

# SCENARIO DI ESPOSIZIONE E APPROCCI QUANTITATIVO E QUALI-QUANTITATIVO AI FINI DELLA RESTRIZIONE IN AMBITO EUROPEO

Tiziana Catone, Maria Teresa Russo, Leonello Attias  
*Centro Nazionale Sostanze Chimiche, Prodotti Cosmetici e Protezione del Consumatore,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

## Introduzione

Uno scenario di esposizione è definito come l'insieme delle condizioni, comprese le condizioni operative e le misure di gestione dei rischi, che descrivono il modo in cui una sostanza in quanto tale o in quanto componente di una miscela può essere utilizzata assumendo che il rischio sia controllato.

Gli scenari di esposizione per le sostanze contenute negli inchiostri per tatuaggi e tatuaggi cosmetici (*Permanent MakeUp*, PMU) sono stati sviluppati nell'ambito della preparazione del dossier di restrizione in conformità all'allegato XV del Regolamento (CE) 1907/2006 (noto come REACH: *Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals*) (1), avviato su richiesta della Commissione Europea del dicembre 2015. Si stima che il 12% dei cittadini europei sia tatuato e che la prevalenza nelle generazioni più giovani (18-35 anni) potrebbe raddoppiare a breve se la tendenza di crescita rimane la stessa degli ultimi anni (2). L'inchiostro può essere iniettato nel derma o in altre parti del corpo (ad esempio nelle sottomucose, sotto la lingua o per via intraoculare). I PMU sono usati per somigliare al trucco (2). Si stima che tra il 3 e il 20% della popolazione generale, ricorra al PMU (2).

Gli effetti negativi sulla salute riportati dopo l'applicazione del tatuaggio, sono principalmente problemi della pelle; difatti, in un sondaggio effettuato in Europa, il 68% delle persone tatuate intervistate ha segnalato problemi (3). È noto che i pigmenti contenuti negli inchiostri per tatuaggi possono essere distribuiti nell'organismo e raggiungere anche organi lontani dal sito di applicazione come ad esempio i linfonodi e il fegato (4). Nello stesso sondaggio, il 6,6% delle persone tatuate intervistate ha riportato reazioni sistemiche dopo il tatuaggio (3).

Nell'Unione Europea, sette Stati Membri hanno già una legislazione nazionale sui tatuaggi basata sulle Risoluzioni del Consiglio d'Europa (Council of Europe, CoE) ResAP2003(2) (5) e ResAP2008(1) (6). La proposta di restrizione si basa su questi strumenti normativi esistenti.

La portata della richiesta della Commissione era di includere tutte le sostanze elencate nella ResAP2008(1) (6): in aggiunta sono state considerate sostanze con una classificazione armonizzata come CMR (Cancerogeni, Mutageni e tossici per la Riproduzione) di categoria 1A e 1B e sensibilizzanti per la pelle secondo i criteri del Regolamento (CE) 1272/2008 del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele (*Classification, Labelling and Packaging*, CLP) (7). Sono state inoltre valutate altre sostanze per i loro effetti sul derma o sul tessuto oculare.

La conclusione della valutazione del rischio effettuata è che l'uso di alcune sostanze negli inchiostri per tatuaggi e nelle miscele di PMU e per le quali è nota una soglia di effetto tossicologico, non è adeguatamente controllato. Inoltre, sulla base delle considerazioni di una serie di valutazioni (semi) qualitative, si è concluso che anche per alcune sostanze per le quali non è possibile definire una soglia di effetto, il loro uso e la loro presenza negli inchiostri per

tatuaggi sottopone ad un rischio non accettabile. Pertanto, è stata condotta un'analisi delle diverse opzioni di gestione del rischio (*Risk Management Option*, RMO) al fine di individuare la misura normativa più appropriata per gestire i rischi identificati, in accordo con le prescrizioni del Regolamento REACH e facendo riferimento anche alla legislazione UE esistente e ad altre possibili opzioni a livello dell'Unione.

Sulla base dell'analisi dell'efficacia e della praticabilità delle varie RMO, la restrizione è risultata la misura di gestione del rischio più idonea.

## Proposta di restrizione

L'intenzione della restrizione è di minimizzare il rischio per i consumatori potenzialmente esposti a sostanze chimiche utilizzate negli inchiostri per tatuaggi e PMU. La proposta di restrizione riguarda solo tatuaggi decorativi, PMU tradizionali e tatuaggi medici. Quindi, tatuaggi temporanei applicati sulla superficie della pelle (adesivi) e tatuaggi traumatici (non intenzionali) non rientrano nell'ambito della restrizione.

Sono state sviluppate due opzioni di restrizione RO1 (*Restriction Option1*) e RO2 (*Restriction Option2*), che differiscono principalmente in termini di limiti di concentrazione proposti per le sostanze nell'ambito di applicazione della restrizione e in relazione alla presenza delle sostanze negli allegati del Regolamento sui prodotti cosmetici (Regolamento (CE) 1223/2009).

## Approccio utilizzato nello sviluppo dello scenario di esposizione

Lo scenario di esposizione sviluppato per la restrizione ha tenuto conto dell'uso delle sostanze, della via di esposizione, della superficie tatuata e della concentrazione di sostanza utilizzata.

Nella pratica del tatuaggio e PMU l'inchiostro viene iniettato nello strato dermico dove l'azione dei capillari ha l'effetto di veicolarlo nello strato più profondo del derma.

Lo scenario di esposizione sviluppato prende quindi in considerazione l'applicazione intradermica di inchiostro per tatuaggi in una singola sessione su una superficie di 300 cm<sup>2</sup> di pelle con la possibilità di applicazioni successive fino a coprire l'intera superficie corporea.

Questo scenario è protettivo sia per persone che tatuano tutto il corpo, sia per chi si fa applicare un singolo tatuaggio o più tatuaggi di minori dimensioni in più sessioni.

Per quanto concerne la quantità di inchiostro depositato sulla pelle durante il tatuaggio, i dati disponibili sono molto limitati. Poiché le informazioni sono carenti, non è stata considerata alcuna differenza tra tatuatori professionisti rispetto ai dilettanti, o tra tatuatori esperti e inesperti. Sulla base delle informazioni di mercato disponibili, è stato stimato che un inchiostro per tatuaggio può contenere 25% di pigmento (2). In uno studio di Engel del 2008 (8) la quantità di pigmento (Pigment Red 22) iniettato su pelle di maiale escissa e pelle umana risulta essere nell'intervallo di 0,60-9,42 mg/cm<sup>2</sup> per un inchiostro contenente il 25% di Pigment Red 22. Il valore medio calcolato era di 3,2 mg di pigmento/cm<sup>2</sup> con una mediana di 2,6. In questa restrizione per la valutazione del rischio, si è considerato di utilizzare il 75<sup>th</sup> percentile equivalente a 3,59 mg pigmento/cm<sup>2</sup>. Il 75° percentile è stato scelto proprio a causa della carenza di dati e per assumere il caso peggiore in accordo con quanto indicato nelle guida ECHA sulla valutazione dell'esposizione (9, 10).

Assumendo il 25% di pigmento nell'inchiostro del tatuaggio, si ottiene una quantità d'inchiostro iniettata pari a 14,36 mg/cm<sup>2</sup>.

In Tabella 1 sono riportati i parametri selezionati e i valori corrispondenti.

**Tabella 1. Parametri da applicare nel calcolo dell'esposizione per gli inchiostri per tatuaggi**

Parametro	Valore
Dimensioni del tatuaggio (cm <sup>2</sup> )	300
Peso della persona tatuata (kg)	60
Quantità di inchiostro (mg)/cm <sup>2</sup>	14,36
Quantità di inchiostro in una singola sessione (mg)	4308

### Ulteriori considerazioni sull'area di pelle tatuata

Nella elaborazione del dossier di restrizione, la valutazione dell'esposizione si è basata sulla quantità totale di inchiostro iniettato durante una singola sessione di tatuaggio piuttosto che sulla dimensione finale del tatuaggio applicato. Affinché il tatuaggio permanga più a lungo possibile, la sostanza colorante deve essere iniettata nel derma ad una profondità di 1-2 mm. È necessario anche considerare che durante l'applicazione del tatuaggio la pelle viene lesa e può sanguinare e da questo ne può conseguire la perdita di parte dell'inchiostro. D'altro canto, la capacità della sostanza colorante di rimanere all'interno dello strato dermico deriva proprio dal maggior grado di assorbimento della cute lesa rispetto alla cute integra. Inoltre, devono essere effettuate opportune considerazioni sulla natura chimica delle sostanze coloranti, ovvero i costituenti solubili dell'inchiostro vengono distribuiti nell'arco di ore o giorni e vengono resi rapidamente disponibili a livello sistemico. Viceversa, i pigmenti insolubili hanno maggiori possibilità di essere trattenuti localmente rendendo il tatuaggio più duraturo e visibile. Il meccanismo di dispersione dei pigmenti dalla zona di applicazione può dipendere da diversi fattori quali la dispersione attraverso gli strati più superficiali della pelle, la fagocitosi, il metabolismo del pigmento nella cute e la decomposizione fotochimica (11).

La pratica di avere più di un tatuaggio è piuttosto comune (12, 13), e alcune persone arrivano a coprire intere zone del corpo e in taluni casi anche tutto il corpo. Per questi motivi è stato definito lo scenario di esposizione sopra descritto, assumendo una biodisponibilità sistemica del 100% per prendere in considerazione anche le situazioni più estreme.

### Sostanze incluse sulla base delle proprietà intrinseche e valutate in modo quantitativo

Seguendo quanto indicato nell'allegato I (REACH par. 1.1.2.) (1) e nell'ECHA Guidance R.8 (2012) (14), per *end-point* per cui è possibile definire una soglia di effetto e per i quali è possibile derivare un valore di DNEL (*Derived No Effect Level*) è stato adottato un approccio quantitativo.

Le sostanze o i gruppi di sostanze per le quali sono stati ottenuti DNEL sulla base di un approccio quantitativo sono:

- metanolo, in quanto classificato come STOT SE (*Specific Target Organ Toxicity – Single Exposure*);
- sostanze classificate per tossicità per la riproduzione nella categoria di pericolo Repro 1A/B e 2.

La valutazione del metanolo è stata condotta dall'Italia che ha collaborato, con Danimarca e Norvegia (con il contributo della Germania), anche alla selezione delle sostanze da includere nel dossier di restrizione e a tutte le fasi di perfezionamento del dossier.

Il metanolo rientra nell'ambito della restrizione proposta per:

- la classificazione armonizzata come STOT SE sulla base degli effetti sul nervo ottico e il sistema nervoso centrale dopo singola esposizione;
- l'uso come agente denaturante dell'etanolo (allegato III del Regolamento (CE) 1223/2009).

La Direttiva della Commissione 2006/15/CE del 7 febbraio 2006 (15), che istituisce un secondo elenco di indicazioni professionali indicative dei valori limite di esposizione, specifica un valore limite per il metanolo di 260 mg/m<sup>3</sup> (o 200 ppm) per una esposizione di 8 ore, con un'esposizione risultante di 2,6 g/persona/giorno, equivalente a 40 mg/kg peso corporeo/giorno.

Questo valore di esposizione occupazionale (*Occupational Exposure Level*, OEL) è considerato, nella maggior parte dei casi, protettivo anche per effetti sub-clinici del Sistema Nervoso Centrale (SNC) dopo inalazione del metanolo, che compaiono a 270 mg/m<sup>3</sup> (14). Sulla base di questi dati è stato calcolato un DNEL di 8 mg/kg peso corporeo/giorno per la popolazione generale inserendo un *Assessment Factor* (AF) di 5.

Per il metanolo è stata poi condotta la determinazione della concentrazione massima consentita. Il limite di concentrazione (*Concentration Limit*, CL) è stato confrontato con l'esposizione per calcolare il Rapporto di Caratterizzazione del Rischio (*Risk Characterization Ratio*, RCR) che esprime il rapporto tra l'esposizione e il livello di non effetto (DNEL). Di fatto, se l'esposizione è maggiore del livello di non effetto, il rischio è fuori controllo (RCR>1), se è minore il rischio è sotto controllo (RCR<1).

Per il metanolo il limite di concentrazione nell'inchiostro, corrispondente ad un RCR inferiore ad 1, è stato calcolato con la formula:

$$\text{limite di concentrazione (CL)} = \frac{\text{massima dose accettabile (DNEL} \times \text{peso corporeo)}}{\text{quantità di inchiostro in mg}}$$

$$\text{CL} = \frac{8 \text{ mg/kg bw/day} \times 60 \text{ kg}}{4308 \text{ mg}} \times 100 = 0,11 \times 100 = 11\%$$

L'11% corrisponde ad un RCR pari ad uno e per questo motivo il limite di concentrazione (corrispondente ad un RCR < 1) è stato stabilito pari a 10,9%.

Come punto di partenza per le sostanze classificate per tossicità per la riproduzione è stata considerata la loro classificazione armonizzata Repro Cat 1A e 1B secondo il Regolamento CLP (7) e che non siano classificate anche come Cancerogene, Mutagene o Sensibilizzanti cutanee. Per le sostanze tossiche per la riproduzione si assume che queste possano avere una soglia di effetto e per questo motivo sono state incluse tra le sostanze su cui condurre una valutazione del pericolo quantitativa con derivazione di un DNEL. Trentaquattro (34) sostanze sono state valutate individualmente sulla base dei dati disponibili: i NOAEL/LOAEL (*No Observed Adverse Effect Level/Lowest Observed Adverse Effect Level*) sono stati identificati in un intervallo di 0,04-200 mg/kg peso corporeo/giorno.

Per il 96% delle sostanze sono stati derivati DNEL con valori compresi tra 0.001 and 1 mg/kg peso corporeo/giorno e, ai fini di una valutazione del rischio cautelativa, è stato considerato il DNEL più basso per la popolazione generale (0,001 mg/kg peso corporeo/giorno) come il più rappresentativo per tutte le sostanze "solo reprotossiche" classificate Repro Cat 1 A e 1B. Anche per le sostanze classificate Repro Cat 2 non è stata effettuata una valutazione individuale ma un approccio di gruppo (Tabella 2).

## Sostanze incluse sulla base delle proprietà intrinseche e valutate in modo semi-quantitativo

Le sostanze o i gruppi di sostanze per le quali sono stati ottenuti dei Livelli Minimi di Effetto (*Derived Minimal Effect Level*, DMEL) sulla base di un approccio semi-quantitativo sono:

- ammine aromatiche primarie (*Primary Aromatic Amines*, PAA) e coloranti azoici;
- alcune sostanze elencate nella tabella 3 della Risoluzione ResAP(2008)(1) (6) considerate impurezze negli inchiostri per tatuaggi e nelle PMU.

### PAA e coloranti azoici

Le PAA sono utilizzate nella produzione di coloranti azoici e possono quindi essere presenti nel colorante finale come impurezze. La degradazione dei coloranti azoici può generare PAA. I coloranti azoici possono essere degradati a seguito di irraggiamento (luce solare o laser -2). Per queste sostanze si può avere inoltre degradazione enzimatica o batterica (17, 18). Nella proposta di restrizione vi è anche l'inclusione di diversi coloranti azoici in quanto inclusi nelle legislazioni nazionali in sette Stati Membri dell'Unione Europea sulla base della tabella 2 della ResAP(2003)(2) (5). La valutazione del rischio per dieci PAA è stata eseguita sulla base di un sondaggio danese sugli inchiostri per tatuaggi (18) che aveva lo scopo di derivare un DMEL per gli effetti cancerogeni di queste sostanze: il DMEL è stato calcolato solo per due sostanze, anilina e o-anisidina. Circa il 54% (67 sostanze) dei coloranti utilizzati negli inchiostri per tatuaggi e PMU sono coloranti azoici (2). 32 di questi azo-coloranti possono decomporsi per dare origine a PAA per scissione dell'azo-legame e mediante idrolisi dell'ammide (18). Due dei 32 coloranti azoici sono tuttavia anche ammine aromatiche primarie e sono limitate in quanto tali, mentre uno ha una classificazione armonizzata come cancerogeno.

### Sostanze elencate nella tabella 3 della Risoluzione ResAP(2008)(1)

Queste sostanze sono considerate impurezze negli inchiostri per tatuaggi e PMU: la tabella presente nella ResAP(2008)(1) (6) riguarda una lista di sostanze per le quali sono indicate le concentrazioni massime permesse come impurezze. Alcune di queste sostanze sono state valutate con un approccio semi-quantitativo con la derivazione di un valore di DMEL (arsenico, bario, rame piombo e zinco). Altre sostanze – cadmio, cobalto, cromo (VI) mercurio, nichel, idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e benzene-a-pyrene –, incluse nel dossier di restrizione e classificate come cancerogene, mutagene e sensibilizzanti per la pelle sono invece state valutate con un approccio qualitativo. Nessuna valutazione è stata condotta per le restanti sostanze della ResAP(2008)(1) (6) (selenio, antimonio e stagno) che sono state incluse nella proposta di restrizione in quanto già regolate in alcuni Stati Membri. La Tabella 2 riporta le sostanze per le quali è stata condotta una valutazione quantitativa e semi(quantitativa) con i valori riportati per le due opzioni del rischio individuate. Le opzioni di restrizione sono state individuate dopo una attenta valutazione delle legislazioni già attuate in alcuni Stati Membri dell'Unione Europea, delle raccomandazioni del Consiglio d'Europa e la valutazione delle sostanze contenute negli inchiostri per tatuaggi. A seguito di questa valutazione si è evidenziato che le sostanze in esame, possono presentare un rischio per la salute umana quando iniettate per via intradermica. La prima opzione (RO1) è formulata per aderire in misura quanto più possibile e giustificabile alle legislazioni nazionali già esistenti (sette Stati Membri UE e altri due membri del SEE). La seconda opzione (RO2) prende in considerazione i limiti per le sostanze con classificazione armonizzata ed è quindi formulata per aderire in misura quanto più possibile al Regolamento CLP (7).

Tabella 2. Limiti di concentrazione derivati seguendo un approccio quantitativo e semi quantitativo

Gruppo di sostanze	Limiti di concentrazione (% w/w)	
	RO1	RO2
Reprotossici 1a/b (Reg. CLP)	0,0014	0,3
Reprotossici 2 (Reg. CLP)	0,014	3
IPA con classificazione CM armonizzata	0,00005	0,00005
Ammine aromatiche primarie (frazione dissolta)	0,00003	0,00003
Coloranti azoici	0,1	0,1
Metanolo	10,9	10,9
Impurezze (ResAp(2008)1 Tabella 3:		
Cadmio	0,00002	0,00002
Composti del Cromo IV	0,00002	0,00002
Mercurio	0,00002	0,00002
Rame solubile	0,05	0,05
Zinco	0,23	0,23
Bario solubile	0,84	0,84
Nickel	0,001	0,001
Selenio	0,0002	0,0002
Antimonio	0,0002	0,0002
Piombo	0,00007	0,00007
Cobalto	0,0025	0,0025
Arsenico	0,00000082	0,00000082
Stagno	0,005	0,005

RO: Restriction Option

I principali vantaggi della RO1 sono rappresentati dal fatto che, rispettando per quanto possibile le legislazioni nazionali fornirebbe un livello di protezione analogamente a quanto già applicato negli Stati che si basano sulle raccomandazioni della ResAP(2008)(1) (6). Per questo motivo risulterebbe più facile da comunicare in quanto l'ambito di limitazione proposto segue l'attuale legislazione. La conseguenza pratica è che ciò faciliterebbe la conformità con la proposta di restrizione da parte dei produttori di inchiostri per tatuaggi che già sono a conoscenza di questi requisiti. Inoltre, sarà idealmente collegata dinamicamente agli allegati II e IV del Regolamento (CE) 1223/2009 e all'allegato VI del Regolamento CLP (7) per garantire che modifiche future a tali allegati si applichino direttamente alla restrizione. La RO2 propone viceversa diversi limiti di concentrazione (rispetto al divieto completo proposto nella RO1 per le stesse sostanze essendo quest'ultimo aderente al regolamento cosmetici). Il principale rationale seguito nell'elaborazione di questa proposta è che i coloranti sono spesso di bassa purezza e quindi negli inchiostri per tatuaggi potrebbero essere presenti impurezze di fatto escluse dal divieto, ai sensi dell'articolo 17 del Regolamento (CE) 1223/2009.

## Conclusioni

Nell'ambito delle attività relative all'elaborazione della proposta di restrizione, lo scenario di esposizione è stato formulato per individuare valori protettivi per la popolazione che si sottopone alla pratica del tatuaggio e/o PMU. Per questo motivo, i parametri considerati hanno tenuto conto del tipo di uso delle sostanze nell'ambito della iniezione intradermica di inchiostro, delle dimensioni del tatuaggio e della quantità di inchiostro iniettati. Per calcolare i livelli di non effetto, ritenuti protettivi, un approccio di tipo quantitativo ha riguardato le sostanze o i gruppi di sostanze

per le quali sono stati ottenuti DNEL, ovvero metanolo e sostanze classificate come tossiche per la riproduzione, mentre è stato utilizzato un approccio semi-quantitativo (con individuazione di DMEL) ad altre sostanze quali PAA, ai coloranti azoici nonché ad un gruppo di sostanze elencate nella tabella 3 del ResAP2008(1) (6) e considerate come impurezze negli inchiostri per tatuaggi e PMU. L'Italia ha avuto il compito di effettuare la valutazione quantitativa del rischio e la derivazione del limite di concentrazione del metanolo, sostanza presente negli inchiostri per tatuaggi a causa del suo utilizzo come denaturante dell'alcool etilico a sua volta utilizzato come solvente nella miscela di inchiostro per tatuaggi che desta pericolo per i suoi effetti sul sistema nervoso e sul nervo ottico.

La valutazione del rischio per le sostanze contenute negli inchiostri per tatuaggi e PMU ha portato alla formulazione di due diverse opzioni di restrizione (RO1 e RO2) che differiscono principalmente in termini di limiti di concentrazione proposti per i gruppi di sostanze selezionati e per la differente relazione con il regolamento cosmetici.

Il lavoro ha permesso di stabilire, nelle due diverse opzioni di restrizione individuate, limiti di concentrazione considerati protettivi per la popolazione generale che si sottopone alla pratica del tatuaggio e del trucco permanente.

## Bibliografia

1. Europa. Regolamento (CE) N. 1907/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio del 18 dicembre 2006 concernente la registrazione, la valutazione, l'autorizzazione e la restrizione delle sostanze chimiche (REACH), che istituisce un'agenzia europea per le sostanze chimiche, che modifica la Direttiva 1999/45/CE e che abroga il Regolamento (CEE) n. 793/93 del Consiglio e il Regolamento (CE) n. 1488/94 della Commissione, nonché la direttiva 76/769/CEE del Consiglio e le direttive della Commissione 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE e 2000/21/CE. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea* n. L 396, 30.12.2006.
2. Piccinini P, Pakalin S, Contor L, Bianchi I, Senaldi C, and Joint Research Centre of the European Commission. *Safety of tattoos and permanent make-up. Final report*. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2016. (EUR 27947 EN).
3. Klügl I, Hiller KA, Landthaler M, Bäuml W. Incidence of Health Problems Associated with Tattooed Skin: A Nation-Wide Survey in German-Speaking Countries. *Dermatology* 2010;221:43-50.
4. Sepehri M, Jorgensen J. Surgical treatment of tattoo complications. In: Serup J, Bäuml W (Ed.). *Diagnosis and therapy of tattoo complications. With Atlas of illustrative cases*. Basel: Karger; 2017. (Current Problems in Dermatology, Vol. 52). p. 82-93.
5. Council of Europe. *Resolution ResAP(2003)2 on tattoos and permanent make-up* (Adopted by the Committee of Ministers on 19 June 2003 at the 844<sup>th</sup> meeting of the Ministers' Deputies)
6. Council of Europe. *Resolution ResAP(2008)1 on requirements and criteria for the safety of tattoos and permanent make-up* (superseding Resolution ResAP(2003)2 on tattoos and permanent make-up) (Adopted by the Committee of Ministers on 20 February 2008 at the 1018<sup>th</sup> meeting of the Ministers' Deputies).
7. Europa. Regolamento (CE) N. 1272/2008 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea* n. L 353, 31.12.2008.
8. Engel E, Santarelli F, Vasold R, Maisch T, Ulrich H, Prantl L, Ko Nig B, Landthaler M, Ba Umler W. Modern tattoos cause high concentrations of hazardous pigments in skin. *Contact Dermatitis* 2008;58:228-33.

9. European Chemicals Agency. *A Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment - Chapter R.14: Occupational exposure assessment Version 3.0*. Helsinki: ECHA; 2016.
10. European Chemicals Agency. *A Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment - Chapter R15: Consumer exposure assessment*. Helsinki: ECHA; 2016.
11. Cui Y, Churchwell MI, Couch LH, Doerge DR, Howard PC. Metabolism of pigment yellow 74 by rat and human microsomal proteins. *Drug Metab Dispos* 2005;33;1459-65.
12. DEPA. *Chemical substances in tattoo ink. Survey of chemical substances in consumer products - No. 116*. Copenhagen: Danish Environmental Protection Agency; 2012.
13. DEPA. *Allergy and tattoos - No. 1945*. Copenhagen: Danish Environmental Protection Agency; 2017.
14. European Chemicals Agency. *A Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment - Chapter R.8: Characterisation of dose [concentration]-response for human health*. Helsinki: ECHA; 2012.
15. Europa. Direttiva 2006/15/CE della Commissione, del 7 febbraio 2006, che definisce un secondo elenco di valori indicativi di esposizione professionale in attuazione della direttiva 98/24/CE del Consiglio e che modifica le direttive 91/322/CEE e 2000/39/CE. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea* L 38/36, 9.2.2006.
16. Uuksulainen S, Riala R, Santonen T, Heikkilä P, Kultamaa A, Bäck B, Laitinen J, Tuomi T. *Development of initial REACH exposure scenarios for methanol*. Helsinki: Finnish Institute of Occupational Health, FIOH; 2008
17. Sudha M, Saranya, S, Selvakumar G, Sivakumar N. Microbial degradation of Azo dyes: a review. *Int J Microbiol Appl Sci* 2014;3:670-90.
18. Chacko J, Subramaniam K. Enzymatic degradation of Azo dyes - A Review. *Int J Env Sci* 2011;1:1250-60.