francesco Petrucci (a), Antonio Cristaudo (b), Giovanni Forte (a)

(a) Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Servizio di Dermatologia Allergologica Professionale ed Ambientale, Istituto Dermatologico San Gallicano-IRCCS, Roma

Introduzione

Gli allergeni da contatto sono sempre più numerosi ed il loro numero è destinato ad aumentare. Tra i principali allergeni da contatto vanno considerati i metalli quali Ni, Co e Cr (1-3). Ciò accade in quanto i metalli sono largamente utilizzati nell'ambiente industriale e sono costituenti fondamentali di tutto ciò che tocchiamo, dai detersivi, alle resine, alle materie plastiche, ai gioielli, agli orologi, alle monete, ai prodotti tessili, agli inchiostri, ecc.

Un'importante via di esposizione della pelle ai metalli è l'utilizzo di prodotti cosmetici come creme idratanti, profumi, shampoo, latte detergente, tinture all'henné, ecc. È evidente che i cosmetici sono una parte importante della vita di tutti i giorni, in alcuni casi entrano a far parte pesantemente dello stile di vita fino ad essere considerati delle "necessità". La maggior parte delle donne fa uso quotidiano di prodotti cosmetici, ne usa diversi in combinazione tra loro, e ama sperimentare novità. La loro persistenza per svariate ore a stretto contatto con la pelle, fa sì che eventuali impurezze e molecole potenzialmente nocive vengano diluite dal sudore e penetrino nello strato corneo.

La prevalenza dell'allergia ai cosmetici nella popolazione generale non è conosciuta. Ciò dipende dal fatto che la maggior parte delle reazioni accadono nell'ambiente domestico a causa dell'uso di un solo prodotto cosmetico che consente una auto-diagnosi e spesso una auto-medicazione con farmaci da banco. Nella maggior parte dei casi le reazioni avverse si sviluppano in seguito a trattamenti multipli e simultanei dei capelli (tinture, permanenti, shampoo, balsami), e dopo utilizzo di profumi e deodoranti (4-7). Anche le persone che usano molti prodotti per la cura della pelle (per esempio creme idratanti, creme antiacne, creme solari) possono avere difficoltà nello scoprire quale sostanza provochi loro sintomi di allergia. Nella maggior parte dei casi si tratta di dermatiti allergiche da contatto (DAC), in casi più rari di orticarie e anafilassi (8-11).

Le sostanze più spesso coinvolte nelle allergie da cosmetici sono le essenze profumate, i conservanti, la parafenilendiamina (PPD) impiegata nelle tinture permanenti dei capelli, gli alcoli della lanolina, il gliceril-tioglicolato ed il Ni presente come inquinante dei processi di lavorazione dei prodotti cosmetici (12-17).

Il Ni è al primo posto in assoluto nelle cause di DAC e ciò potrebbe essere correlato all'incremento dell'impiego industriale di questo metallo (che si calcola sia del 10% circa all'anno) e quindi a una sempre maggiore esposizione. Oltre al Ni, altri metalli pesanti che possono essere ricercati in un prodotto cosmetico quali impurezze delle materie prime sono il Co, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn e Pb (18). Come supporto a questo vi sono diversi studi che attestano la presenza di Co, Cr, Ni e Pb a livelli di $\mu\text{g/g}$ negli henné, ombretti e matite per labbra con frequenti reazioni positive al *patch test* (17, 19-21). Diversi autori hanno rivelato la presenza di Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e ossidi metallici in vari creme solari per il corpo (22-24).

Bisogna anche considerare che se i prodotti cosmetici sono sotto forma di polvere (asciutti/solidi), il rischio della penetrazione cutanea del metallo è più bassa, mentre quelli basati su sostanze liposolubili (ad esempio le creme idratanti) rendono l'assorbimento percutaneo molto più alto. In più, è da notare che i prodotti cosmetici sono molto utilizzati nelle zone del viso più delicate quali il contorno occhi e le labbra dove è facile che il livello di assorbimento e la sensibilità relativa siano molto più alti rispetto ad altre aree cutanee. Per questo, la direttiva 76/768/CEE e successive modifiche ha introdotto il divieto di utilizzo di ioni metallici o di sali di Cd, Co, Cr, Ni e Pb nella preparazione di formulati cosmetici (25).

Sebbene i metalli pesanti non facciano parte del processo di produzione industriale dei cosmetici, possono essere presenti come contaminanti il cui livello, se può essere troppo basso per scatenare l'allergia, può comunque essere sufficiente per mantenere la dermatite allergica nel soggetto sensibile. Infatti, reazioni avverse ai metalli contenuti nei prodotti cosmetici sono state in gran parte osservate in pazienti che manifestavano una pre-esistente allergia ai metalli stessi (17, 19). I *patch test* hanno rivelato che un'esposizione in soggetti pre-sensibilizzati a Ni, Co, Cr ad una concentrazione pari a 5000 ng/g per il singolo metallo rappresenta un tetto sicuro. Tuttavia per minimizzare il rischio di reazioni allergiche per soggetti molto sensibili, l'obiettivo finale è il tetto di 1 ppm per ogni metallo (26, 27).

Alla luce di questi fatti e a seguito dell'elevata frequenza di allergie al Ni, la sfida dell'industria cosmetica è stata quella di fabbricare prodotti da poter essere utilizzati da persone pre-sensibilizzate al Ni. Per questo motivo, sono state immesse sul mercato creme etichettate con la frase "testate per il Ni" o "ipoallergeniche" assieme ad una concentrazione dichiarata di Ni inferiore allo 0,00001%, vale a dire 100 ng/g, garantendo una concentrazione di Ni 50 volte più bassa della soglia limite oltre la quale si ha il rischio di avere reazioni allergiche.

In questo contesto, il presente studio è stato dedicato a campionare un numero di creme idratanti per il corpo che riportavano sull'etichetta la frase "testate per il Ni" e destinate, in particolare, alle persone già sensibilizzate al Ni, al fine di verificarne la conformità al limite e valutarne la sicurezza per il consumatore anche in funzione del contenuto di altri metalli pesanti oltre al Ni stesso.

A tale fine, le creme sono state sottoposte a mineralizzazione in forno a microonde e, successivamente, Ni, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Mn, Pd, Pb, Pt, Rh e V sono stati quantificati tramite la spettrometria di massa ad alta risoluzione con plasma accoppiato induttivamente (SF-ICP-MS).

Materiali e metodi

Campioni e reagenti

Undici creme idratanti per il corpo che riportavano sull'etichetta la frase "testate per il Ni" sono state selezionate per lo studio. Tutti i campioni sono stati acquistati presso le farmacie di Roma e conservate a temperatura ambiente fino alla loro analisi.

Soluzioni standard alla concentrazione di 1 mg/mL sono state utilizzate per preparare i calibranti e gli standard interni. Tutti gli standard interni sono stati aggiunti alla concentrazione di 1 ng/mL nelle soluzioni analitiche. Per la diluizione dei campioni, degli standard interni e dei calibranti è stata utilizzata acqua deionizzata ad elevato grado di purezza e per la mineralizzazione dei campioni sono stati usati HNO₃ di grado ultrapuro e HF di grado suprapuro.

Strumentazione

Per la mineralizzazione dei campioni sono stati usati un forno a microonde e i contenitori in politetrafluoroetilene (PTFE). La quantificazione dei metalli è stata effettuata tramite uno strumento SF-ICP-MS dotato di nebulizzatore di vetro Meinhard, camera di nebulizzazione raffreddata, torcia schermata con un foglio di platino (il *guard electrode*) e coni di platino all'interfaccia. Le condizioni di lavoro dello strumento sono state le seguenti: radiofrequenza, 1200 W; flussi dei gas: plasma, 14,0 L/min; ausiliario, 0,90 L/min; nebulizzatore, 0,85 L/min; risoluzione di massa analitica: 300 m/Δm (bassa risoluzione, BR) per ^{114}Cd , ^{202}Hg , ^{193}Ir , ^{208}Pb e ^{195}Pt e 4000 m/Δm (media risoluzione, MR) per ^{59}Co , ^{52}Cr , ^{65}Cu , ^{55}Mn , ^{60}Ni , ^{105}Pd , ^{103}Rh e ^{51}V . Due standard interni sono stati usati per correggere le eventuali derive strumentali: ^{115}In per Cd, Hg, Ir, Pb e Pt e ^{69}Ga per Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pd, Rh e V.

Trattamento dei campioni

Aliquote di circa 1 g di crema idratante sono stati pesate nei contenitori in PTFE. Una miscela di 5 mL di HNO_3 e 1 mL di HF è stata aggiunta ad ogni campione, poi mineralizzato in forno a microonde tramite il seguente ciclo: 10 min a 250W, 5 min a 400W; 5 min a 500W, 5 min a 600W. Dopo il raffreddamento, i campioni sono stati quantitativamente trasferiti in provette di polietilene e diluiti fino a 30 mL con acqua deionizzata. Sono state digerite due aliquote per ciascun campione e sono stati preparati i bianchi di mineralizzazione. Al fine di mantenere sotto controllo gli effetti matrice, la quantificazione è stata effettuata costruendo una retta di calibrazione in matrice su cinque livelli differenti di concentrazione.

Risultati e discussione

Prestazioni del metodo

Considerando che i campioni hanno una matrice molto complessa con un elevato contenuto di materia organica, è stato assolutamente necessario mineralizzare la crema per ottenere una completa solubilizzazione dei metalli. A tal fine, sono stati utilizzati sia l' HNO_3 che l'HF. Il primo è un forte ossidante in grado di distruggere tutta la materia organica e questa capacità incrementa ad alte temperature, mentre il secondo è in grado di digerire i silicati presenti nella matrice stabilizzando i metalli come fluoruri e solubilizzando la silice.

Essendo le masse analitiche di Hg, Ir, Pb e Pt libere da interferenze, tali metalli sono stati quantificati usando la BR e il loro isotopo più abbondante, ciò al fine di lavorare in condizioni di massima sensibilità strumentale; solo per il Cd è stato usato l'isotopo 111 (il meno abbondante) a causa della sovrapposizione isobarica dello ^{114}Sn sull'altro isotopo a massa 114. Elementi come Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pd, Rh e V sono stati quantificati in MR per evitare la sovrapposizione dei segnali provenienti dalle specie poliatomiche interferenti. Gli interferenti sono prodotti da una combinazione di ioni provenienti dal plasma, dai reagenti di mineralizzazione (HNO_3 e HF) e dalla matrice contenente Ca, K, Na, Mg e Zn. Ad esempio, i segnali di ArN e ArNH vanno a sovrapporsi a quelli di Cr, Mn e V; ArF interferisce con il segnale del Co e CaF con quello del Cu. L'alta concentrazione di elementi come Ca, K, Na, Mg e Zn nella matrice (principalmente sotto forma di ascorbati e fosfati) – genera ossidi, cloruri e argidi che interferiscono con i segnali di Co, Cu, Mn, Ni, Pd e Rh. In Tabella 1 sono riportati gli

isotopi scelti per la quantificazione degli analiti e gli interferenti che andrebbero a coprire l'isotopo qualora non si lavorasse in MR.

Tabella 1. Isotopi, risoluzione e interferenze nell'analisi SF-ICP-MS di creme idratanti

Elemento	m/z	Abbondanza (%)	Risoluzione (m/Δm)	Interferenze separate grazie alla risoluzione scelta
Cd	111	12,8	300	a
Co	59	100	4000	⁴⁰ Ar ¹⁹ F, ⁴³ Ca ¹⁶ O, ⁴¹ K ¹⁸ O, ³⁶ Ar ²³ Na, ⁴² Ca ¹⁶ O ¹ H
Cr	52	83,8	4000	⁴⁰ Ar ¹² C, ³⁶ Ar ¹⁶ O, ³⁸ Ar ¹⁴ N, ³⁵ Cl ¹⁷ O, ³⁷ Cl ¹⁵ N, ³⁵ Cl ¹⁶ O ¹ H
Cu	63	69,2	4000	⁴⁰ Ar ²³ Na, ³¹ P ¹⁶ O ¹⁶ O, ⁴⁴ Ca ¹⁹ F
Hg	202	29,8	300	a
Ir	193	62,7	300	a
Mn	55	100	4000	³⁷ Cl ¹⁸ O, ⁴⁰ Ar ¹⁵ N, ³⁹ K ¹⁶ O, ⁴⁰ Ar ¹⁴ N ¹ H
Ni	60	26,1	4000	⁴⁴ Ca ¹⁶ O, ²³ Na ³⁷ Cl, ³⁶ Ar ²⁴ Mg
Pb	208	52,4	300	a
Pd	105	22,3	4000	⁴⁰ Ar ⁶⁵ Cu, ⁶⁸ Zn ³⁷ Cl
Pt	195	33,8	300	a
Rh	103	100	4000	⁴⁰ Ar ⁶³ Cu, ⁶⁸ Zn ³⁵ Cl, ⁶⁶ Zn ³⁷ Cl
V	51	99,8	4000	³⁵ Cl ¹⁶ O, ³⁷ Cl ¹⁴ N, ³⁶ Ar ¹⁴ N ¹ H

^a nessuna interferenza per la matrice considerata

La Tabella 2 mostra i dati relativi al limite di quantificazione (LQ), al recupero e alla precisione del metodo proposto. Il LQ è stato calcolato come 10 volte la deviazione standard (DS) su 10 misure di bianchi di mineralizzazione. A causa della mancanza di un idoneo materiale di riferimento certificato, l'accuratezza del metodo è stata valutata tramite le prove di recupero in matrice. A tal fine, ad una crema sono state aggiunte quantità note degli elementi di interesse e il campione è stato quindi digerito con gli acidi ed analizzato. La precisione è stata calcolata come la DS relativa (DSR) ottenuta su 10 misure di una soluzione di crema mineralizzata.

Tabella 2. Prestazioni del metodo

Elemento	LQ (ng/g)	Accuratezza			Precisione (%)
		Aggiunto ^a (ng/g)	Trovato (ng/g)	Recupero (%)	
Cd	0,014	5,00	4,45 ± 0,32	89,0	5,21
Co	0,010	5,00	4,40 ± 0,43	88,0	3,62
Cr	0,13	50,0	50,3 ± 4,6	100,6	3,50
Cu	0,83	50,0	48,7 ± 5,2	97,4	4,96
Hg	0,16	1,00	1,10 ± 0,12	110,0	6,80
Ir	0,003	1,00	0,97 ± 0,05	97,0	3,52
Mn	0,12	50,0	49,6 ± 3,5	99,2	2,56
Ni	0,15	50,0	52,2 ± 4,1	104,4	5,20
Pb	0,20	5,00	4,56 ± 0,53	91,2	1,59
Pd	0,030	1,00	0,92 ± 0,06	92,0	5,60
Pt	0,010	1,00	0,99 ± 0,05	99,0	3,71
Rh	0,010	1,00	1,03 ± 0,14	103,0	6,23
V	0,020	5,00	5,32 ± 0,47	106,4	4,18

^a Quantità aggiunta sulla crema tal quale

I valori dell'LQ sono circa 0,02 ng/g per Cd, Co, Ir, Pd, Pt, Rh e V e circa 0,2 ng/g per Cr, Hg, Mn, Ni e Pb. Il Cu ha un LQ superiore a 0,5 ng/g, ma questo dato non rappresenta un problema in quanto il contenuto di tale elemento nelle creme è molto più alto dell'LQ. I recuperi, dall'88% (Cd, Co) al 110% (Hg), sono soddisfacenti considerando che sono stati calcolati su concentrazioni pari o inferiori a 1,5 ng/mL nella soluzione analitica. Questo risultato assicura che il processo di mineralizzazione della matrice non ha causato perdite significative dell'analita né contaminazioni. Il metodo mostra un'alta precisione per tutti gli elementi, e ciò testimonia la buona omogeneità del mineralizzato.

Contenuto dei metalli nelle creme idratanti

La concentrazione dei metalli nelle 11 creme idratanti per il corpo è riportata in Tabella 3. Tre prodotti contengono Ni ad una concentrazione pari o leggermente superiore a 100 ng/g, mentre i rimanenti campioni mostrano livelli più bassi. Il Cr è presente a livello di decine di ng/g in tutti i campioni, con dei massimi di concentrazione pari a 148 ng/g e 303 ng/g nelle creme n. 1 e n. 6. Il Co non supera i 6 ng/g anche se due creme (n. 7 e n. 8) contengono 110 ng/g e 222 ng/g di tale elemento. Il V è maggiore di 10 ng/g in un solo campione, mentre negli altri prodotti la concentrazione varia da 0,29 ng/g a 6,03 ng/g. Il Hg è al di sotto dell'LQ in tutte le creme; Ir e Pd sono sotto il LQ in 8 degli 11 campioni e Pd e Rh sono quantificabili nel 55% dei prodotti. Solo due prodotti (n. 4 e n. 11) contengono Pt a livello di pochi ng/g, ed uno di questi (n. 11) contiene anche Pd. Ad eccezione di una crema, Mn e Pb sono sempre rilevabili con concentrazioni variabili tra 5,15 ng/g e 59,9 ng/g e tra 0,71 ng/g e 8,67 ng/g, rispettivamente. Il Cu è compreso nell'intervallo 3,27-33,7 ng/g. La crema n. 6, che presenta un elevato contenuto di Cr, mostra i più alti livelli di altri metalli quali Ir, Mn e Rh, e anche una concentrazione relativamente alta di Ni. Al contrario, il prodotto n. 2 mostra le più basse concentrazioni di Co, Cr, Cu, Mn, Ni, e V.

Tabella 3. Livello dei metalli (in ng/g) osservati nei campioni di creme per il corpo *

Campione	Cd	Co	Cr	Cu	Ir	Mn
1	0,57±0,05	4,87±0,19	303±11	7,31±1,03	0,055±0,004	38,2±2,8
2	0,20±0,01	0,13±0,01	16,8±1,6	3,27±0,29	<LQ	<LQ
3	1,00±0,07	0,64±0,03	39,7±2,9	13,2±1,3	0,060±0,006	11,0±0,4
4	0,12±0,01	0,84±0,11	41,7±4,3	28,7±2,5	<LQ	5,15±0,15
5	2,23±0,18	5,83±0,31	64,9±2,8	19,8±11,5	<LQ	7,53±1,6
6	1,17±0,06	1,33±0,13	148±11	33,7±5,08	0,20±0,03	59,9±0,29
7	4,39±0,10	110±5	44,4±2,9	11,7±1,2	<LQ	20,2±0,3
8	3,49±0,26	222±8	21,1±4,5	9,09±1,10	<LQ	14,3±1,1
9	0,82±0,17	2,75±0,26	39,9±1,9	23,7±3,91	<LQ	4,78±0,6
10	0,77±0,01	0,61±0,10	39,2±3,4	51,2±0,5	<LQ	6,91±1,1
11	5,11±0,42	2,26±0,42	59,6±4,2	34,2±2,3	<LQ	51,4±3,3

Campione	Ni	Pb	Pd	Pt	Rh	V
1	153±8	0,71±0,08	0,32±0,03	<LQ	0,025±0,002	4,00±0,03
2	17,5±1,4	1,14±0,09	<LQ	<LQ	<LQ	0,29±0,02
3	147±11	<LQ	0,33±0,03	<LQ	0,080±0,008	1,31±0,11
4	28,0±3,0	1,05±0,12	<LQ	6,28±0,13	0,024±0,001	11,4±0,2
5	88,7±6,2	2,80±0,20	<LQ	<LQ	0,029±0,002	4,47±0,51
6	128±14	0,93±0,15	<LQ	0,81±0,16	0,15±0,02	1,07±0,10
7	43,7±3,0	8,67±0,56	0,060±0,010	<LQ	<LQ	<LQ
8	67,8±2,7	7,06±0,29	0,21±0,06	<LQ	<LQ	<LQ
9	63,2±4,6	1,22±0,17	<LQ	<LQ	<LQ	2,55±0,11
10	80,6±5,7	6,29±0,44	<LQ	<LQ	<LQ	3,08±0,36
11	58,5±5,2	3,24±0,26	1,07±0,19	2,65±0,06	<LQ	6,03±0,48

* il contenuto di Hg è minore dell'LQ in tutti i campioni

Anche se il Ni rappresenta la principale causa di dermatite da contatto, la presenza contemporanea di minime quantità di altri metalli può innescare un pre-esistente allergia (28). In alcuni casi, infatti, le reazioni al Ni non sono isolate, ma associate alla sensibilità verso altri metalli quali Cr, Co e Pd (26, 27, 29, 30). Su questa base, è stato proposto che i prodotti per i consumatori debbano contenere meno di 5000 ng/g di Co, Cr e Ni affinché non si sviluppino casi di allergie o sensibilizzazioni. È stato suggerito anche un limite più basso pari a 1000 ng/g quale limite di maggiore sicurezza per il consumatore (26-28).

Il primo risultato di questo studio è che la concentrazione di Ni è risultata essere superiore a 100 ng/g in 3 degli 11 prodotti analizzati. Nonostante su tali prodotti la concentrazione osservata è più elevata rispetto a quella dichiarata sull'etichetta, essa è 10 volte più bassa di quella proposta come "allergologicamente sicura" per il consumatore (26).

Il secondo risultato è che altri metalli presentano livelli superiori a 100 ng/g in qualche caso. In particolare, Co e Cr, responsabili insieme al Ni della maggioranza dei casi di dermatite da contatto, presentano concentrazioni pari a 200 ng/g e 300 ng/g, rispettivamente. Nonostante ciò, anche per il Co ed il Cr tali valori sono inferiori al suddetto limite di sicurezza (26). Altri metalli contenuti in tracce o addirittura non rivelabili quali il Hg, che tra l'altro è presente in alcune creme per il viso (31), ed il Pb sono ben lontani da poter causare un rischio di DAC.

Il terzo risultato è che in questo studio sono stati presi in considerazione anche elementi meno conosciuti come allergizzanti, ma per i quali ci sono comunque evidenze di un loro possibile ruolo nell'induzione di DAC, quali Cu, Cd, Mn, V e gli elementi del gruppo del platino (Ir, Pd, Pt e Rh) (30, 32). Il Cd, Cu, Mn e V sono risultati essere relativamente bassi, anche se in un caso sono stati superati i 10 ng/g per il V e i 50 ng/g per Cu e Mn. Iridio, Pd, Pt e Rh sono presenti a livello di frazioni di ng/g o addirittura assenti in vari casi.

Vale la pena ricordare che ci sono pochissimi studi in letteratura in merito al contenuto dei metalli nelle creme idratanti. L'importanza di aver colmato tale lacuna è dovuta al fatto che le creme per il corpo contengono sostanze liposolubili che facilitano l'assorbimento dei metalli attraverso la pelle e che le creme sono un tipo di prodotto che rimane in contatto con la pelle per un lungo periodo di tempo. Inoltre bisogna notare che alcune creme presentano livelli di Co e Cr in quantità paragonabili a quelle del Ni, fattore da non sottovalutare in considerazione dell'effetto sinergico tra i metalli con la conseguente generazione di casi di sensibilizzazione incrociata.

Tra i pochi studi pubblicati sull'argomento, uno ha riportato i dati relativi al Cd, Cr e Hg, Pb in 5 creme per il corpo (24). I valori di Cd e Pb ottenuti nel nostro studio sono vicini al limite inferiore dell'intervallo sperimentale riportato nel suddetto lavoro, mentre il Cr è perfettamente sovrapponibile e il Hg è al di sotto dell'LQ in entrambi gli studi. Un altro lavoro ha quantificato Cu e Pb in varie prodotti cosmetici, creme incluse, trovando questi metalli a livello di decine di µg/g (22).

Conclusioni

Il metodo analitico sviluppato basato sulla mineralizzazione acida tramite microonde dei campioni e sull'analisi tramite SF-ICP-MS ha permesso la quantificazione precisa e accurata di elementi chimici nelle creme per il corpo. Tra gli 11 prodotti etichettati come "testati per il Ni" 3 di essi hanno mostrato una concentrazione di Ni al di sopra del valore dichiarato di 100 ng/g. Tuttavia, la concentrazione di Ni in tutte le creme è molto inferiore al livello di sicurezza allergologica (<1000 ng/g) raccomandato per il consumatore. Il Hg è risultato inferiore al LQ in tutti i campioni mentre Co, Cr e Pb erano ben al di sotto del limite di sensibilizzazione. I nuovi allergeni quali Ir, Pd, Pt e Rh, sono stati trovati in tracce nella maggior parte dei casi.

Questi risultati hanno suggerito che le creme per il corpo contengono Ni a livelli che non sono in grado di provocare reazioni allergiche in particolare nei soggetti pre-sensibilizzati. Tuttavia, rimane opportuno il monitoraggio anche di altri metalli oltre al Ni, considerando che esiste la possibilità di sensibilizzazioni incrociate dovute alla contemporanea presenza di alcuni di loro.

Bibliografia

1. Fowler JF. Occupational dermatology. *Curr Probl Dermatol* 1998;10:213-44.
2. Kanerva L, Jolanki R, Estlander T, Alanko K, Savela A. Incidence rates of occupational allergic contact dermatitis caused by metals. *Am J Contact Dermatit* 2000;3:155-60.
3. Lidén C, Bruze M, Menné T. Metals. In: Frosch JP, Menné T, Lepoittevin J-P (Ed.). *Contact Dermatit* Berlino: Springer-Verlag; 2006. p. 537-68.
4. Orton DI, Wilkinson JD. Cosmetic allergy: incidence, diagnosis, and management. *Am J Clin Dermatol* 2004;5(5):327-37.
5. Gonzalo-Garijo MA, Fernández-Durán DA, Pérez-Calderón R, Sánchez-Carvajal J. Allergic contact dermatitis due to a temporary henna tattoo, a hair dye, and a marker pen. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2008;18(3):226-7.
6. Johansen JD. Fragrance contact allergy: a clinical review. *Am J Clin Dermatol* 2003;4(11):789-98.
7. Mortz CG, Andersen KE. New aspects in allergic contact dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008;8(5):428-32.
8. Hans RH, Agrawal N, Verma K, Misra RB, Ray RS, Farooq M. Assessment of the phototoxic potential of cosmetic products. *Food Chem Toxicol* 2008;46:1653-8.
9. Placzek M, Frömel W, Eberlein B, Gilbertz K-P, Przybilla B. Evaluation of phototoxic properties of fragrances. *Acta Derm Venereol* 2007;87:312-6.
10. Gulen F, Zeyrek D, Altinoz S, Peker E, Demir E, Tanac R. Urticaria and angioneurotic edema due to the temporary henna tattoo. *Minerva Pediatr* 2006;58:583-5.
11. Oshima H, Tamaki T, Oh-i T, Koga M. Contact anaphylaxis due to para-aminophenol and para-methyaminophenol in hair dye. *Contact Dermatit* 2001;45:359.
12. Thyssen JP, Carlsen BC, Menné T, Johansen JD. Trends of contact allergy to fragrance mix I and Myroxylon pereirae among Danish eczema patients tested between 1985 and 2007. *Contact Dermatit* 2008;59(4):238-44.
13. Evans CC, Fleming JD. Images in clinical medicine. Allergic contact dermatitis from a henna tattoo. *N Engl J Med* 2008;359(6):627.
14. Lee B, Warshaw E. Lanolin allergy: history, epidemiology, responsible allergen, and management. *Dermatit* 2008;19:63-72.
15. Engasser P. Type I and Type IV immune responses to glyceryl thioglycolate. *Contact Dermatit* 2000;42:298.
16. Oppel T, Schnuch A. The most frequent allergens in allergic contact dermatitis. *Dtsch Med Wochenschr* 2006;131:1584-9.
17. Kang I-J, Lee M-H. Quantification of para-phenylenediamine and heavy metals in henna dye. *Contact Dermatit* 2006;55:26-9.
18. Lee SM, Jeong HJ, Chang IS. Simultaneous determination of heavy metals in cosmetic products. *J Cosmet Sci* 2008;59(5):441-8.

19. Sainio E-L, Jolanki R, Hakala E, Kanerva L. Metals and arsenic in eye shadows. *Contact Dermatitis* 2000;42:5-10.
20. Lekouch N, Sedki A, Nejmeddine A, Gamon S. Lead and traditional Moroccan pharmacopoeia. *Sci Total Environ* 2001;280:39-43.
21. Jager C, Jappe U. Contact dermatitis to permanent make up: manifestation of a pre-existing nickel allergy. *J Dtsch Dermatol Ges* 2005;3:527-9.
22. Tsankov Iu, Iordanova I, Lolova D, Uzunova S, Dinoeva S. Hygienic evaluation of the content of heavy metals (lead and copper) in cosmetic products. *Probl Khig* 1982;7:127-36.
23. Salvador A, Pascual-Martí MC, Adell JR, Requeni A, March JG. Analytical methodologies for atomic spectrometric determination of metallic oxides in UV sunscreen creams. *J Pharm Biomed Anal* 2000;22:301-6.
24. Conti ME, Botrè F, Mazzei F. On the heavy metals content in cosmetic formulations: An atomic absorption spectroscopy investigation. *J Appl Cosmetol* 1996;14:147-54.
25. Comunità Europea. Direttiva 76/768/CEE del Consiglio, del 27 luglio 1976, concernente il ravvicinamento delle legislazioni degli Stati Membri relative ai prodotti cosmetici. *Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea* serie L 262 del 27/9/1976, p. 169-200.
26. Basketter DA, Angelini G, Ingber A, Kern PS, Menné T. Nickel, chromium and cobalt in consumer products: revisiting safe levels in the new "Millennium". *Contact Dermatitis* 2003;49:1-7.
27. Basketter DA, Briatico-Vangosa G, Kaesner W, Lally C, Bontinck WJ. Nickel, cobalt and chromium in consumer products: a role in allergic contact dermatitis? *Contact Dermatitis* 1993;28:15-25.
28. Allenby CF, Basketter DA. An arm immersion model of compromised skin (II). Influence on minimal eliciting patch test concentrations of nickel. *Contact Dermatitis* 1993;28:129-33.
29. Hindsén M, Persson L, Gruvberger B. Allergic contact dermatitis from cobalt in jewellery. *Contact Dermatitis* 2005;53:350-1.
30. Santucci B, Valenzano C, de Rocco M, Cristaudo A. Platinum in the environment: frequency of reactions to platinum-group elements in patients with dermatitis and urticaria. *Contact Dermatitis* 2000;43:333-8.
31. Sun CC. Allergic contact dermatitis of the face from contact with nickel and ammoniated mercury in spectacle frames and skin-lightening creams. *Contact Dermatitis* 1987;17:306-9.
32. Motolese A, Truzzi M, Giannini A, Seidenari S. Contact dermatitis and contact sensitization among enamellers and decorators in the ceramics industry. *Contact Dermatitis* 1993;28:59-62.

RUOLO DELLA DIETA NELL'ALLERGIA DA NICHEL

Francesco Petrucci (a), Beatrice Bocca (a), Giovanni Forte (a), Stefano Caimi (a), Antonio Cristaudo (b)
 (a) *Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*
 (b) *Servizio di Dermatologia Allergologica Professionale ed Ambientale, Istituto Dermatologico San Gallicano-IRCCS, Roma*

Introduzione

Il Ni è un metallo bianco-argenteo altamente resistente agli attacchi di aria e acqua. Esso forma numerose leghe con altri metalli. La sua lega con il ferro, acciaio-Ni, è estremamente dura e resistente alla corrosione. Per questo motivo la maggior parte di Ni estratto in tutto il mondo viene utilizzato per la produzione di acciaio inossidabile che è in gran parte utilizzato per la produzione di contenitori per alimenti e apparecchiature per il trattamento degli alimenti. È anche utilizzato per la fabbricazione di gioielli di moda, di parti di macchine e monete; finemente suddiviso viene usato come catalizzatore nella idrogenazione.

Il Ni tra i metalli è quello che crea le maggiori reazioni allergiche, la sensibilità è più comune nelle donne rispetto agli uomini e la prevalenza varia dal 4% al 13,1% nei diversi paesi (1, 2). Oggi, nella popolazione femminile, la prevalenza è di circa il 10% (tutti i gruppi di età sono colpiti) (3). In alcuni gruppi professionali, come ad esempio i parrucchieri, il tasso di prevalenza può raggiungere il 27-38% (4). Per quanto riguarda l'esposizione non professionale (piercing e bigiotteria), le donne sono più comunemente sensibilizzate. D'altro canto, i maschi sono più sensibilizzati da esposizione professionale. Diversi gradi di allergia al metallo sono stati evidenziati: alcune volte la dermatite può svilupparsi anche dopo un breve contatto con oggetti contenenti Ni, mentre altre volte l'allergia può svilupparsi soltanto dopo molti anni di esposizione della pelle al metallo. Viene osservata raramente una "eruzione cutanea secondaria" causata dalla diffusione della dermatite in regioni lontane (5). Il contatto prolungato con detergenti o prodotti cosmetici contenenti l'elemento, oggetti utilizzati a scopo ornamentale, accessori della moda, così come monete ed altri oggetti metallici, può sviluppare spesso un eczema, anche dopo molti anni dalla sensibilizzazione primaria. È stato riportato il caso di pazienti che hanno sviluppato eczema alle mani di tipo vescicolare in seguito all'ingestione del metallo con la dieta (6). Questo tipo di eczema si espande quando questi pazienti sono trattati per via orale con solfato di Ni. È ben noto che l'orticaria cronica, una reazione di ipersensibilità di tipo I, è stata attribuita al Ni presente nella dieta (7). Sono stati riportati diversi casi di eritema multiforme, vasculite e sindrome di Baboon come conseguenza di ingestione di Ni (8-10). Quest'ultima sindrome presenta un quadro di dermatite da contatto sistemica con una eruzione cutanea generalizzata, con particolare coinvolgimento del gluteo, della zona anogenitale, delle pieghe cutanee e delle palpebre.

Dermatite da nichel e dieta

Una dieta media fornisce al corpo umano da 300 a 600 µg di Ni al giorno (11). La presenza di una quantità sufficiente di Ni nella dieta di una persona sensibile al metallo può provocare dermatiti. È stato osservato che la somministrazione in singola dose e per via orale di solfato di Ni nella quantità tra 600 e 5600 µg può provocare eczema alle mani (12), zona che spesso

risulta essere la più comunemente colpita nella dermatite sistemica. Tuttavia, anche altre aree del corpo possono essere colpite. Sono state segnalate gravi reazioni come eritema multiforme e vasculite in seguito ad esposizione orale (8, 9).

Con una dieta a basso tenore di Ni (13) e dopo trattamento orale con disulfiram, un chelante per il suddetto metallo che ne aumenta la sua escrezione, si è notato un miglioramento della dermatite (14). Inoltre, è stato osservato che i bambini con apparecchi ortodontici, che sono esposti quindi a bassi livelli di Ni per ingestione continua, possono successivamente avere meno probabilità di sviluppare allergia (15).

Fonti di nichel

Il Ni è presente nel suolo, con una concentrazione che varia dal 5 µg/g fino a 500 µg/g, anche localmente può raggiungere livelli più elevati. In acqua dolce il suo livello varia da 5 µg/L a 100 µg/L e in tessuti animali e vegetali la concentrazione è rispettivamente 0,5-5 µg/g e 0,1-5 µg/g (16). Il contenuto di metallo nei prodotti alimentari è fortemente influenzato dalla sua concentrazione nel suolo da dove provengono gli alimenti. La concentrazione nel suolo varia da luogo a luogo, e alcuni dei fattori principali che la influenzano sono: a) il tipo di suolo; b) l'uso delle moderne pratiche agricole (fertilizzanti sintetici e pesticidi); c) la contaminazione del suolo con scarichi industriali e rifiuti urbani; d) distanza dal suolo di fonderie di Ni (17). È degno di nota che anche le stagioni meteorologiche possono influenzare la sua concentrazione nei tessuti vegetali; è stato osservato, infatti, che la concentrazione dell'elemento aumenta in primavera e in autunno e diminuisce durante l'estate (18).

Nichel in alimenti e bevande

Nella popolazione generale il cibo è la principale fonte di esposizione al Ni e i vegetali sono la più importante fonte alimentare di questo elemento. I tessuti vegetali, generalmente, ne contengono più dei tessuti animali. Pertanto, l'assunzione giornaliera totale varia a seconda della quantità di alimenti vegetali e animali consumata.

In uno studio inglese del 1999 è stato accertato che la quantità di Ni nei diversi alimenti è mediamente la seguente (quantità espresse in mg/kg di peso fresco): verdure, 0,11; cereali, 0,17; altri ortaggi, 0,09; patate, 0,10; carne, 0,04; pollame, 0,04; pesce, 0,08; uova, 0,03; latte, <0,02; prodotti lattiero-caseari, 0,02; frutta secca, 2,5; frutta fresca, 0,03; oli e grassi, 0,03 (19). Un altro studio effettuato in Corea nel 2004 ha rilevato notevoli quantità di Ni nei seguenti alimenti (mg/kg): bustina di tè verde, 235,57; bustina di tè nero, 62,79; cioccolato, 27,87; patatine, 12,70; farina di grano tenero, 12,15; cipolla, 0,02; aglio, 0,016; latte, 0,004; uova, 0,002 (20). Altri prodotti hanno mostrato i seguenti valori di Ni (mg/kg): tè istantaneo, 7,8-12; caffè istantaneo, 0,62-1,3; arachidi tostate, 4,1-4,7; crema, 0,02-0,03; lenticchie, 1,6-2,3; frutta secca mista, 0,99-5,29; piselli secchi, 0,39-0,76; fagioli, 0,65-2,3; patatine, 0,06-0,61 (21). Inoltre, la lista seguente mostra altri alimenti con alto contenuto di nichel a prescindere dal contenuto del suolo: frumento, segale, avena, miglio, grano saraceno, cacao, cioccolato, tè, gelatina, lievito in polvere, prodotti di soia, fagioli rossi, legumi (piselli, lenticchie, arachidi, soia e ceci), frutta secca, cibi in scatola, bevande, liquirizia, e alcuni integratori vitaminici (22). Di seguito vengono riportati alcuni esempi di diete caratteristici del mondo occidentale. Nel Regno Unito, il contenuto medio giornaliero di Ni nella dieta varia tra 0,12 e 0,21 mg (19). In Finlandia, Stati Uniti d'America e in Canada è stato rispettivamente segnalato un contenuto di 0,13, 0,17 e da 0,21 a 0,41 mg (23-25). In Danimarca, il

contenuto in Ni nella dieta è relativamente più elevato e potrebbe raggiungere oltre 0,9 mg/die, ciò probabilmente è dovuto al più alto consumo di farina d'avena e legumi, compresi i semi di soia, frutta secca, cacao e cioccolato (26). Tra gli esempi di regimi alimentari orientali viene riportato quello indiano in cui si predilige il consumo di alimenti vegetali e pertanto contiene una notevole quantità di Ni. Cereali, legumi e verdura costituiscono la maggior parte della dieta indiana. I legumi comprendono varietà di lenticchie, fagioli e piselli, che hanno un elevato contenuto di Ni. Gli ortaggi usati nelle diete indiane comprendono insalate a foglie verdi, radici, tuberi ed altri ortaggi. Verdure come spinaci, cipolla e aglio sono molto popolari e contengono elevate quantità di Ni. Anche il latte di mucca, che è un costituente essenziale nella maggior parte delle diete indiane, non è esente da Ni, con un contenuto di circa 0,03 µg/g (21). Il tè è consumato in tutta l'India; foglie di tè secche usate per la produzione di bevande contengono una concentrazione di Ni che può variare da 3,9 a 8,2 mg/kg (27). Lo Jaggery (una forma di saccarosio, nota anche come zucchero indiano), che è comunemente consumato nelle zone rurali dell'India, ha un livello di Ni pari a 0,011 mg/g (28). Il caffè, che è molto popolare in India del Sud, contiene Ni alla concentrazione di 43 mg per 100 g di chicchi di caffè (torrefatto, macinato) (29). Fave di cacao, dal quale viene ricavato il cacao in polvere e il cioccolato, possono contenere fino a 10 mg/kg di Ni e sono comunemente consumati nelle catene di fast-food di tutta l'India (30). Un'alta concentrazione di Ni è stata, a volte, trovata in prodotti alimentari trasformati e conservati in scatola per cessione diretta da: a) utensili di acciaio utilizzati per il trattamento degli alimenti (tritatori, omogenizzatori, ecc.); b) contenitori per cibi.

Bisogna infine porre attenzione anche agli utensili da cucina in acciaio che, anche se in condizioni normali rilasciano quantità trascurabili di Ni, durante la cottura di alimenti con una certa acidità possono contribuire ad un aumento nel contenuto di Ni.

Metabolismo del nichel nell'uomo

In una tipica dieta solo l'1-10% di Ni ingerito viene assorbito; dopo il suo assorbimento è trasportato nel sangue legato alla albumina serica. La maggior parte di quello assorbito viene escreto dai reni legato a complessi a basso peso molecolare ed è anche eliminato attraverso il sudore e la bile. Non è significativamente accumulato in alcun tessuto del corpo. Concentrazioni di Ni relativamente elevate sono state trovate nella tiroide e nelle ghiandole surrenali rispetto ad altri tessuti (11). La funzione biochimica di questo elemento non è ancora del tutto chiara ed è stato suggerito un fabbisogno giornaliero fisiologico del corpo umano di circa 25-35 µg (30).

Strategie per il trattamento delle dermatiti da nichel

Il Ni, come è ormai noto, è uno dei più comuni agenti sensibilizzanti. La sensibilizzazione tende a persistere per molti anni e spesso dura tutta la vita. Quando un soggetto viene sensibilizzato può sviluppare sintomi anche a distanza di anni se viene di nuovo a contatto con quantità, a volte anche minime, del metallo. Pertanto, il Ni causa una allergia cronica ricorrente. Per quanto riguarda i trattamenti, diverse strategie sono state raccomandate: a) steroidi per via sistemica; b) ciclosporina; c) steroidi topici, d) PUVA terapia (radiazioni ultraviolette - UVA - in associazione a psoraleni per via orale). Purtroppo il risultato dei diversi trattamenti è spesso insoddisfacente poiché nella maggior parte dei casi il tasso di ricaduta è elevato; gli esseri umani, infatti, sono sempre esposti al Ni. Il linea di massima il contatto con questo metallo dovrebbe essere evitato. Tuttavia, questo non è sempre sufficiente poiché il esso è presente nella

maggior parte dei prodotti alimentari. Se il suo apporto con la dieta non viene drasticamente ridotto, gli eczemi, ed in particolare quello agli arti, si manifesteranno con una certa continuità. Quindi, solo l'accurata selezione dei prodotti alimentari con concentrazione di Ni relativamente basse può indurre una significativa riduzione nell'assunzione giornaliera di questo elemento. Pertanto, una buona conoscenza della sua presenza nei prodotti alimentari è utile per la gestione dell'allergia (31).

Controllo delle dermatiti da nichel attraverso la dieta

L'apporto di Ni per via alimentare non può essere completamente evitato; tuttavia, una riduzione giornaliera di quello proveniente dalla dieta è possibile tramite la selezione dei prodotti alimentari che abbiano un contenuto di elemento relativamente basso. Molti studi hanno confermato il miglioramento dei sintomi associato ad una dieta a basso contenuto di Ni anche se la dermatite non era completamente guarita. Alcuni consigli pratici sono qui di seguito riportati: ad esempio, i tessuti animali ne contengono generalmente meno dei tessuti vegetali; carne, uova e pollame, sono, quindi, adatti per la dieta a basso contenuto di tale allergene. I pesci possono essere utilizzati ad eccezione del tonno, aringhe, crostacei, salmone e sgombrò che ne mostrano un'elevata concentrazione. Il latte ed i suoi derivati come il burro, formaggio, ricotta e formaggio fresco possono essere consumati con una certa sicurezza. Il suo contenuto nei cereali è basso ed anche verdure come patate, cavolo e cetriolo possono essere consumati. La cipolla, l'aglio, le banane, le mele e gli agrumi possono essere consumati fino a 3-4 volte la settimana. Mentre il tè ed il caffè devono essere usati con moderazione (fino a 2 tazze al giorno). Le verdure a foglia verde dovrebbero essere consumate con moderazione a causa della possibilità di una elevata concentrazione di Ni. Tutte le specialità di funghi possono essere utilizzate senza alcuna prescrizione. Sono, invece, assolutamente da evitare cacao, cioccolato, semi di soia, farina d'avena, noci, mandorle, legumi freschi e secchi. Bisogna evitare gli integratori vitaminici che contengono elementi inorganici così come i cibi in scatola, dove il contenitore è costituito da una lega metallica. Infatti, il Ni può essere ceduto dalla lega metallica che costituisce l'involucro, al cibo in scatola. Durante la cottura, è importante considerare che alimenti acidi non devono essere cotti in pentole in acciaio inox. Infatti gli acidi possono portare alla cessione del metallo dagli utensili con un incremento del contenuto alimentare di Ni. Utensili nichelati come forchette, coltelli, cucchiari non dovrebbero essere usati e dovrebbero essere sostituiti. Infine, il Ni, durante la notte, può essere ceduto dal rubinetto all'acqua potabile; quindi, è buona norma che il primo flusso di acqua al mattino non dovrebbe essere bevuto o utilizzato per cucinare (31).

Bibliografia

1. Hammershoy O. Standard patch test results in 3,225 consecutive Danish patients from 1973 to 1977. *Contact Dermatitis* 1980;6:263-8
2. Bajaj AK. Contact Dermatitis. In: Valia RG, Valia AR (Ed.). *IADVL Textbook and atlas of dermatology*. Mumbai: Bhalani Publishing House; 1994. p. 379-418.
3. Kieffer M. Nickel sensitivity: relationship between history and patch test reaction. *Contact Dermatitis* 1979;5:398-401.
4. van der Walle HB, Brunsveld VM. Dermatitis in hairdressers. (I). The experience of the past 4 years. *Contact Dermatitis* 1994;30:217-21.

5. Calnan CD. Nickel Dermatitis. *Br J Dermatol* 1956;68:229-36.
6. Christensen OB, Moller H. External and internal exposure to the antigen in the hand eczema of nickel allergy. *Contact Dermatitis* 1975;1:136-41.
7. Abeck D, Traenckner I, Steinkraus V, Vieluf D, Ring J. Chronic urticaria due to nickel intake. *Acta Derm Venereol* 1993;73:438-9.
8. Andersen KE, Hjorth N, Menné T. The baboon syndrome: systemically induced allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1984;10:97-100.
9. Friedman SJ, Perry HO. Erythema multiforme associated with contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1985;12:21-3.
10. Hjorth N. Nickel dermatitis. *Contact Dermatitis* 1976;2:356-7.
11. Dara SS. Trace elements: Pollution and control. In: Dara SS (Ed.). *A textbook of environmental chemistry and pollution control*. New Delhi: S. Chand and Company Ltd. 2006. p. 177-216.
12. Flyholm MA, Nielson GD, Andersen A. Nickel content of food and estimation of dietary intake. *Z Lebensm Unters Forsch* 1984;179:427-31.
13. Kaaber K, Menné T, Tjell JC. Low nickel diet in the treatment of patients with chronic nickel dermatitis. *Br J Dermatol* 1978;98:197-201.
14. Kaaber K, Menné T, Tjell JC, Veien N. Antabuse treatment of nickel dermatitis. Chelation: a new principal in the treatment of nickel dermatitis. *Contact Dermatitis* 1979;5:221-8.
15. Van Hoogstraten IM, Andersen KE, Von Blomberg BM. Preliminary result of a multicentre study on the prevalence of nickel allergy in the relationship to previous oral and cutaneous contacts. In: Frosch P, Dooms-Goossens A, LaChapelle JM (Ed.). *Current topics in contact dermatitis*. Berlino: Springer; 1989. p. 178-83.
16. Allen SE (Ed.). *Chemical Analyses of Ecological Materials*. Boston Melbourne: Blackwell Scientific Publications; 1989. p. 213-4.
17. Dara SS. Soil Pollution. In: Dara SS (Ed.). *A textbook of environmental chemistry and pollution control*. New Delhi: S. Chand and Company Ltd; 2006. p. 274-87.
18. Jeffrey DW. *Soil-Plant Relationships: an ecological approach. First published in the USA*. Portland Oregon: Timber Press; 1987. p.19.
19. Ysart G, Miller P, Crews H, Robb P, Baxter M, De L'Argy C, Lofthouse S, Sargent C, Harrison N. Dietary exposure estimates of 30 elements from the UK Total Diet Study. *Food Add Contamin* 1999;16(9):391-403.
20. Han HJ, Lee BH, Park CW, Lee CH, Kang YS. A study of Nickel Content in Korean Foods. *Korean J Dermatol* 2005;43:593-8.
21. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food of UK. *Concentration of metals and other elements in selected snack and convenience foods. Last updated on 1998 Mar*. Disponibile all'indirizzo: <http://archive.food.gov.uk/maff/archive/food/infsheet/1998/no146/146metal.htm>; ultima consultazione 11/06/2009.
22. Kaaber K, Menné T, Tjell JC. Low nickel diet in the treatment of patients with chronic nickel dermatitis. *Br J Dermatol* 1978;98:197-201.
23. Varo P, Koivistonon P. Mineral composition of Finnish foods XII. General discussion and nutritional evaluation. *Acta Agric Scand* 1980;S22:165-70.
24. Nielsen FH. Fluoride, vanadium, nickel, arsenic and silicon in total parenteral nutrition. *Bull NY Acad Med* 1984;60:177-95.
25. Dabeka RW, MacKenzie AD. Survey of lead, cadmium, fluoride, nickel and cobalt in food composites and estimations of dietary intakes of these elements by Canadians in 1986-88. *J AOAC Int* 1995;78:897-909.

26. Nielsen FH, Flyvholm M. Risk of high nickel intake with diet. In: Sunderman FW (Ed.). *Nickel in the Human Environment*. Lione: IARC Scientific Publications; 1984;53:333-8.
27. Smart GA, Sherlock JC. Nickel in foods and diets. *Food Add Contamin* 1987;4:61-7.
28. Patidar SK, Tare V. Effect of nutrients on biomass activity in degradation of sulfate laden organics. *Proc Biochem* 2006;41:489-95.
29. Danish National Food Institute. *Danish Food Composition Data Bank*. Last updated on 2005 Dec 25. Disponibile all'indirizzo: http://www.foodcomp.dk/fcdb_details.asp?FoodId=0103; ultima consultazione 08/06/2009.
30. Anke M, Angelow L, Gleis M, Müller M, Illing H. The biological importance of nickel in the food chain. *Fresenius J Anal Chem* 1995;352:92-6.
31. Sharma DA. Relationship between nickel and diet. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007;73:307-12.

I TEST EPICUTANEI NELLA DIAGNOSI DELLE ALLERGIE DA CONTATTO AI METALLI

Antonio Cristaudo, Mariagrazia De Rocco, Mirko Frasca, Giorgiana Feliziani, Valentina Bordignon
Servizio di Dermatologia Allergologica Professionale ed Ambientale, Istituto Dermatologico San Gallicano-IRCCS, Roma

Introduzione

La dermatite da contatto è una risposta infiammatoria della cute ad uno stimolo esterno che può essere causato sia da una reazione di ipersensibilità ritardata che comporta l'intervento di linfociti T sensibilizzati ad un determinato antigene (dermatite allergica da contatto-DAC), sia da una varietà di stimoli fisici o chimici che agiscono con un meccanismo di lesione diretta (dermatite irritante da contatto-DIC). La dermatite allergica da contatto può essere schematicamente suddivisa in due fasi:

- la fase afferente che va dal momento del contatto con l'allergene all'acquisizione della sensibilizzazione;
- la fase efferente che è l'elicitazione della risposta.

Le sostanze in grado di determinare dermatiti da contatto allergiche sono sostanze chimiche semplici con peso molecolare compreso tra 500 e 1000 daltons, dotate di gruppi reattivi che consentono il legame con una proteina della matrice extracellulare o della superficie cellulare formando con essi legami covalenti non reversibili, o, meno frequentemente, legami di trasferimento elettronico (elettrostatico). La formazione di un legame con queste caratteristiche, porta ad una modificazione chimica della proteina e rappresenta l'evento fondamentale che converte il "self" in "non self", dando inizio al processo di ipersensibilità. La diagnosi di DAC si basa su criteri clinico-anamnestici e sui risultati dei test allergologici (*patch test*; *open test*; test d'uso; tests intradermici; test di arresto-ripresa).

Patch test

Il *patch test* è considerato, nella pratica clinica, il *gold standard* fra i mezzi diagnostici *in vivo*. È basato sull'applicazione sulla cute del paziente di allergeni sospettati essere responsabili della dermatosi. L'attuale tecnica è il risultato di un continuo processo di sviluppo e miglioramento fin dalla sua prima applicazione. Il test deve essere effettuato quando dal rilievo anamnestico e dall'esame obiettivo dermatologico si sospetta una DAC. Nell'esecuzione corretta di un *patch test* devono essere tenuti in considerazione:

- *Apparati testanti*

Quelli più comuni prevedono che il supporto, il cerotto e gli allergeni siano forniti separatamente. Sono disponibili in commercio diversi supporti, i più utilizzati sono i Finn Chamber (costituito da una celletta metallica di Al, su cui viene posto l'aptene), gli Al-Test (in questo caso l'aptene viene posto su un disco di cellulosa, fissato su un foglio di Al) e i Van der Bend Square (cellette quadrate di polipropilene). Per un'adeguata

aderenza del supporto alla cute vengono utilizzati dei cerotti che non provocano di per se reazioni allergiche o irritative.

Attualmente sono presenti sul mercato, sistemi di apparati testanti “pronti per l’uso” comprensivi di tutto il materiale necessario all’esecuzione del *patch test*.

– *Apteni*

Per quanto riguarda gli apteni da utilizzare nell’esecuzione del test, questi devono essere chimicamente puri, biodisponibili, in concentrazione adeguata e utilizzati con veicolo opportuno. È importante utilizzare una concentrazione ideale. Concentrazioni troppo alte possono causare irritazione; concentrazioni troppo basse sono responsabili di falsi-negativi.

– *Veicoli*

Il veicolo più usato è la vaselina, in caso di soluzioni vengono utilizzati acqua, acetone, etanolo, olio di oliva, ecc. Per la maggior parte degli apteni la concentrazione è nota. La quantità di aptene da utilizzare è di circa 40-50 mg di sostanza per quelli solidi, mentre per i liquidi sono sufficienti 1-2 gocce (20-40 µL).

– *Siti di applicazione*

Il sito preferibile per applicare il *patch test* è la parte alta del dorso, ma si può utilizzare anche il lato esterno delle braccia. Devono essere utilizzati solo i distretti coperti dagli abiti, in quanto alcune reazioni positive possono persistere per diverse settimane e, occasionalmente, produrre ipo- o iperpigmentazione. La rimozione dei peli nella parte posteriore è a volte raccomandata per motivi pratici, ma può contribuire all’irritazione cutanea. Se la cute è particolarmente grassa può essere detersa con un solvente delicato, che deve evaporare prima dell’applicazione del test. La cute della schiena non dovrebbe essere trattata con corticosteroidi topici per una settimana prima del test. L’assunzione di corticosteroidi orali deve essere evitata durante la prova, perché può inibire una reazione positiva. Lo stesso vale per citostatici e ciclosporina. Durante la settimana precedente al test la pelle non deve essere irradiata dal sole o da fonti artificiali di ultravioletti. I margini del *patch test* possono essere facilmente delineati con pennarelli. I pazienti devono essere informati circa l’astensione dall’esercizio fisico eccessivo, docce, ecc., per mantenere il *patch test* asciutto.

Lettura del *patch test*

Il *patch test* di solito viene rimosso dopo 48 ore e la lettura viene effettuata 20 minuti dopo la rimozione delle strisce (giorno 2) e dopo 72 (giorno 3) o 96 ore (giorno 4) (1). In casi particolari è preferibile effettuare una ulteriore lettura dopo 7 giorni (Au e alcuni farmaci come cortisonici e neomicina) (2, 3). Occasionalmente alcune gravi reazioni possono provocare prurito e bruciore, nel qual caso, il cerotto può essere rimosso anticipatamente.

La lettura del test viene effettuata attraverso un metodo quali-quantitativo che prende in considerazione la presenza di eritema, edema, papule, vescicole e la superficie interessata al fenomeno. L’intensità della risposta viene classificata secondo la seguente scala:

- Reazione negativa
- ?+ Solo scarso eritema: reazione dubbia
- 1+ Eritema uniforme con edema, eventualmente papule
- 2+ Eritema edema, papule e vescicole evidenti
- 3+ Eritema, edema, papule e vescicole molto evidenti con possibile presenza di bolle
- IR Reazione irritativa

Si parla di reazione irritativa in presenza di fini desquamazioni (carta di seta), eritema e papule follicolari, petecchie, pustole, bolle o addirittura necrosi e con minima infiltrazione (4). Attualmente sono noti circa 3700 allergeni (5). Questo è il motivo per cui un piccolo numero di sostanze, considerate responsabili della maggior parte delle reazioni di ipersensibilità ritardata, sono raggruppate in una serie standard (6). Generalmente nella serie standard vengono incluse 20-30 sostanze che consistono in composti chimicamente definiti o in miscele di allergeni sia naturali che sintetici. Queste serie vengono spesso riviste per adeguarsi ai cambiamenti ambientali e all'introduzione di nuovi allergeni sul mercato. Minori variazioni sono dovute a differenze di cultura, industrializzazione e usanze dei vari paesi (7). Una serie standard è per definizione in grado di rilevare dal 70% all'80% di tutte le allergie da contatto (8). Per valutare l'esposizione ad allergeni particolari, sono disponibili diverse serie speciali. Esse possono essere suddivise in diverse categorie in base alla professione del paziente (ad esempio i parrucchieri), la localizzazione di dermatite (serie di scarpe), serie di composti chimicamente correlati (acrilati o resine epossidiche) o composti collegati funzionalmente (serie di corticosteroidi, di cosmetici). Prodotti o materiali portati dal paziente e sospettati di provocare dermatiti dovrebbero essere testati con grande cautela. Prima di tutto è opportuno precisare che i prodotti con una composizione chimica totalmente sconosciuta non dovrebbero mai essere applicati sulla cute. Pertanto è consigliabile iniziare con una prova (*open test*), per ridurre al minimo il rischio di grave irritazione. Se questo risulta negativo, può essere applicato un *patch test*, in genere a partire dalla concentrazione minima aumentando gradualmente se il precedente test è negativo. A seconda della potenzialità di irritazione o di sensibilizzazione del prodotto, si consiglia di iniziare con le concentrazioni di 0,001% o 0,01%. Il veicolo ideale e la concentrazione giusta per ciascun prodotto o composto chimico è difficile da individuare, ma un aiuto può essere fornito dalla letteratura.

Per la maggior parte dei prodotti destinati all'uso su cute lesa o integra come cosmetici, detergenti, farmaci topici, ecc., l'applicazione di un *open test*, probabilmente, potrebbe dare maggiori informazioni sulla patogenesi della dermatite rispetto ad un *patch test* standard occlusivo (9).

La riproducibilità dei *patch test* rimane controversa. In letteratura viene riportato che le percentuali di riproducibilità variano dal 48% al 96% (10). Brasch *et al.* hanno trovato che la non-riproducibilità dei *patch test* sembra essere fortemente dipendente dal tipo di allergene studiato. Altri fattori quale l'età, il sesso, l'atopia, il ritmo sonno-veglia, l'attività sebacea della cute, l'uso di farmaci per via sistemica, dermatosi infiammatorie in sedi diverse del corpo, erano meno rilevanti per la riproducibilità del test (11). Il test ideale non dovrebbe dare reazioni falsamente positive o falso-negative. Una reazione falsamente positiva può essere causata da concentrazioni troppo elevate del test, sostanze impure o contaminate, sostanze o veicoli irritanti, presenza di dermatite nell'area di applicazione del *patch test*, dermatosi infiammatorie in sedi distanti dal sito d'applicazione, effetti di pressione o irritazione meccanica. Reazioni falsamente negative, in presenza di un'allergia da contatto, possono essere dovute a concentrazioni troppo basse dell'allergene, quantità insufficiente di allergene o ritenzione dello stesso da parte del veicolo, rimozione precoce del test, lettura troppo precoce del test, assunzione di farmaci quali i corticosteroidi. Il pre-trattamento con steroidi topici dell'area d'applicazione del test può ridurre gli effetti di reazioni troppo elevate, pertanto è preferibile rinviare la prova a dopo la sospensione del cortisone. Alcuni studi indicano che è inutile sospendere gli antistaminici prima della prova, poiché la valutazione clinica non è influenzata da questi farmaci.

Alcuni studi hanno segnalato l'effetto soppressivo della radiazioni ultraviolette (UV), sulla dermatite di contatto. Tuttavia, gli studi che valutano l'influenza soppressiva sui *patch test* della variazione stagionale della luce solare hanno dato esiti contraddittori (12).

Reazioni avverse

Il *patch test* non dovrebbe procurare eventi avversi. Le reazioni irritative possono essere considerate degli eventi indesiderati, soprattutto quelle più severe. Normalmente le risposte di tipo irritativo che si possono sviluppare in seguito all'applicazione di un *patch test* sono ben circoscritte e limitate all'area di cute entrata in diretto contatto con l'allergene.

La *excited skin syndrome* o *angry back* definisce la presenza reazioni a diversi allergeni testati alcune delle quali sono falsamente positive. Le citochine che vengono rilasciate nell'area cutanea dove si sviluppa la "vera" reazione allergica possono determinare una risposta infiammatoria anche in altre sedi, producendo delle false positività. Questo fenomeno loco-regionale si può realizzare in due casi: a) in presenza di una dermatite subclinica in un paziente atopico; b) quando si sviluppa un'intensa reazione allergica ad un determinato allergene per cui, realizzandosi nella cute circostante una condizione di iperreattività, si possono sviluppare risposte falsamente positive in altre aree testate, generalmente adiacenti all'allergene cui il paziente ha mostrato di essere allergico (13).

L'effetto bordo o *edge effect* è spesso il risultato di una reazione irritativa che si manifesta più intensamente alla periferia piuttosto che nella zona centrale di applicazione dell'allergene come conseguenza di un'aumentata concentrazione della sostanza ai bordi del dischetto. L'effetto bordo può essere un falso negativo o una dubbia risposta di un *patch test* al cortisone; in questo caso, specialmente alla prima lettura, si può sviluppare un'evidente risposta eczematosa sul bordo dell'area campione. Ciò accade perché, probabilmente, nella zona centrale, dove la concentrazione del corticosteroide è più elevata, la risposta infiammatoria viene inizialmente soppressa, mentre ai bordi dove la concentrazione è più bassa poiché la sostanza diffonde attraverso la cute, l'effetto allergenico prevale su quello immunosoppressivo con conseguente sviluppo della reazione (3).

Reazioni di tipo irritativo possono manifestarsi con la comparsa di lesioni pustolose. In questo caso il prurito è spesso minimo o addirittura assente e le manifestazioni cutanee regrediscono nel giro di un breve periodo di tempo, seppure talvolta possano perdurare anche per diversi giorni (14).

Sono possibili reazioni da pressione in particolare quando vengono testate sostanze solide o nel caso di pazienti demografici.

Iperpigmentazioni possono semplicemente comparire in seguito all'infiammazione e quindi indipendentemente da una risposta di tipo chimico. In alcuni casi una reazione allergica imponente può esitare in un'iperpigmentazione o in un'ipopigmentazione permanente (15).

La sensibilizzazione ad un *patch test* è la reazione più importante che si possa verificare. Si manifesta come una reazione di flare-up nell'area di cute interessata, che perdura nei giorni successivi alla rimozione del *patch test* (16).

Altri effetti indesiderati che possono verificarsi in corso di esecuzione di un *patch test* sono: riacutizzazione ed estensione della dermatosi, alterazioni pigmentarie, reazioni a cerotti adesivi, complicanze infettive.

Rilevanza

I *patch test* possono essere utilizzati per confermare la diagnosi di una sospetta DAC ed eventualmente per suggerire al paziente quali tipi di prodotti evitare e quali, invece, utilizzare in alternativa. Un test positivo non prova che l'allergene che lo ha indotto sia responsabile della dermatosi in atto, ma potrebbe essere riferibile ad una precedente dermatite. Per questo motivo, in presenza di un risultato positivo, è fondamentale valutare la risposta anche in considerazione del quadro clinico e della storia del paziente. I requisiti più importanti che devono essere presi

in considerazione affinché la positività emersa con il *patch test* possa essere considerata rilevante nello sviluppo di una dermatite allergica da contatto sono: 1) esposizione all'agente sensibilizzante; 2) la comparsa e l'andamento della dermatosi sono riferibili all'esposizione della sostanza sensibilizzante (17).

È importante, dunque, raccogliere tutte le informazioni necessarie atte a valutare l'eventuale esposizione del paziente all'agente sensibilizzante ritenuto sospetto della dermatite.

Open test

Gli *open test* sono da considerarsi i test di prima scelta quando non è nota la capacità irritante e sensibilizzante di una sostanza sospettata come causa di una dermatite allergica. Cosmetici come profumi, lozioni dopobarba e lacche rappresentano il prototipo di sostanze indagabili con questo genere di prova. Il materiale da testare viene applicato sulla cute, non diluito, un paio di volte al giorno per almeno due giorni. La superficie esterna e del braccio o la zona retroauricolare sono le sedi ideali per l'esecuzione di un *open test*. L'area di cute campione va lasciata scoperta e l'applicazione della sostanza deve essere interrotta se compare l'irritazione. La prima lettura viene effettuata dopo 15-30 minuti in caso di orticaria, e dopo 48-72 ore nella DAC. Se l'*open test* dà risultato negativo, ciò significa che la sostanza può essere tranquillamente testata con il *patch test* senza il rischio di sviluppare reazioni irritative severe.

Test d'uso

I test d'uso come il *Provocative Use Test* (PUT) e il *Repeated Open Application Test* (ROAT), l'*Handling test* e il *Rubbing test*, vengono eseguiti, in soggetti con *patch test* negativi, per valutare la rilevanza eziologica di un prodotto ritenuto essere responsabile della dermatite da contatto. Gli *open test* si eseguono testando solo una sostanza alla volta e non prevedendo l'occlusione, minimizzando eventuali reazioni irritative e false positività. Il ROAT, è un test d'uso che si esegue applicando su una superficie cutanea di circa 3 centimetri di diametro, la sostanza da testare, due volte al giorno per 7 giorni, l'eventuale positività compare nell'arco di 2-4 giorni. Il paziente viene avvisato di interrompere l'applicazione nel caso in cui noti la comparsa di una reazione.

Test intradermico

Di raro impiego, è un test che viene utilizzato solo per alcuni metalli solubili in acqua. Si iniettano 0,02-0,04 mL di una soluzione opportunamente diluita dell'allergene. Una risposta positiva, di tipo eritemato-papuloso, si ha dopo 48-72 ore.

Bibliografia

1. Rietschel RL, Fowler JF Jr. Practical aspects of patch testing. In: Rietschel RL, Fowler JF Jr (Ed.). *Fisher's Contact Dermatitis*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. pp. 9-26.
2. Bruze M, Hedman H, Björkner B, Möller H. The development and course of test reactions to gold sodium thiosulfate. *Contact Dermatitis* 1995;33:386-91.

3. Dooms-Goossens A. Sensitisation to corticosteroids. Consequences for anti-inflammatory therapy. *Drug Saf* 1995;13:123-9.
4. Fischer T, Maibach HI. patch testing in allergic contact dermatitis: an update. *Semin Dermatol* 1986;5:214-24.
5. De Groot AC (Ed.). *Patch testing. Test concentrations and vehicles for 3,700 allergens*. Amsterdam: Elsevier; 1994.
6. Bruze M, Conde-Salazar L, Goossens A, Kanerva L, White IR. Thoughts on sensitizers in a standard patch test series. The European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 1999;41:241-50.
7. Bruynzeel DP, Andersen KE, Camarasa JG, Lachapelle J-M, Menné T, White IR. The European standard series. European Environmental and Contact Dermatitis Research Group (EECDRG). *Contact Dermatitis* 1995;33:145-50.
8. Young E, Houwing RH. Patch test results with standard allergens over a decade. *Contact Dermatitis* 1987;17:104-8.
9. Wahlberg JE. Patch testing. In: Rycroft RJG, Menné T, Frosch PJ, Benezra C (Ed.). *Contact Dermatitis*. Berlino: Springer-Verlag; 1992. pp. 239-68.
10. Bourke JF, Batta K, Prais L, Abdullah A, Foulds IS. The reproducibility of patch tests. *Br J Dermatol* 1999;140:102-5.
11. Brasch J, Henseler T, Aberer W, Bäuerle G, Frosch PJ, Fuchs T, Fünfstück V, Kaiser G, Lischka GG, Pilz B, Sauer C, Schaller J, Scheuer B, Szliska C. Reproducibility of patch tests. A multicenter study of synchronous left-versus right-sided patch tests by the German Contact Dermatitis Research Group. *J Am Acad Dermatol* 1994;31:584-91.
12. Edman B. Seasonal influence on patch test results. *Contact Dermatitis* 1989;20:226.
13. Pasche-Koo F, Hauser C. How to better understand the angry back syndrome. *Dermatology* 1992;184:237-40.
14. Wahlberg JE, Maibach HI. Sterile cutaneous pustules: a manifestation of primary irritancy? Identification of contact pustulogens. *J Invest Dermatol* 1981;76:381-3.
15. Rudzki E, Grzywa Z. Hyperpigmentation from irritant patch tests. *Contact Dermatitis* 1977;3:53.
16. Cronin, E (Ed.). *Contact Dermatitis*. Edimburgo, Londra e New York: Churchill Livingstone; 1980.
17. Bruze M. What is a relevant contact allergy? *Contact Dermatitis* 1990;23:224-5.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

Roma, aprile-giugno 2009 (n. 2) 6° Suppl.