

Valutazione delle caratteristiche microbiologiche di inchiostri per tatuaggi in confezioni integre e dopo l'apertura

Lucia Bonadonna, Rossella Briancesco, Anna Maria Coccia, Aurelia Fonda, Giuseppina La Rosa, Pierluigi Meloni, Rosa Paradiso, Stefania Paduano, Maurizio Semproni

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italy; Direzione generale della Prevenzione, Ministero della Salute, Roma, Italy

Summary

Microbiological evaluation of open and sealed tattoo inks.

Background. Introduction of tattoo inks in the skin has been associated with a potential entry of a great number of microorganisms including bacteria, virus and fungi. Contaminated pigments, diluents and instruments represent primary infection risk factors as well as inadequacy of hygienic measures during this practice. However, the evaluation of the infectious risk for public health due to tattoo ink use is actually not feasible cause of the low efficiency of health surveillance and the lack of specific regulation in this area.

Materials and Methods. A survey was carried out to test the microbial product safety of some tattoo inks available in Italian tattoo parlours. Physical packaging and labelling of the collected inks were also examined. Newly acquired sealed stock bottles, open ink bottles and tattoo-correlated instruments (needles, spikes and grips) were collected and tested for different microbiological parameters.

Results. Both from opened and sealed inks a variety of potentially pathogenic organisms were isolated and identified including Gram positive rods and cocci, Gram negative bacteria and fungi. Different species of *Bacillus* and *Staphylococcus* genera were identified, among which *S. haemolyticus*; *Cronobacter sakazaki*, *Enterobacter inter-*

medius and *Sphingomonas paucimobilis* were also identified while no atypical mycobacteria were isolated. Needles, spikes and grips tested for sterility were aseptic.

Conclusions. Microbial contamination of opened samples suggest inefficacy of preservatives and additives in maintaining inks hygienic quality, and inadequacy of hygienic procedures during the tattooing operations, while the occurrence of microorganisms in unopened samples put in doubt the effectiveness of the sterilization technology applied to this type of product.

Introduzione

Il tatuaggio, insieme al piercing e al trucco permanente, è ormai una moda diffusa, in particolare fra i giovani; personaggi famosi, dello spettacolo e dello sport ne sono spesso evidenti testimonial. Negli ultimi anni è quindi andato aumentando l'interesse della comunità scientifica per i possibili rischi per la salute correlabili a queste pratiche (23). Anche se associazioni di dermatologi e tatuatori concordano sul fatto che la pratica del tatuaggio è in gran parte sicura, gli sviluppi igienico-sanitari rimangono spesso ancora da valutare, soprattutto in relazione agli esiti a lungo termine (<http://www.washingtonpost.com/wp-dyn/content/article/2011/02/07/AR2011020704931.html>).

Da uno studio italiano in cui era stato distribuito un questionario a 9.322 studenti di scuole medie superiori e di universitari, è risultato che fra i liceali il 31.3% aveva un piercing e l'11.3% un tatuaggio, mentre fra gli universitari queste percentuali salivano al 33% e al 24.5%, rispettivamente. In relazione ai rischi di natura infettiva, una buona maggioranza (oltre l'80%) di intervistati dichiarava di esserne a conoscenza, ma solo una piccola percentuale era in grado di individuare le patologie potenzialmente trasmissibili attraverso queste pratiche. Inoltre, il 6.8% dei soggetti più giovani ed il 7.3% di quelli più grandi hanno segnalato di avere riportato complicanze dopo il trattamento (Atti del 44° Congresso Nazionale SItI, Poster 318).

È stato stimato che siano circa un milione e mezzo gli italiani tatuati, dato probabilmente da considerare una sottostima del reale perché spesso si trascurano i tatuaggi eseguiti per il trucco semipermanente e quelli usati con finalità terapeutiche. Intanto si riscontra una crescita esponenziale del numero delle imprese che realizzano piercing e tatuaggi: nel giro degli ultimi 3/4 anni si sono quintuplicate, passando da 257 nel 2009 a 1.217 nel 2012 ed a 1.537 nel 2013 (http://www1.adnkronos.com/IGN/Daily_Life/Benessere/Salute-Iss-tatuaggi-per-1-mln-e-mezzo-italiani-il-primo-gia-a-12-anni_32939003938.html).

Dal recente Congresso EADV (European Academy of Dermatology and Venereology) è stato confermato che gli inchiostri possono causare dermatiti e allergie. Sono infatti in aumento i casi di sensibilizza-

Correspondence: Lucia Bonadonna, Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Rome, Italy.

Tel.: +39.06.4990.2317 - Fax: +39.06.4990.2605.

E-mail: lucia.bonadonna@iss.it

Key words: contamination, inks, microbiological quality, radiation, sterility, tattoo.

Contributions: the authors contributed equally.

Conflict of interests: the authors declare no potential conflict of interests.

©Copyright L. Bonadonna et al., 2014

Licensee PAGEPress, Italy

Microbiologia Medica 2014; 29:4807

doi:10.4081/mm.2014.4807

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License (by-nc 3.0) which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.

zione associata a tatuaggi e piercing, trattamenti che aumentano l'esposizione a metalli e inchiostri di provenienza talvolta incerta (27).

Durante queste pratiche i pigmenti vengono introdotti nel derma e dopo un paio di mesi si riducono già del 30% rispetto alla dose iniziale (per eliminazione dalla cute, per trasformazione in seguito a esposizione alla luce o per passaggio nel sistema linfatico) (4).

Gli inchiostri per tatuaggi devono soddisfare le disposizioni di etichettatura e classificazione che si applicano a tutti i prodotti chimici secondo il Regolamento UE 1272/2008 (24) e possono contenere pigmenti inorganici (costituiti da sali metallici derivanti da minerali e contenenti metalli pesanti), di origine vegetale e di sintesi organica industriale e gli onnipresenti additivi, solventi, stabilizzanti e conservanti (3). Per questi prodotti, negli anni recenti si sta anche affermando l'utilizzo di nanomateriali il cui uso, già specificamente disciplinato per i cosmetici dal Regolamento (CE) n. 1223/2009 (25), per gli inchiostri non è regolamentato.

A tutt'oggi, le reazioni negative di natura tossica, ed ancor più allergica, causate dai tatuaggi, sono le più studiate, ma è stata anche avanzata l'ipotesi che i tatuaggi possano nascondere lo sviluppo di melanomi. Infatti, sembrerebbe che la *body art* possa rendersi responsabile della mancata diagnosi precoce dei tumori cutanei ostacolando il monitoraggio dei nei (22). Nello stesso ambito è stato anche osservato che la presenza di un tatuaggio potrebbe produrre problemi a coloro che si sottopongono ad esami come la risonanza magnetica, poiché l'attrazione del magnete nei confronti dei metalli pesanti, contenuti nei colori dei tatuaggi, esporrebbe all'incognita di ustioni o, molto più probabilmente, di fastidiose sensazioni di bruciore e di locali arrossamenti della cute (14).

Non sono da trascurare tuttavia i rischi di natura infettiva che, per gli inchiostri, possono derivare da una contaminazione del prodotto all'origine o da contaminazioni dopo l'apertura, in seguito a manipolazione e utilizzo (15, 18, 31). Condizioni favorevoli alla presenza di agenti biologici negli inchiostri sono da associare a uso di materie prime contaminate, processi produttivi non adeguati, pratiche igieniche non idonee durante la manipolazione e la miscelazione, uso di acqua non sterile per diluire i pigmenti, utilizzazione di inchiostri oltre la data di scadenza (2, 13, 16). Diversi studi hanno messo in evidenza la possibilità che in questi prodotti possano essere presenti microrganismi in grado di sopravvivere nonostante le condizioni potenzialmente ostili del mezzo per la sopravvivenza microbica (1, 8).

In Italia il riferimento normativo per la pratica di tatuaggio è la Circolare del 5 febbraio 1998 (21) emanata dal Ministero della Sanità riguardante l'esecuzione di procedure di tatuaggio e piercing in condizioni di sicurezza, cui sono seguite varie raccomandazioni. Per alcuni aspetti si fa anche riferimento al Codice del Consumo (12). Inoltre, alcune Regioni italiane si sono espresse a livello legislativo introducendo alcune norme a riguardo (28).

In Italia mancano del tutto informazioni sulla qualità microbiologica di inchiostri per tatuaggi. Per questo motivo è stato eseguito uno studio preliminare su inchiostri integri e dopo apertura per verificarne le caratteristiche microbiologiche al fine di valutare l'esistenza di potenziali rischi per la salute dei consumatori.

Materiali e Metodi

Trentaquattro bottiglie di inchiostri per tatuaggi, di cui 7 in confezione integra e 27 aperti e presumibilmente già utilizzati, sono stati reperiti presso centri specializzati nella realizzazione di tatuaggi tradizionali e artistici. Prima dei test di laboratorio sono state esaminate le condizioni delle confezioni, quanto riportato sull'etichetta e in eventuali documenti acclusi. È stata anche verificata la sterilità di 4 aghi e di 3 impugnature in silicone secondo le procedure previste dalla Farmacopea Ufficiale (20).

Nei campioni raccolti sono stati determinati i seguenti parametri microbiologici.

Batteri mesofili aerobi

Dal campione d'inchiostro, 0.1 mL sono stati spatolati su piastre contenenti terreno agarizzato Plate Count Agar (PCA, OXOID), ed incubati a 30°C, per 5-7 giorni. È stato effettuato anche un *test* di presenza/assenza inoculando su piastre di PCA 0.1 mL di una coltura di rivitalizzazione del campione (1:10 v/v, incubazione a 30°C per 5-7 giorni) in Luxurian Broth (Biolife Italiana), addizionata di agenti neutralizzanti. Le piastre di PCA sono state poi incubate in aerobiosi, a 30°C per tre giorni.

Funghi e lieviti

Dal campione d'inchiostro, 0.1 mL sono stati spatolati su piastre contenenti terreno agarizzato Sabouraud Dextrose Agar addizionato con Cloramfenicolo (SDA, OXOID); le piastre sono state poi incubate a 25°C per 8 settimane. È stato effettuato anche un *test* di presenza/assenza inoculando su piastre di SDA 0.1 mL di una coltura di rivitalizzazione del campione (1:10 v/v, incubazione a 30°C per 5-7 giorni) in Luxurian Broth (Biolife Italiana), addizionata di agenti neutralizzanti. Le piastre di SDA sono state poi incubate in aerobiosi, a 25°C per 8 settimane.

Gli isolati sono stati identificati mediante esame delle caratteristiche fenotipiche e mediante tecniche di biologia molecolare.

In breve, opportune quantità di colonie fungine sono state prelevate dal substrato di coltura, sospese in acqua DNAasi free, frammentate con ausilio di spatola, vortexate con palline di vetro (diametro 2 mm) per 3 min e quindi centrifugate a 13.000×g per 2 min. I pellet sono stati sottoposti a due cicli successivi di congelamento/scongelo (-80°C per 10 min/65°C per 3 min) e poi trattati con Nuclei lysis Solution (Kit Wizard, Promega) e processati seguendo la procedura di estrazione del kit. Mediante PCR standard è stata amplificata la regione ITS del genoma fungino, utilizzando i primer universali ITS1-ITS4 (35) e infine è stata eseguita una reazione di nested-PCR utilizzando i primers ITS4-ITS86 (34). Il prodotto di PCR è stato sequenziato e le sequenze, ottenute mediante il programma MEGA 6.06, sono state confrontate con le sequenze presenti nel database GenBank usando il BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) della NCBI (National Center for Biotechnology Information, USA).

Micobatteri non tubercolari

Si è proceduto a spatolare 0.1 mL del campione d'inchiostro su piastre contenenti terreno agarizzato Middlebrook 7H10 Agar (DIFCO) successivamente incubate in microaerofilia a 30°C. Le piastre sono state lette settimanalmente, da 7 fino a 30 giorni. La conferma dell'appartenenza al genere è stata effettuata mediante PCR in accordo con Telenti e collaboratori (33).

Risultati

Dall'esame dell'etichettatura è risultato che tutti i flaconi riportavano la dicitura *sterile*. Inoltre, nove di loro avevano in etichetta anche indicazioni relative al PaO (Period after Opening, il periodo dopo l'apertura) che era per tutti pari a 12 mesi e che definisce il periodo di tempo massimo che può intercorrere tra l'apertura del prodotto, in occasione del suo primo impiego, e il momento in cui non può più essere utilizzato. Infatti, una volta aperto il flacone, il suo contenuto potrebbe andare incontro a deterioramento e, potenzialmente, causare danni alla salute del consumatore. Inoltre, il 90% dei campioni esaminati era accompagnato da una scheda di sicurezza che riportava i componenti – in alcuni casi parzialmente – e le loro concentrazioni del prodotto.

I risultati delle analisi microbiologiche hanno evidenziato una elevata percentuale di campioni contaminati non solo tra i flaconi aperti (93%), ma anche in una elevata percentuale di quelli integri (86%) (Tabella 1). Non sono state trovate differenze microbiologiche qualitative tra inchiostri di colori diversi.

La conta degli organismi aerobi vitali variava da un valore minimo di 1 ufc/mL ad un valore massimo di 1000 ufc/mL, con valori inferiori a 10 ufc/mL nel 44% dei campioni, compresi tra 10 e 100 ufc/mL nel 32% e variabili da 100 a 1000 ufc/mL nel 9% degli inchiostri esaminati. Solo il 15% degli inchiostri esaminati ne risultava esente.

Tra i batteri più frequentemente isolati sono stati trovati sporigeni aerobi appartenenti al genere *Bacillus* e cocchi Gram positivi appartenenti al genere *Staphylococcus*. Sono stati tuttavia isolati anche

microrganismi appartenenti ai generi *Sphingomonas*, *Cronobacter* e *Enterobacter* (Tabella 2).

I micobatteri non tubercolari non sono stati rilevati in nessun tipo di campione.

La ricerca dei funghi ha condotto a risultati diversi se considerato il metodo di rilevamento: il 12% di campioni erano positivi con il metodo di conta diretta (solo in inchiostri aperti e con bassi conteggi), mentre con la fase di rivitalizzazione il numero di positivi ha raggiunto il 38% (in inchiostri aperti e integri). I generi e le specie identificate, molte delle quali di origine ambientale, sono riportate in Tabella 2.

Le prove eseguite sugli aghi e sulle impugnature ne hanno confermato la sterilità.

Tabella 1. Risultati delle analisi microbiologiche degli inchiostri.

| Campione | Colore | Caratteristica flacone | Aerobi vitali totali, ufc/mL | Funghi e lieviti, ufc/mL | Aerobi vitali totali (coltura di rivitalizzazione) | Funghi e lieviti (coltura di rivitalizzazione) |
|----------|-----------|---------------------------|------------------------------------|--------------------------------|--|--|
| 1 | marrone | AP | 1 | 0 | P | AS |
| 2 | verde | AP | 3 | 0 | P | P |
| 3 | grigio | I | 0 | 0 | AS | P |
| 4 | ocra | AP | 1 | 0 | P | P |
| 5 | blue | AP | 1 | 0 | P | P |
| 6 | rosa | AP | 100 | 0 | P | AS |
| 7 | viola | AP | 3 | 0 | P | P |
| 8 | giallo | AP | 300 | 0 | P | AS |
| 9 | blue | AP | 52 | 1 | P | P |
| 10 | arancione | AP | 0 | 1 | P | P |
| 11 | rosa | AP | 50 | 0 | P | P |
| 12 | viola | AP | 1 | 0 | P | P |
| 13 | rosa | I | 1 | 0 | P | P |
| 14 | rosso | I | 1 | 0 | P | AS |
| 15 | rosa | AP | 3 | 1 | P | P |
| 16 | rosso | I | 1 | 0 | P | AS |
| 17 | marrone | AP | 11 | 0 | P | AS |
| 18 | fucsia | AP | 1 | 0 | P | P |
| 19 | rosso | AP | 1 | 0 | P | AS |
| 20 | viola | AP | 30 | 0 | P | AS |
| 21 | verde | AP | 30 | 0 | P | AS |
| 22 | blue | AP | 0 | 0 | AS | AS |
| 23 | rosso | AP | 23 | 0 | P | AS |
| 24 | verde | I | 1 | 0 | P | AS |
| 25 | giallo | I | 12 | 0 | P | AS |
| 26 | rosso | I | 18 | 0 | P | AS |
| 27 | marrone | AP | 0 | 0 | AS | AS |
| 28 | giallo | AP | 1 | 0 | P | AS |
| 29 | blue | AP | 10 | 0 | P | AS |
| 30 | nero | AP | 2 | 0 | P | AS |
| 31 | nero | AP | 12 | 0 | P | AS |
| 32 | nero | AP | 0 | 2 | P | P |
| 33 | blue | AP | 1000 | 0 | P | AS |
| 34 | nero | AP | 10 | 0 | P | AS |

AP, aperto; I, integro; P, presenza; AS, assenza.

Discussione

Anche se l'appropriatezza dell'etichettatura e la presenza di schede di sicurezza potevano lasciare ipotizzare una buona qualità microbiologica dei prodotti, i riscontri analitici hanno tuttavia dimostrato la presenza di microrganismi in numerosi campioni di inchiostro, prelevati sia da flaconi già in uso che sigillati.

Negli inchiostri per tatuaggi, fra gli ingredienti consentiti ed elencati in etichetta, ci sono anche sostanze ad azione antibatterica, autorizzate dalla Risoluzione Europea (3), probabilmente responsabili delle basse concentrazioni di microrganismi riscontrate nei campioni positivi. D'altra parte, nelle analisi effettuate dopo aver seminato i campioni in brodo (coltura di arricchimento) contenente agenti inattivanti i conservanti, sono state evidenziate concentrazioni elevate di microrganismi, a

prova del fatto che i conservanti, pur non essendo in grado di abbattere i microrganismi, sono in grado di limitarne lo sviluppo. Occorre pertanto considerare che l'iniezione del prodotto può comunque rappresentare una condizione di rischio infettivo, anche in presenza di bassa carica batterica, soprattutto se si considera l'eventuale introduzione di patogeni o di opportunisti patogeni e di condizioni di immuno-debilitazione.

I microrganismi isolati, sia che provengano da una contaminazione post-utilizzo, sia che siano sopravvissuti ai trattamenti di sterilizzazione, risultano dotati di straordinaria resistenza e capacità di autoriparazione, essendo in grado di vivere in condizioni decisamente inospitali e di resistere a trattamenti biocidi teoricamente efficaci, quali quelli a cui sono sottoposti gli inchiostri. Pertanto, la sterilità di questi prodotti dovrebbe essere raggiunta tramite trattamenti di irraggiamento al fine di non alterare le caratteristiche fisico-chimiche dell'inchiostro.

La maggior parte della flora microbica isolata è rappresentata da

Tabella 2. Batteri e funghi isolati da inchiostri per tatuaggi dopo coltura di rivitalizzazione.

| Campione | Specie batteriche identificate | Specie fungine identificate |
|----------|---|--|
| 1 | <i>B. cereus</i> | / |
| 2 | <i>S. epidermidis</i> | <i>Bjercandera adusta</i> |
| 3 | / | <i>Tilletiopsis albescens</i> |
| 4 | <i>B. cereus</i> | <i>Peniophora lycii</i> |
| 5 | <i>S. hominis hominis</i> | / |
| 6 | <i>S. epidermidis</i> | <i>Penicillium</i> sp |
| 7 | ni | / |
| 8 | <i>B.subtilis</i> | / |
| 9 | <i>B. circulans</i> | <i>Penicillium</i> sp |
| 10 | <i>B.cereus</i> | <i>Penicillium</i> sp, <i>Tilletiopsis albescens</i> |
| 11 | <i>B.subtilis</i> | <i>Toxicocladosporium irritans</i> |
| 12 | ni | <i>Phlebia acerina</i> |
| 13 | <i>B. cereus</i> | <i>Cladosporium</i> sp |
| 14 | ni | / |
| 15 | <i>S. hominis hominis</i> ; <i>Cronobacter sakazakii</i> group | <i>Penicillium</i> sp |
| 16 | <i>S. warneri</i> | / |
| 17 | <i>S. epidermidis</i> | <i>Neosartorya hiratsukae</i> |
| 18 | <i>S. hominis hominis</i> | / |
| 19 | <i>B. firmus</i> | / |
| 20 | <i>B. cereus</i> | / |
| 21 | / | / |
| 22 | <i>Sphingomonas paucimobilis</i> | / |
| 23 | / | / |
| 24 | ni | / |
| 25 | <i>B.cereus</i> | / |
| 26 | <i>B. licheniformis</i> | / |
| 27 | / | / |
| 28 | <i>B. subtilis</i> | / |
| 29 | <i>B. pumilus</i> | / |
| 30 | <i>S. hominis hominis</i> | / |
| 31 | <i>S. haemolyticus</i> | / |
| 32 | / | <i>Aspergillus</i> sp, <i>Agrocybe aegerita</i> |
| 33 | <i>Enterobacter intermedius</i> | / |
| 34 | ni | / |

ni, non identificato.

microrganismi di origine ambientale con elevata prevalenza di batteri contenenti sporigeni, come quelli appartenenti al genere *Bacillus*, caratterizzati da presenza di endospore, ma anche da altri batteri anaerobi e aerobi come *Alicyclobacillus caldarius*, microrganismo gram-positivo termofilo e acidofilo, resistente all'effetto di radiazioni (19). I batteri appartenenti al genere *Bacillus* sono particolarmente resistenti alle radiazioni come dimostrano gli studi effettuati su microrganismi isolati nell'area adiacente all'impianto nucleare di Chernobyl e sopravvissuti all'incidente (36). Meccanismi di riparazione del DNA come, ad esempio, l'aumentata efficienza nella sintesi di proteine di riparazione, contribuirebbero a spiegare la loro straordinaria resistenza alle radiazioni (29, 36). In generale, le spore e le endospore batteriche sono decisamente più resistenti, rispetto alle forme vegetative, all'azione di disinfettanti come anche alle radiazioni (32).

Nel nostro studio sono stati frequentemente isolati anche cocci appartenenti al genere *Staphylococcus* tra cui *S. haemolyticus*, specie responsabile di numerose infezioni localizzate e sistemiche nota per fenomeni di antibiotico-resistenza (5). La presenza di stafilococchi nei campioni di inchiostro aperti potrebbe essere imputata all'inadeguatezza delle pratiche igieniche applicate durante la loro manipolazione, all'utilizzo di strumenti non sterili, all'uso ripetuto e protratto delle stesse confezioni e, ovviamente, è da ricondurre all'ampia diffusione ambientale di questi batteri negli ambienti antropizzati, essendo gli stafilococchi membri del microbioma umano. La resistenza alle radiazioni e l'attivazione di meccanismi di riparazione del danno cellulare potrebbero invece spiegare la loro presenza nei campioni chiusi.

Sono stati anche evidenziati microrganismi gram negativi quali *Cronobacter sakazakii*, responsabile di infezioni del tratto urinario (17), e *Sphingomonas paucimobilis*, agente di batteriemie, osteomieli e altre infezioni nosocomiali (30).

Anche i funghi sono stati trovati sia in campioni integri che aperti, con prevalenza in questi ultimi. Pur trattandosi di ceppi di origine ambientale, sono state isolate specie patogene opportuniste come *Neosartorya hiratsukae* (in precedenza denominato *Aspergillus hiratsukae*), responsabile di rinosinusi allergiche, peritoniti, dermatiti ed aspergillosi cerebrale (6).

I risultati di questo studio, quelli da noi descritti precedentemente (1st European Congress on Tattoo and Pigment Research. Abstract 43) e quelli riportati da altri autori (1, 8), supportati anche dal recente comunicato della Food and Drug Administration sul ritiro dal mercato di inchiostri e kit per tatuaggi contaminati da patogeni opportunisti (<http://www.fda.gov/Safety/Recalls/ucm404787.htm>), lasciano ipotizzare che le tecniche di sterilizzazione degli inchiostri attualmente in uso non siano idonee per questo tipo di substrato. La Risoluzione Europea (3) raccomanda che gli inchiostri siano sterilizzati prima della loro commercializzazione; infatti, come per i prodotti farmaceutici e i dispositivi medici, la sterilizzazione è un processo necessario per rimuovere i microrganismi e minimizzare i rischi per la salute.

Prima dell'immissione in commercio, gli inchiostri per tatuaggi ricevono, già confezionati, un trattamento di sterilizzazione per irraggiamento con raggi beta o gamma, tecnologie utilizzate anche per la conservazione di alimenti e per la sterilizzazione di dispositivi medici (7). Tale processo si realizza mediante esposizione a radiazioni ionizzanti che deteriorano la struttura delle proteine e degli acidi nucleici inattivando i microrganismi, senza alterare le proprietà fisico-chimiche dei prodotti. I due tipi di radiazione utilizzati differiscono per la capacità di penetrazione e per l'intensità della dose: limitata la prima ed elevata la seconda nel caso dei raggi beta, viceversa per i raggi gamma.

Negli anni più recenti la sterilizzazione mediante irraggiamento con raggi beta è stata ampiamente utilizzata: una dose minima di 25 kGy viene applicata per sterilizzare dispositivi medici, farmaci, tessuti biologici; la dose applicata dipende tuttavia dalle caratteristiche del prodotto e dal suo carico microbico e, secondo l'Organizzazione Mondiale

della Sanità, è responsabilità del produttore individuare la dose di sterilizzazione (9-11).

Non è tuttavia possibile garantire in senso assoluto la sterilità di tutti i prodotti all'interno di una confezione (26). In accordo con la Farmacopea (20) viene definito il SAL (Sterility Assurance Level) ovvero il livello di sicurezza richiesto per un processo di sterilizzazione. Per esempio SAL=10⁻⁶ significa che, anche applicando un metodo normalmente considerato efficiente, non si può escludere la possibilità teorica che rimanga vivo un organismo su un milione di trattamenti effettuati. Il processo deve dunque essere concepito in modo tale da eliminare il valore della popolazione microbica iniziale (misurato o stimato), moltiplicato per il fattore di sicurezza corrispondente al livello del SAL.

Il ritrovamento di microrganismi negli inchiostri, sia quelli integri, sia quelli aperti, rileva criticità nelle fasi di lavorazione e di sterilizzazione di questi prodotti, nella tenuta dei contenitori oltre che nelle pratiche igieniche utilizzate negli studi dei tatuatori. Emerge a livello europeo la necessità di rendere cogenti, attraverso l'elaborazione di apposite normative, le raccomandazioni già contenute nella ResAP(2008)1 (3) ai fini di regolamentare la produzione e la sterilizzazione degli inchiostri e le pratiche di tatuaggio nell'ottica di salvaguardare la salute umana.

La normativa dovrebbe inoltre indirizzare i produttori all'utilizzo di sistemi di chiusura più efficienti, all'adozione di date di scadenza più stringenti e soprattutto all'utilizzo di confezioni monouso.

Bibliografia

1. Charnock C. Tattooing dyes and pigments contaminated with bacteria. Tidsskr Nor Laegeforen 2004; 124: 933-5.
2. Conaglen PD, Laurenson IF, Sergeant A, et al. Systematic review of tattoo-associated skin infection with rapidly growing mycobacteria and public health investigation of a cluster in Scotland, 2010. Eurosurveillance 2013; 18: 20553.
3. Council of Europe, Committee of Ministers. 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). Strasbourg, 2008.
4. Engel E, Vasold R, Santarelli F, et al. Tattooing of skin results in transportation and light-induced decomposition of tattoo pigments - a first quantification *in vivo* using a mouse model. Exp Dermatol 2009; 19: 54-60.
5. Froggatt JW, Johnston JL, Galetto DW, Archer GL. Antimicrobial resistance in nosocomial isolates of *Staphylococcus haemolyticus*. Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 460-6.
6. Guarro J, Kallas EG, Godoy P, et al. Cerebral aspergillosis caused by *Neosartorya hiratsukae*, Brazil. Emerg Infect Dis 2002; 8: 989-91.
7. Hammad AA. Microbiological aspects of radiation sterilization. In: IAEA, ed. Trends in radiation sterilization of health care products. Vien: International Atomic Energy Agency; 2008. p 119.
8. Høgsberg T, Saunte DM, Frimodt-Møller N, Serup J. Microbial status and product labelling of 58 original tattoo inks. J Eur Acad Dermatol Venereol 2013; 27: 73-80.
9. ISO 11137-1:2006/Amd1:2013. Sterilization of health care products - Radiation - Part 1: Requirements for development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices. Geneva, Switzerland.
10. ISO 11137-2: 2013. Sterilization of health care products - Radiation - Part 2: Establishing the sterilization dose. Geneva, Switzerland.
11. ISO 11137-3:2006. Sterilization of health care products - Radiation - Part 3: Guidance on dosimetric aspects. Geneva, Switzerland.
12. Italia. Decreto legislativo n. 206 del 6 Settembre 2005. Codice del Consumo.

13. Kennedy BS. Outbreak of *Mycobacterium chelonae* infection associated with tattoo ink. *New Engl J Med* 2012; 367: 1020-4.
14. Klitscher D, Blum J, Kreitner KF, et al. [MRT induced burns in tattooed patients. Case report of a traumatic surgery patient]. *Unfallchirurg* 2005; 108: 410-4. [Article in German].
15. Kluger N, Muller C, Gral N. Atypical mycobacteria infection following tattooing: review of an outbreak in 8 patients in a French tattoo parlor. *Arch Dermatol* 2008; 144: 941-2.
16. Kluger N, Terru D, Godreuil S. Bacteriological and fungal survey of commercial tattoo inks used in daily practice in a tattoo parlour. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 25: 1230-1.
17. Lai KK. Enterobacter sakazakii infections among neonates, infants, children, and adults: case reports and a review of the literature. *Medicine* 2001; 80: 113-22.
18. LeBlanc PM, Hollinger KA, Klontz KC. Tattoo ink-related infections - awareness, diagnosis, reporting, and prevention. *New Engl J Med* 2012; 367: 985-7.
19. Mavromatis K, Sikorski J, Lapidus A et al. Complete genome sequence of *Alicyclobacillus acidocaldarius* type strain (104-IAT). *Stand Genomic Sci* 2010; 2: 9-18.
20. Ministero del lavoro, della salute e delle Politiche Sociali, Commissione permanente per la revisione e la pubblicazione della farmacopea ufficiale. *Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana. XII Edizione*. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato, 2008.
21. Ministero della Sanità, Italia. Circolare n. 2.9/156 del 5 febbraio 1998. Linee guida del Ministero della Sanità per l'esecuzione di procedure di tatuaggio e piercing in condizioni di sicurezza.
22. Nolan KA, Kling M, Birge M, et al. Melanoma arising in a tattoo: case report and review of the literature. *Cutis* 2013; 92: 227-30.
23. Papameletiou D, Zenié A, Schwela D, Bäumlér W. Risks and health effects from tattoos, body piercing and related practices. Final draft. *Ispra: European Commission, Directorate General JRC Joint Research Centre*, 2013.
24. Parlamento Europeo, Consiglio dell'Unione Europea: Regolamento (CE) n. 1272/2008 del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, l'etichettatura e l'imballaggio delle sostanze chimiche e delle miscele. *Gazzetta ufficiale dell'Unione Europea* del 31 dicembre 2008, L 353/1.
25. Parlamento Europeo, Consiglio dell'Unione Europea: Regolamento (CE) n. 1223/2009 del 30 novembre 2009 sui prodotti cosmetici. *Gazzetta ufficiale dell'Unione Europea* del 22 dicembre 2009, L 342/59.
26. Pfeiffer M. Validierung mikrobiologischer Testverfahren. *Ind J Pharmaceutic Sci* 1996; 58: 1030-6.
27. Rabasseda X. A report from the 22nd Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology (October 2-6, 2013 - Istanbul, Turkey). *Drugs Today* 2013; 49: 667-77.
28. Regione Liguria. DGR n. 831 del 19 giugno 2009. Modifiche e integrazioni alla direttiva vincolante Requisiti igienico-sanitari necessari alle attività di tatuaggio e piercing in ambito regionale.
29. Romanovskaia VA, Rokitko PV, Malashenko IR. [Unique properties of highly radioresistant bacteria]. *Mikrobiolohichnyi zhurnal* 2000; 62: 40-63. [Article in Russian].
30. Ryan MP, Adle y CC. *Sphingomonas paucimobilis*: a persistent Gram-negative nosocomial infectious organism. *J Hosp Infect* 2010; 75: 153-7.
31. Sergeant A, Conaglen P, Laurenson IF, et al. *Mycobacterium chelonae* infection: a complication of tattooing. *Clin Exp Dermatol* 2013; 38: 140-2.
32. Setlow P. Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *J Appl Microbiol* 2006; 101: 514-25.
33. Telenti A, Marchesi F, Balz M, et al. Rapid Identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 175-8.
34. Vancov T, Keen B. Amplification of soil fungal community DNA using the ITS86F and ITS4 primers. *FEMS Microbiol Lett* 2009; 296: 91-6.
35. White T, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. *New York: Academic Press*, 1990.
36. Zavilgelsky GB, Abilev SK, Sukhodolets VV, Ahmad SI. Isolation and analysis of UV and radio-resistant bacteria from Chernobyl. *J Photochem Photobiol B: Biol* 1998; 43: 152-7.