

Lara Balbiani

Assorbimento transcutaneo dei tossici industriali

Relazione presentata al “meeting interno” della Scuola di Specializzazione in Medicina del Lavoro dell’Università degli Studi di Brescia del 18/04/02

1. Introduzione

L’esposizione a xenobiotici nell’ambiente di lavoro può avvenire per inalazione, ingestione, contatto cutaneo o per combinazione di queste diverse vie. Per lungo tempo i tossicologi industriali hanno prevalentemente focalizzato la loro attenzione sull’esposizione inalatoria e hanno sviluppato vari metodi di misurazione per i livelli di esposizione attraverso tale via. L’esposizione attraverso la via cutanea, invece, è stata meno studiata.

La facilità con la quale la cute può venire a contatto con inquinanti chimici, rende l’esposizione cutanea un evento assai comune per un gran numero di lavoratori occupati in diversi settori produttivi. Questa situazione, frequentemente, può essere causa di un assorbimento transcutaneo di sostanze tossiche, cioè del passaggio di sostanze chimiche dalla superficie esterna della cute alla circolazione sistemica.

In pratica le misurazioni di contaminazione e assorbimento cutaneo vengono generalmente impiegate per prevedere gli eventuali effetti tossici sistemici attribuibili all’esposizione attraverso tale via; meno frequentemente vengono invece impiegate per quantificare (e quindi eventualmente ridurre) l’assorbimento transcutaneo. Esse sono quindi soprattutto uno strumento di previsione piuttosto che di prevenzione.

Le categorie di sostanze per le quali esiste un maggior rischio per esposizione cutanea sono risultate essere i pesticidi in genere (23), in particolare gli insetticidi organofosforici (48), le ammine aromatiche; i solventi (24, 27) e gli idrocarburi policiclici aromatici (10).

I settori lavorativi più interessati sono: agricoltura, produzione ed utilizzo di vernici (6, 7) (verosimilmente per l’uso di solventi), parrucchieri e industria della gomma.

Numerose associazioni nazionali e internazionali si sono occupate, soprattutto nell’ultimo decennio, di questo argomento (19).

Le più note sono (25):

ACGIH	(American Conference of Governmental Industrial Hygienists)
COLIPA	(Comitè de Liaison des Associations Européennes de l’Industrie de la Parfumerie, des Produits Cosmétiques et de Toilette)
DECOS	(Dutch Expert Committee on Occupational Standards)

DEN	(Dermal Exposure Network)
DFG	(Deutsche Forschungsgemeinschaft)
ECETOC	(European Center for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals)
FDA	(Food and Drug Administration)
NIOSH	(National Institute of Occupational Safety and Health)
OECD	(Organisation de Cooperation et de Developement Economiques)

Quando si parla di assorbimento transcutaneo dei tossici, la terminologia cui più spesso si ricorre è quella proposta nel 1993 dall’ECETOC in una monografia dedicata a questo argomento (17):

- **Dose cutanea:** quantità di sostanza chimica applicata per unità di area cutanea (cm²);
- **Esposizione cutanea:** quantità di una sostanza chimica a contatto con un’unità di superficie cutanea per un definito periodo di tempo;
- **Sostanza penetrante:** sostanza per la quale viene preso in considerazione l’assorbimento cutaneo;
- **Flusso cutaneo:** quantità della sostanza che passa attraverso l’unità di superficie nell’unità di tempo;
- **Dose cutanea totale:** dose cutanea x area esposta;
- **Esposizione cutanea totale:** dose cutanea x area esposta per un intervallo di tempo specifico.

Il crescente interesse per il ruolo esercitato dalla via cutanea nell’esposizione a tossici industriali ha permesso di raggiungere importanti acquisizioni sulla conoscenza del problema dell’assorbimento transcutaneo dei tossici industriali (29), infatti sono stati identificati:

- i composti chimici che presentano il maggior rischio di assorbimento transcutaneo e i processi produttivi più a rischio;
- i provvedimenti necessari, ad esempio: segnalazione delle sostanze chimiche che possono rappresentare un “rischio cutaneo”, disponibilità di dispositivi individuali di protezione adeguati e limiti di esposizione;
- gli obiettivi atti a ridurre il rischio, ad esempio: informazione/formazione dei lavoratori esposti al rischio di contaminazione cutanea, identificazione delle condizioni espositive più importanti, sviluppo di metodi per la valutazione del rischio di facile attuazione, standardizzazione dei metodi in vitro per lo studio dell’assorbimento transcutaneo dei tossici (4).

2. Assorbimento transcutaneo

Per comprendere il meccanismo con cui i tossici possono raggiungere il circolo sistemico penetrando attraverso la cute è utile una descrizione della sua struttura.

2.1. Struttura della cute

La cute ha complessivamente uno spessore di 0.5-5 mm.

Dal punto di vista anatomo-funzionale si distinguono (Fig. 1):

- 1) **Epidermide (0.03-1.5 mm)** costituita a sua volta da più strati (Fig. 2):
 - **strato corneo**: più strati di cellule anucleate (cheratinociti), omogenee, prive di attività metabolica, a contenuto cheratinico in matrice lipidica (E); la cheratina conferisce alle cellule di questo strato una spiccata resistenza agli enzimi proteolitici e ad acidi e alcali;
 - **strato lucido**: bilayer di cellule con nucleo atrofico e citoplasma denso, apprezzabili nell'epidermide palmo-plantare (D);
 - **strato granuloso**: una o più file di cellule piatte con citoplasma granuloso (C);
 - **strato malpighiano o spinoso**: 3-7 file di cellule di grandi dimensioni con nuclei piccoli e citoplasma eosinofilo (B);
 - **strato basale o germinativo**: monolayer di cellule cilindriche con citoplasma basofilo, è la regione di moltiplicazione cellulare (A).
- 2) **Derma (spessore 0.5-3 mm)** a sua volta suddiviso in:
 - **derma superficiale o papillare** costituito da fibre collagene, elastiche e reticolari dirette secondo l'asse della papilla;
 - **derma medio o reticolare** che presenta fasci connettivali e fibre elastiche più spesse dello strato superficiale.

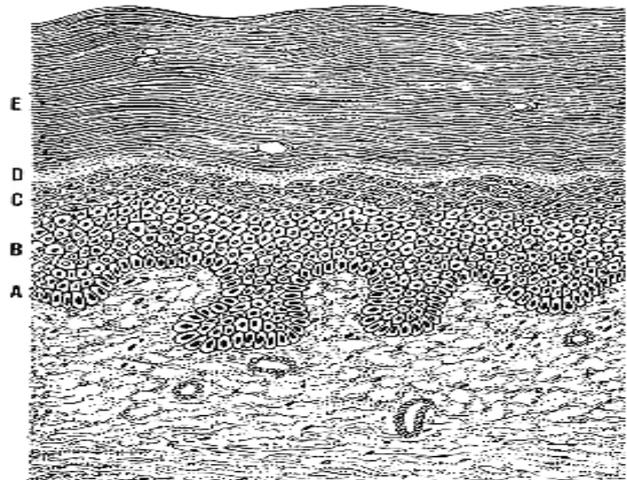


Figura 2. Strati dell'epidermide

Nel derma sono presenti vasi sanguigni e linfatici, molte terminazioni nervose e annessi epidermici (ghiandole sudoripare, ghiandole sebacee, bulbi piliferi).

- 3) **Ipoderma o sottocutaneo**: costituito da isole di tessuto adiposo, tra cui decorrono travee di tessuto connettivale che rappresentano un ancoraggio al connettivo del derma e dei tessuti sottostanti (aponeurosi e fasce superficiali).

2.2. Tappe dell'assorbimento cutaneo

L'assorbimento di uno xenobiotico attraverso la cute consta di diverse tappe e modalità così schematizzabili:

- **ripartizione** tra **veicolo** e **strato corneo**, ovvero lo xenobiotico penetra attraverso lo strato corneo in funzione della sua affinità per il substrato dal quale è eventualmente veicolato; maggiore è l'affinità per il veicolo, minore sarà la quota di sostanza penetrante realmente disponibile per l'assorbimento transcutaneo;
- **diffusione/ripartizione lungo percorsi alternativi** (follicoli piliferi); per "percorsi alternativi" s'intendono

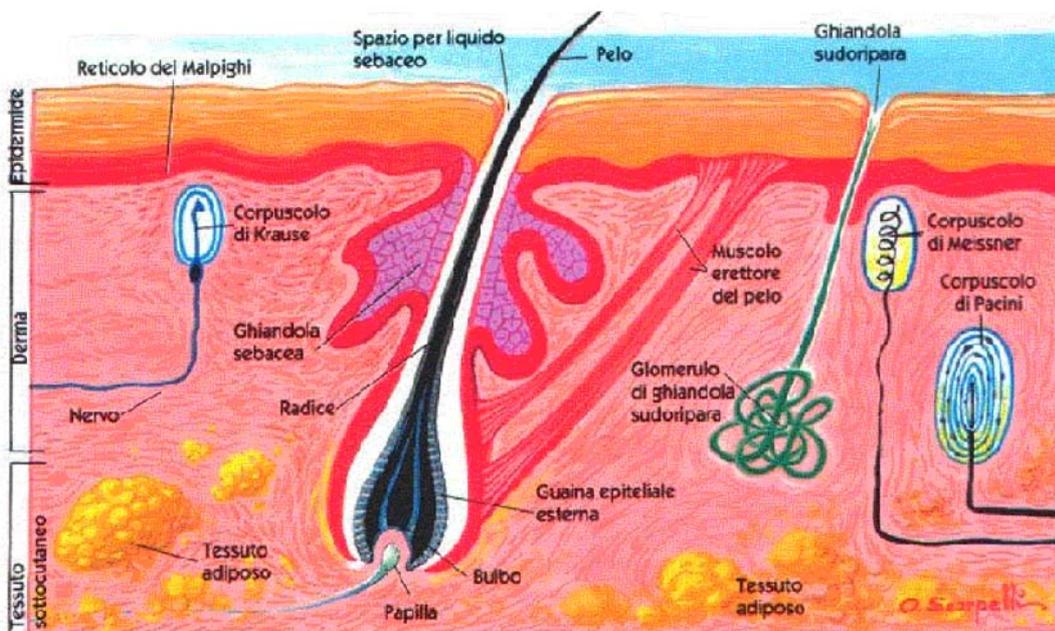


Figura 1. Struttura della cute

quelle vie di penetrazione che consentono di operare uno *shunt* verso gli strati sottostanti all'epidermide, permettendo quindi il passaggio diretto dall'epidermide al circolo periferico;

- **diffusione**, prevalentemente passiva, **attraverso lo strato corneo** che rappresenta la vera barriera alla penetrazione degli xenobiotici per via transcutanea;
- formazione di **legami/depositi** nello **strato corneo**;
- **ripartizione** tra strato corneo e **strati sottostanti** della epidermide;
- diffusione attraverso l'**epidermide** ed eventuali legami con le strutture dell'epidermide stessa;
- **metabolizzazione** del tossico da parte dell'epidermide;
- **diffusione** dei **metaboliti** attraverso l'epidermide;
- **legame** dei **metaboliti** ai costituenti dell'epidermide;
- **ripartizione** tra **epidermide** e **derma superficiale**;
- **diffusione** e legame attraverso il **derma**;
- ingresso nel **sistema capillare sanguigno**.

2.3. Fattori interferenti con l'assorbimento cutaneo

Il processo di assorbimento degli xenobiotici attraverso la cute (30) può essere condizionato da:

FATTORI CORRELATI ALL'ESPOSIZIONE

- **Caratteristiche chimico-fisiche del tossico** (peso molecolare, solubilità in acqua e nei lipidi, polarità, stato di ionizzazione) (20).
- **Durata dell'esposizione**: l'assorbimento cutaneo inizia fin dal primo contatto con il tossico, ma c'è una latenza da 30 minuti a qualche ora tra inizio del contatto con la cute e ingresso nel circolo sistemico.
- **Frequenza dell'esposizione**: è un fattore determinante l'entità dell'esposizione cutanea solo per esposizioni prolungate e di una certa entità; viceversa è trascurabile quando l'esposizione è di breve durata e di piccola entità.
- **Dose cutanea**: quantità di sostanza/soluzione applicata per cm² di cute. Nel caso di soluzioni il grado di affinità del tossico per il mezzo veicolante può influire sull'entità dell'assorbimento.
- **Coefficiente di ripartizione veicolo/strato corneo**: una maggior solubilità nello strato corneo e una minor solubilità nel mezzo veicolante favoriscono la penetrazione del tossico.

FATTORI "CUTANEI" (33)

- **Modificazioni del pH**: un veicolo troppo acido o troppo basico o l'utilizzo protratto di sostanze che modificano il pH cutaneo (ad esempio detergenti a pH alcalino) possono alterare l'integrità dello strato corneo (45).
- **Temperatura cutanea**: il processo di diffusione è dipendente dalla temperatura (dilatazione dei follicoli piliferi, vasodilatazione).
- **Idratazione dello strato corneo**: normalmente lo strato corneo contiene un 7%-20% di acqua, se immerso in acqua a 37°C può aumentare fino a 6 volte la propria idratazione. Un aumento dell'idratazione può influenzare l'assorbimento in relazione alle caratteristiche chimico-fisiche del tossico. Se lo xenobiotico è idrofilo un aumento dell'idratazione ne favorirà la penetrazione

cutanea, se invece il tossico è lipofilo la maggiore idratazione cutanea si opporrà al suo ingresso.

FATTORI INDIVIDUALI

- **Sesso**: differenze non rilevanti fra i due sessi. Differenti abitudini nella cura della cute possono influire sull'assorbimento.
- **Razza**: differenze non rilevanti.
- **Età**: nei neonati pre-termine l'assorbimento è maggiore che nei nati a termine. Nei soggetti sopra i 65 anni c'è una riduzione della penetrazione delle sostanze idrofiliche, anche se la disidratazione dello strato corneo favorisce la formazione di soluzioni di continuità nella cute.

ALTRI FATTORI

- **Metabolizzazione del tossico negli strati sottostanti lo strato corneo**: a livello cutaneo, e soprattutto nel derma, sono presenti una serie di enzimi, ad esempio aril-idrocarbon-idrossilasi (AHH), epossido-idratasi (EH) e glucoronil-S-transferasi (GST), che possono interagire con alcuni tossici e quindi interferire con la loro penetrazione transcutanea. In particolare l'AHH è un enzima citocromo-P-450 dipendente che gioca un ruolo importante nella conversione metabolica di alcuni composti in cancerogeni altamente reattivi (ad esempio, benzo(a)pirene). L'AHH è indotto dall'esposizione a pece di carbone (contenente IPA) e ne potenzia gli effetti cancerogeni; mentre ha effetto protettivo nei confronti di sostanze irritanti (ad esempio l'antralina). Anche l'EH e la GST sono indotte dall'esposizione ad idrocarburi policiclici aromatici e convertono i potenziali cancerogeni in metaboliti dotati di un maggior potere cancerogeno.

La complessità del meccanismo di assorbimento transcutaneo e le variabili in esso implicate, sono un aspetto che rende difficile la corretta valutazione del rischio cutaneo, ma non sono l'unico ostacolo in questo senso.

3. Valori limite di esposizione

Nel processo di valutazione del rischio cutaneo, un problema di particolare importanza di fronte al quale ci si trova è l'assenza di "valori limite di esposizione".

Nelle liste ufficiali dei valori limite di esposizione, in particolare ACGIH, i composti che possono essere assorbiti attraverso la cute vengono identificati con l'**annotazione SKIN** (sono le sostanze con un valore di LD₅₀ ≤ 1g/Kg di peso corporeo) (39).

L'intento è quello di **allertare** l'attenzione sul fatto che l'assorbimento cutaneo di tali sostanze può contribuire in maniera rilevante all'esposizione sistemica, a prescindere da eventuali effetti irritativi e corrosivi.

Tuttavia, non esiste un criterio accettato per l'assegnazione della **skin notation** (35). Spesso essa si basa sul confronto dell'**uptake** cutaneo con quello respiratorio allorché i livelli di esposizione sono uguali al TLV-TWA, per cui l'assegnazione della **skin notation** non è il risultato

dello studio dell'assorbimento transcutaneo dello xenobiotico in questione, ma l'estrapolazione da dati noti sull'assorbimento per altre vie, in particolare quella respiratoria.

Alcuni Autori propongono metodi di assegnazione che integrino i risultati degli studi su animali e su umani e, laddove non emergano informazioni sufficienti da tali studi, suggeriscono l'utilizzo di modelli farmacocinetici (PBPK) per il calcolo della quantità di sostanza chimica assorbita attraverso la cute e quindi l'identificazione degli xenobiotici cui va applicata la *skin notation* (13).

La SCOEL (Scientific Committee on Occupational Exposure Limits) dell'Unione Europea assegna il simbolo S quando il contributo dell'assorbimento cutaneo al *body burden* di una sostanza è "rilevante".

In Svezia il simbolo S viene assegnato quando la sostanza "può essere facilmente assorbita per via cutanea".

L'HSE (Health Safety Executive) dell'UK annota con SK i composti per i quali i dati disponibili o le previsioni suggeriscono un contributo dell'esposizione cutanea al *body burden* o la possibilità di un effetto sistemico.

La DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) nella lista dei MAK riporta la *skin notation* per quelle sostanze che vengono assorbite per via cutanea, quando l'assorbimento a livello degli arti superiori e a seguito di un'esposizione di otto ore risulta maggiore del 10% della quantità assorbita per via inalatoria a concentrazione atmosferica pari agli OEL (Occupational Exposure Limits). La DFG in questi casi indica la necessità di adottare specifiche misure di sicurezza e di effettuare il Monitoraggio Biologico (16).

In Paesi come Italia e Francia non esiste un sistema ufficiale di *skin notation*. Peraltro, in Italia, non esiste neppure una lista ufficiale di limiti di esposizione e generalmente si fa riferimento prevalentemente ai valori suggeriti dall'ACGIH.

Il sistema della *skin notation* trova il suo maggiore limite nel fatto che non fornisce indicazioni circa l'entità del rischio di assorbimento transcutaneo, limitandosi ad un generico richiamo alla prevenzione della contaminazione dermica e all'effettuazione, quando possibile, del monitoraggio biologico per la valutazione dell'esposizione (35). L'ampia variabilità e la frequente non concordanza tra i vari Paesi nell'attribuzione dell'annotazione generica *skin* a sostanze comprese nelle tabelle dei valori limite deriva dall'assenza di criteri standardizzati nell'assegnazione di tale annotazione.

L'obiettivo che, in questo contesto, i ricercatori si pongono è stato chiaramente sintetizzato da Sartorelli e coll. (2000) che affermano che: "potendo disporre di tecniche di misurazione dell'esposizione cutanea standardizzate sarebbe possibile sviluppare limiti di esposizione cutanea (DOEL = dermal occupational exposure limits), permettendo un approccio di tipo normativo nei confronti del risk assessment cutaneo".

A tutt'oggi in nessun Paese sono stati fissati DOEL, anche se in alcune nazioni è allo studio la possibilità di una loro introduzione (15).

4. Valutazione dell'esposizione cutanea

L'esposizione a xenobiotici attraverso la via cutanea può avvenire con modalità differenti:

- **Contatto diretto o immersione:** contatto tra la cute dell'operatore e una sostanza allo stato solido, liquido o aeriforme. Include l'effetto occlusione.
- **Deposizione/impatto di aerosol:** quando il tossico aerodisperso contamina la superficie cutanea scoperta dell'operatore.
- **Contatto con superfici inquinate:** è condizionato da pressione di contatto, affinità della sostanza per le varie aree cutanee, attività lavorativa coinvolta, condizioni igieniche.

Dal momento che le variabili implicate nel processo di assorbimento transcutaneo degli xenobiotici sono numerose, è evidente quanto sia complesso risalire alla quota del tossico realmente assorbita. Una corretta valutazione del rischio in tale contesto è limitata da alcuni fattori:

- l'esposizione dermica risulta difficilmente prevedibile per la non omogeneità delle aree cutanee esposte e per la variabilità della quota assorbita attraverso l'epidermide. La possibilità di effettuare misurazioni dell'inquinante è quindi indispensabile per individuare le fonti e i meccanismi di contaminazione (**caratterizzazione del rischio**);
- l'efficienza delle **strategie di controllo**, mirate ad eliminare o ridurre l'esposizione dermica, dovrebbe essere verificata **in condizioni di lavoro reali**. Non è possibile stabilire a priori se i DPI sono efficaci;
- in alcune attività lavorative, come l'agricoltura, il 50% dei tossici (fitofarmaci) può essere assorbita per via cutanea. La valutazione dell'esposizione in queste circostanze dovrebbe basarsi sull'**integrazione** dei risultati della valutazione dell'**esposizione dermica**, del **monitoraggio ambientale** e **biologico**;
- il monitoraggio biologico non consente di **discriminare** tra la **quota** di sostanza **assorbita per via cutanea** o per via inalatoria.

Il **metodo ideale** per la valutazione dell'esposizione cutanea a xenobiotici, dovrebbe:

- permettere la misura della quantità di tossico disponibile per la penetrazione cutanea;
- consentire una stima della contaminazione cutanea considerando durata dell'esposizione e tempo di campionamento (es. campionamento troppo lungo non valuta le variazioni di esposizione avvenute in periodi di tempo brevi);
- permettere campionamenti ripetuti a distanza di tempo;
- essere applicabile alle zone corporee considerate a rischio di assorbimento cutaneo;
- simulare i vari processi di contaminazione cutanea e di rimozione;
- possedere una elevata risoluzione analitica e un basso limite di rivelabilità.

Alla creazione di un metodo per la valutazione del rischio cutaneo che soddisfi tutte queste esigenze si oppongono **ostacoli** non facilmente superabili:

- la contaminazione non è in genere omogenea;
- l'entità della contaminazione può variare notevolmente durante l'attività lavorativa;
- la contaminazione può verificarsi anche per passaggio attraverso gli indumenti;
- la mancanza di tecniche validate dagli organismi scientifici.

I **modelli di risk assessment** proposti e più utilizzati per l'esposizione cutanea sono sostanzialmente di due tipi:

- studi **tossicocinetici** cutanei (21, 22, 34, 46, 47) e predittivi, come il metodo QSAR (quantitative structure-activity relationships) che correla le caratteristiche strutturali delle sostanze chimiche con la capacità penetrante delle stesse attraverso la cute (20);
- **route to route extrapolation** (ovvero, l'estrapolazione dei dati riguardanti l'assorbimento transcutaneo sulla base dei dati disponibili sull'assorbimento attraverso le altre vie di penetrazione, se non sono disponibili dati di tossicità cutanea adeguati).

Sartorelli (2000) riporta un modello proposto dal TNO olandese, detto "a gradini o tiers", nel quale si utilizzano metodiche per la valutazione del rischio via via più complesse per giungere ad una quantificazione della reale esposizione cutanea (32). Tale modello si configura così:

Tier 1: in mancanza di informazioni sulla quota dello xenobiotico che può essere assorbita per via cutanea, si parte dall'ipotesi peggiore, cioè che tutto il tossico presente nell'ambiente di lavoro si depositi e venga assorbito attraverso la cute e si calcola un limite di esposizione cutanea *health-based* accettabile (OEL_{dermat});

Tier 2: se per il limite calcolato nel tier 1 emergono dei rischi per la salute si rende necessaria una stima dell'assorbimento percutaneo che tenga conto delle proprietà chimico-fisiche delle sostanze e/o dei dati di assorbimento orale;

Tier 3: se anche nel tier 2 non si riesce a stabilire un "margine di sicurezza" per l'esposizione cutanea, si ricorre all'utilizzo degli studi in vivo e in vitro per definire ulteriormente e quantificare l'assorbimento cutaneo. A tali procedure si dovrebbe ricorrere quando i gradini precedenti abbiano evidenziato un'esposizione "non sicura".

Schneider e coll. (40, 41) propongono invece un modello multicompartimentale per la valutazione dell'assorbimento transcutaneo dei tossici. Tale modello considera tutti i possibili "tragitti" che la sostanza chimica può percorrere attraverso 6 compartimenti (fonte di esposizione, aria, superficie contaminata, superficie esterna degli indumenti, superficie interna degli indumenti, cute), 2 barriere (comportamento individuale, strato corneo della cute) e 8 sistemi di trasporto (emissione, deposizione, risospensione/evaporazione, trasferimento, rimozione, redistribuzione, decontaminazione, penetrazione/permeazione).

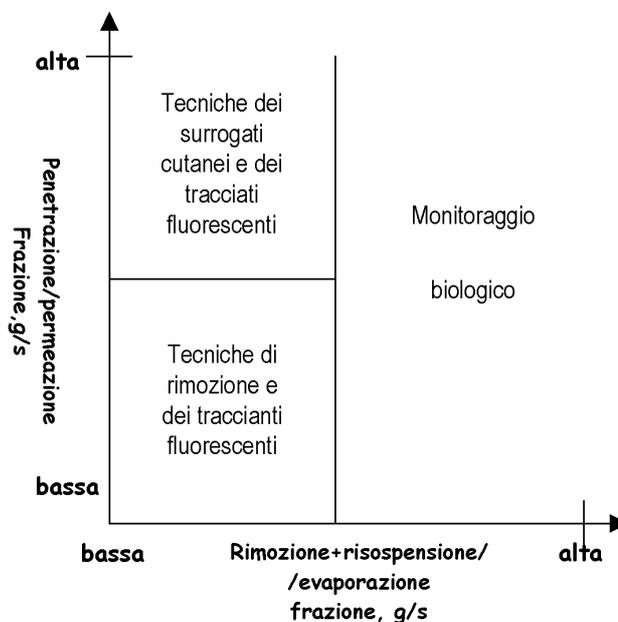


Figura 2. Modelli di campionamento

L'Autore considera che il trasporto della sostanza chimica attraverso la cute possa essere sostanzialmente suddiviso in 2 direzioni: penetrazione/permeazione (vie di assorbimento) e rimozione + risospensione/ evaporazione (vie di eliminazione). Separando la quota relativa a ciascun meccanismo di trasporto vengono designati 4 gruppi con i relativi metodi per la valutazione dell'esposizione schematizzati nella fig. 3.

5. Metodi per la valutazione del rischio cutaneo

I principali problemi relativi alle metodiche in vivo e in vitro e agli altri metodi per la valutazione dell'assorbimento cutaneo sono la non confrontabilità dei risultati ottenuti con i diversi approcci e l'assenza di standardizzazione dei metodi dedicati alla valutazione del rischio cutaneo.

5.1. Studi in vivo e in vitro

5.1.1. studi in vivo

Nella tabella I sono riportati sinteticamente i vantaggi e gli svantaggi degli studi in vivo condotti su animali (17).

Gli studi in vivo possono essere condotti sia sull'animale da laboratorio che sull'uomo. Nella tabella II sono riassunte le informazioni fornite dagli studi sull'animale rispetto a quelle fornite dalla sperimentazione sull'uomo.

5.1.2. Studi in vitro

Vengono effettuati con la tecnica delle **celle a diffusione**. Le celle sono in materiale non reattivo (vetro, teflon,...); il campione cutaneo o la membrana sintetica vengono collocati "a sandwich" tra due celle:

"fase donatrice" che contiene la sostanza da testare in veicolo solido, liquido o gassoso;

Tabella I. Vantaggi/svantaggi degli studi in vivo su animali

VANTAGGI	SVANTAGGI
Test allestibili, maneggevoli e sostenibili	Non sempre offrono un'accurata indicazione della permeabilità cutanea umana
Utilizzo senza restrizioni di radiomarcatori	Utilizzano animali vivi
La cavia è fisiologicamente e metabolicamente intatta	L'area di posizionamento del tossico deve essere protetta dallo strigliamento dell'animale
Le stesse cavie possono essere utilizzate per altri studi sulla medesima sostanza	La valutazione della fase precoce dell'assorbimento cutaneo è complessa
Qualunque tipo di sostanza può essere testata	
Anche sostanze la cui tossicità non è nota possono essere testate	
Le tecniche sono validate e consentite dalle Autorità preposte al controllo	

Tabella II. Confronto delle informazioni fornite dalle metodiche in vivo condotte sull'animale e sull'uomo

STUDI SU ANIMALI	STUDI SULL'UOMO
Concentrazione del composto assorbito nel sangue	Quantità assorbita nel sangue del composto e dei suoi metaboliti
Quantità del composto escreto con urine e feci	Quantità del composto escreta in urine, feci e aria espirata
Quantità del composto "lavato" dalla superficie cutanea	Quantità del composto lavata dall'area cutanea esposta
Quantità del composto nella garza protettiva	Quantità del composto sulla protezione applicata dopo il lavaggio della cute
Quantità del composto non removibile dalla superficie cutanea	Quantità del composto rimosso con lo "stripping" dei cerotti
Quantità del composto rimasto nella carcassa	Eventuali markers biochimici urinari ed ematici

“fase ricevente” alla quale arriva la quantità di sostanza in grado di penetrare attraverso la cute per diffusione. Il mezzo nella cella ricevente è sempre liquido (soluzione salina + solvente).

Sono proposti come metodo per testare i prodotti cosmetici, ad esempio le tinte per capelli (44).

I test in vitro possono essere allestiti con **cute umana o animale**: la cute umana viene ottenuta con prelievo chirurgico o da cadavere, mentre quella animale è ottenuta da animali di laboratorio (ratti, scimmie,...). L'epidermide viene separata dal derma, dallo strato lipidico, dai tessuti muscolari sottostanti e dermatomizzata fino ad ottenere un campione con uno spessore di 500-350 µm. Può essere utilizzata sia cute glabra che con peli senza che vi siano interferenze col passaggio della sostanza in esame. L'integrità cutanea, prima di procedere all'esperimento, viene

valutata testando il passaggio percutaneo dell'acqua triziata. La cute umana non è spesso disponibile per gli studi e l'utilizzo di cute animale può condurre ad errori di sovrastima dell'assorbimento transcutaneo di un tossico. Per questo si utilizzano anche **membrane sintetiche** in polidimetilsiloxano (Silastic), acetato-cellulosa, poliuretano, alluminio silicato. Recentemente si ricorre anche a cute “sintetizzata” in laboratorio dalle colture cellulari.

Una proposta di standardizzazione dei test in vitro è stata elaborata da Sartorelli e coll. per lo studio dell'assorbimento cutaneo dei fitofarmaci (36) e i modelli in vitro sono stati applicati anche per lo studio dell'assorbimento transcutaneo in soggetti esposti ad IPA (37, 38).

Anche gli studi in vitro presentano vantaggi e svantaggi che devono essere tenuti in considerazione quando si ricorre a tali metodi (17) e che sono riassunti nella tabella III.

Tabella III. Vantaggi e svantaggi degli studi in vitro

VANTAGGI	SVANTAGGI
Le condizioni di esposizione sono più controllabili	La soluzione ricevente può influire sul passaggio del tossico
Sono semplici da allestire	I metodi non sono standardizzati
Utilizzando cute umana excisa è possibile ricorrere a radiomarcatori e testare sostanze altamente tossiche	I vasi prossimi all'epidermide possono interferire con la diffusione
È possibile valutare la variabilità interindividuale utilizzando cute proveniente da più donatori nello stesso esperimento	La cute excisa si conserva per tempi brevi con possibili alterazioni del metabolismo
È possibile un confronto quantitativo tra specie	Non vengono riprodotte in toto le condizioni in vivo
Diversi fattori possono essere valutati (effetti di temperatura, differenti veicoli, pretrattamento)	La penetrazione attraverso i follicoli piliferi può non essere uguale a quella in vivo
Viene valutata direttamente la penetrazione transcutanea senza interferenza di tessuti, organi o fluidi	La disponibilità di tessuti umani è limitata

Altre tecniche proposte per la valutazione del rischio cutaneo sono (3, 42):

- tecniche dei surrogati cutanei;
- tecniche di rimozione;
- tecniche dei traccianti fluorescenti;
- metodi indiretti.

5.2. Teniche dei surrogati cutanei

Presupposto di queste tecniche è che il substrato di raccolta sia in grado di catturare e trattenere le sostanze chimiche in modo analogo alla pelle. Includono l'utilizzo di *pads* e quello di indumenti.

Misurano la quantità di sostanza che si depositerebbe sulla cute, non la sua concentrazione (43).

5.2.1. Pads

Coprono una piccola parte (3-8%) dell'area di cute da campionare e hanno dimensioni medie di 100 cm²; in ge-

neri sono sostenuti da supporti quadrati (in plastica, fibra di vetro o alluminio, con foro circolare di diametro di circa 7.5 cm = superficie esposta) per evitare il contatto diretto con la cute e il sudore.

Generalmente vengono utilizzati *pads* in α -cellulosa (per la stima dell'esposizione a tossici liquidi) e in garza chirurgica (per polveri secche e materiali granulari o quando è necessaria una notevole forza meccanica). Questi ultimi trattengono fino al 90% della polvere applicata, anche se vengono capovolti o sottoposti a scuotimento. In alcuni casi i *pads* vengono impregnati di liquidi densi (in genere solventi) per aumentarne la capacità ritentiva.

Per quanto riguarda la localizzazione dei *pads*, si possono individuare 4 linee operative:

- Misura dell'**esposizione dermica "potenziale"** (quantità di xenobiotico che si deposita su tutte le aree corporee del soggetto, e che potrebbe attraversare gli indumenti protettivi e depositarsi sulla cute sottostante) \Rightarrow *pads* al di sopra degli indumenti;
- Misura della **dose dermica** (quantità dello xenobiotico che effettivamente si deposita sulla cute e quindi è realmente assorbibile) \Rightarrow *pads* a contatto con la pelle al di sotto degli indumenti;
- Misura della **dose cutanea** e dell'**esposizione dermica "potenziale"** \Rightarrow *pads* sia a contatto con la pelle sia al di sopra degli indumenti;
- Misura del **grado di protezione assicurato dagli indumenti** (*Chemicals Protecting Clothing, CPC*) \Rightarrow 1 strato di *pads* a contatto con la pelle e 2 strati rispettivamente sopra e sotto gli indumenti.

La tabella IV mostra un esempio di collocazione dei *pads* e l'area cutanea di cui sono rappresentativi.

Tabella IV. Localizzazione dei pads usati per valutare l'esposizione di varie aree cutanee (14)

Regioni cutanee	Localizzazione
Testa	Pads sulle spalle
Collo posteriore	Pads sul dorso
Collo anteriore	Pads sul petto
Schiena	Pads sul dorso
Petto e addome	Pads sul petto
Braccio	Pads su spalle e avambracci
Avambraccio	Pads sugli avambracci
Coscia	Pads sulla coscia
Gamba	Pads sulla caviglia

L'EPA (18) propone 2 procedure di collocazione dei *pads* e consiglia almeno 10 *pads* se l'operatore non indossa CPC (*Chemicals Protecting Clothing*) o almeno 6 *pads* se indossa CPC (si eliminano i *pads* sulle gambe).

5.2.2. Indumenti

Vengono fatti indossare agli addetti ad inizio turno e rimossi, in genere, a fine turno. Coprono intere regioni

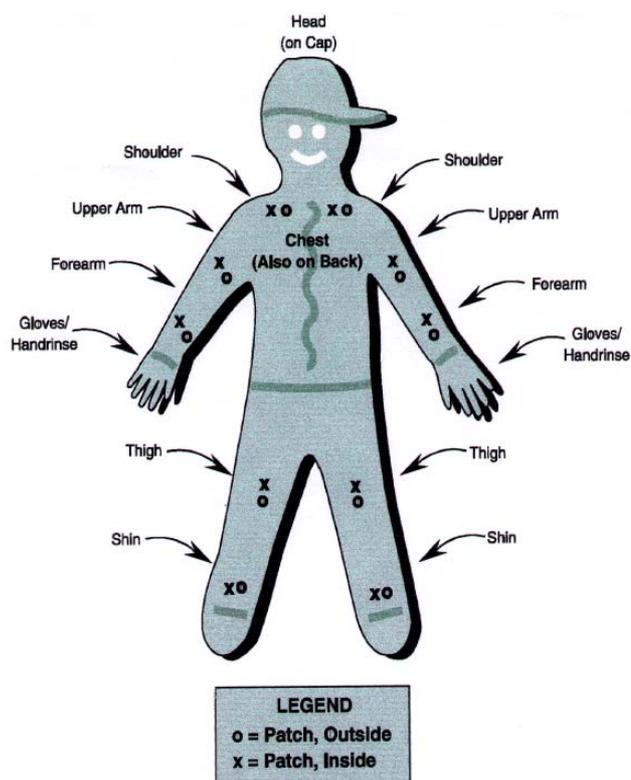


Figura 4. Collocazione dei pads proposta dall'Environmental Protection Agency (18)

(guanti, magliette, calzini, ecc...) o tutto il corpo (*Whole Body Garment Samplers*). I livelli di contaminanti raccolti sugli indumenti si riferiscono all'intera area considerata perciò non serve estrapolazione come per i *pads*. In genere sono costituiti di vari materiali: guanti e calzini in cotone o nylon, cappelli in carta, pantaloni in blue jeans, tute in tyvek.

È necessario evitare la saturazione dell'indumento stesso durante il campionamento, a tale scopo si può ricorrere ad un doppio strato di indumenti nelle zone con alto potenziale di contaminazione.

Per la valutazione della contaminazione le tute possono essere tagliate in varie parti da analizzare in toto oppure parzialmente. Se la contaminazione del volto non viene valutata in altro modo (*pads* o cappello) il dato ottenuto per la tuta va incrementato del 10%. L'analisi effettuata sugli indumenti può essere di tipo quantitativo oppure qualitativo, quando s'intenda verificare la possibilità e la localizzazione della contaminazione cutanea.

La tabella V offre un confronto tra le problematiche correlate all'utilizzo dei *pads* e degli indumenti nella valutazione dell'esposizione dermica (3).

5.3. tecniche di rimozione

Tali tecniche misurano la quota di sostanza che può essere asportata al momento del campionamento e difficilmente danno una rappresentazione dell'esposizione cutanea totale durante il lavoro (8). È preferibile l'esecuzione del campionamento a inizio e fine turno lavorativo. La rimozione può avvenire con due diverse modalità: lavaggio (*wash test*) e strofinamento (*wipe* e *smear test*).

Tabella V. Problematiche nella valutazione dell'esposizione dermica impiegando pads e indumenti (3)

Tipo di problematica	PADS	Indumenti
Sovra/sottostima dell'esposizione a causa di disomogeneità di distribuzione del tossico sulla cute	Si	No
Costo elevato	No	Si
Frequente sostituzione per rottura	No	Si
Difficoltà d'indossare (ingombro) e disagio termico	No	Si
Uso di notevoli volumi di solventi per l'analisi	No	Si
Impiego di materiali e metodi non standardizzati e non ben identificati in letteratura (fibra, spessore, peso)	No	Si
Intercettazione di una quota di composto in grado di contaminare la cute*	Trascurabile	Si
Sovrastima dell'esposizione a causa delle proprietà assorbenti	(non valutabili)	SiSi
Presenza di sostanze interferenti con l'analisi		

* ciò rende difficile l'effettuazione di correlazioni tra dati biologici e cutanei

5.3.1. Wash test

Viene generalmente impiegato solo per le mani ed è consigliabile per sostanze che sono scarsamente assorbite per via cutanea, mentre per le altre è consigliato solo se associato ad altre procedure di campionamento (indumenti, monitoraggio biologico). Presenta inoltre difficoltà di valutazione e l'efficienza di rimozione è tanto più bassa quanto più tempo passa tra esposizione e campionamento (necessità di *Quality Assurance*). Il test andrebbe effettuato immediatamente dopo la contaminazione. Il contaminante può inoltre legarsi alla cute o essere assorbito prima del lavaggio. A tutto ciò si aggiunge il problema che il solvente utilizzato per il lavaggio può alterare l'integrità cutanea favorendo il passaggio del tossico.

Lo *wash test* può essere allestito con diverse tecniche:

- **Bag method:** si fissa una sacca di polietilene contenente 200 ml di solvente (etanolo, toluene, diclorometano) al polso dell'operatore e si fa agitare vigorosamente. L'operazione viene ripetuta 1-2 volte.
- **Pouring method:** il solvente (250 ml) viene versato direttamente su una mano per volta o su entrambe. Il liquido viene raccolto in un apposito contenitore. L'operatore effettua movimenti di sfregamento con o senza spazzolina in teflon.

Alcuni autori hanno proposto lo *wash test* in alternativa all'utilizzo dei guanti in cotone per la valutazione della contaminazione cutanea ma, come si può notare nella tabella VI, lo *wash test* non presenta vantaggi rilevanti rispetto ai guanti in cotone.

5.3.2. Wipe e smear test

Lo *wipe test* consistette nello sfregamento della superficie cutanea (1-15 volte) con filtri, garze e altri materiali

Tabella VI. Problematiche nella valutazione dell'esposizione della cute delle mani mediante impiego di lavaggi e guanti di cotone (3)

Tipo di problematica	Wash test	Guanti di cotone
Sovrastima dell'esposizione a causa di maggiore ritenzione rispetto alla cute	No	Si
Sottostima dell'esposizione a causa di assorbimento o ritenzione cutanea	Si	No
Frequente sostituzione per rottura	–	Si
Ingombro e discomfort	–	Si
Maggiore penetrazione a causa di occlusione	–	Si
Degradazione residui*	Si	No
Intercettazione di una quota di composto che altrimenti andrebbe a contaminare la cute**	No	Si
Rallentamento del lavoro dell'operatore	Si	No
Presenza di sostanze interferenti con l'analisi	No	Si
Maggiore penetrazione della sostanza per distruzione del film idrolipidico (solventi forti)	Si	No
Assenza di standard	No	Si

* i solventi impiegati per il lavaggio delle mani (soluzioni acquose o alcoliche) possono idrolizzare il principio attivo;

** ciò rende difficile l'effettuazione di correlazioni tra i dati biologici e cutanei

commercialmente disponibili già umidificati o che possono essere eventualmente umidificati con solvente (es. etanolo). Lo *smear test* consiste invece nella rimozione, con cerotto a strappo, dello strato superficiale della cute contaminata (31).

Il campionamento è estemporaneo e viene in genere effettuato alla fine del turno di lavoro.

Presentano alcune difficoltà per l'esecuzione e la valutazione:

- i risultati variano notevolmente in relazione alle modalità di effettuazione del prelievo;
- difficoltà nella misura della superficie cutanea monitorata, si ricorre per questo al campionamento di un'area definita (es. palmo della mano);
- sarebbero meno efficace dello *wash test* nel rimuovere la sostanza depositatasi sulla cute;
- non viene presa in considerazione l'eventuale quota di tossico assorbita prima dello *wipe* o *smear test*;
- La validità della tecnica del *wipe test* è condizionata dall'accuratezza e precisione con cui viene frizionata la cute.

Sarebbero test da utilizzare solo in fase preliminare quando non sia richiesta una stima puntuale dell'esposizione.

Nella tabella VII sono riportati alcuni esempi di protocollo per l'applicazione pratica delle tecniche di rimozione.

Tabella VII. Campionamento dei composti specifici (30)

SOSTANZA	METODO	FONTE
Anilina	Smear test umidificato con acqua deionizzata	OSHA 1991
Arsenico	Smear test umidificato con acqua distillata	OSHA 1990
Cromo	Smear test umidificato con acqua distillata	OSHA 1990
Cadmio	Wipe test con filtri MCE	Tartre 1992
Carbarile	Wipe test con filtro in fibre di vetro	OSHA 1988
Clordano	Smear test secco	NIOSH 1984
Clorpyrifos	Wipe test con filtro in fibre di vetro	OSHA 1988
Piombo	Wipe test con filtro Whatman	NIOSH 1976
Lindano	Wipe test con filtro in fibre di vetro umidificato con trimetil-pentano	OSHA 1978
Malathion	Wipe test con filtro in fibre di vetro	OSHA 1988
Metalli (mix 30)	Wipe test con filtro MCE secco o umidificato con acqua demineralizzata	Eller 1992
Metil-parathion	Wipe test con filtro in fibre di vetro	OSHA 1988
α-naftilamina	Wipe test con filtro Whatman saturato con metanolo	OSHA 1988
PCB	Smear test saturato con metanolo	Lees, Corn, Breyse, 1997
Pentaclorofenolo	Wipe test con filtro in fibre di vetro	OSHA 1988
Atrazina	Wipe test con filtro Whatman secco o trattato con solvente miscelato al pesticida	NIOSH 1979
Baygon	Wipe test con filtro in fibre di vetro umidificato con isopropanololo	OSHA 1988
Benzidina	Wipe test con filtro in fibre di vetro	OSHA 1988

5.4. Tecnica dei traccianti fluorescenti

È una tecnica che misura la deposizione sulla cute di materiali fluorescenti tramite video-immagine. Il tracciante fluorescente viene aggiunto al formulato (es. fitofarmaco) in fase d'impiego. La tecnica prevede di ottenere immagini pre- e post-esposizione della distribuzione del tracciante e può fornire (11):

- **Informazioni quantitative:** mediante l'uso di curve standard, una volta stabilito il rapporto di concentrazione tra il principio attivo e il tracciante, fornisce informazioni sul livello di contaminazione cutanea;
- **Informazioni qualitative** (questo è il maggior impiego);
- **Informazioni per l'identificazione delle aree** cutanee più idonee per l'applicazione dei pads.

Ha però limitazioni tecniche che non vanno sottovalutate:

- è richiesta l'addizione al formulato di sostanze estranee (soprattutto nel caso dei fitofarmaci il tracciante non è fitotossico, ma può interferire coi processi di sintesi e formulazione dell'antiparassitario);
- il trasferimento alla cute del tracciante e del principio attivo deve essere dimostrato mediante prove condotte sul campo;
- necessita di opportuna validazione, in particolare sull'eventualità di una degradazione del tracciante (es. per irraggiamento solare);
- se gli operatori indossano DPI possono essere necessari ulteriori studi per valutare la penetrazione del tracciante e della sostanza chimica in studio, attraverso il tessuto;
- costo elevato.

5.5. Metodi indiretti

La valutazione della contaminazione delle superfici di lavoro offre una misurazione indiretta dell'esposizione cutanea e può essere effettuata con due tipi di campionamento.

5.5.1. Campionamento di superfici

Il campionamento di superfici viene effettuato attraverso gli *wipe tests*. Come substrati vengono utilizzati filtro, garza o batuffoli di cotone impregnati di isopropanololo o altri solventi. Tali tecniche sono in genere utilizzate per la valutazione della contaminazione di superfici sia in ambienti industriali che all'interno di ambienti trattati per interventi di salute pubblica (5). Sono sconsigliati per i composti volatili.

Il tipo di materiale e le procedure utilizzate possono influenzare l'accuratezza e la precisione delle misure che rimangono comunque scarse anche se il campionamento interessa superfici ampie.

5.5.2. Residui rimuovibili (dislodgeable residue)

Rappresentano la quota di tossico che dalla superficie contaminata può essere trasferita alla cute. Si ottengono effettuando il lavaggio di superfici esposte (es. foglie per i fitofarmaci) con acqua o soluzioni acquose contenenti cloruro di sodio o tensioattivi. La concentrazione dei residui viene espressa in unità di massa per unità di superficie e la loro valutazione fornisce informazioni qualitative e quantitative. I residui removibili non pongono il problema della rappresentatività dell'area campionata come nel caso degli *wipe tests* e consentono un orientamento nella scelta dei DPI più adatti.

5.6. Monitoraggio biologico

Permette di stimare l'assorbimento per vie differenti (sia respiratoria che cutanea). Il limite è che non esistono metodi per distinguere la via di assorbimento, perché non sono noti marker specifici per l'assorbimento cutaneo o inalatorio.

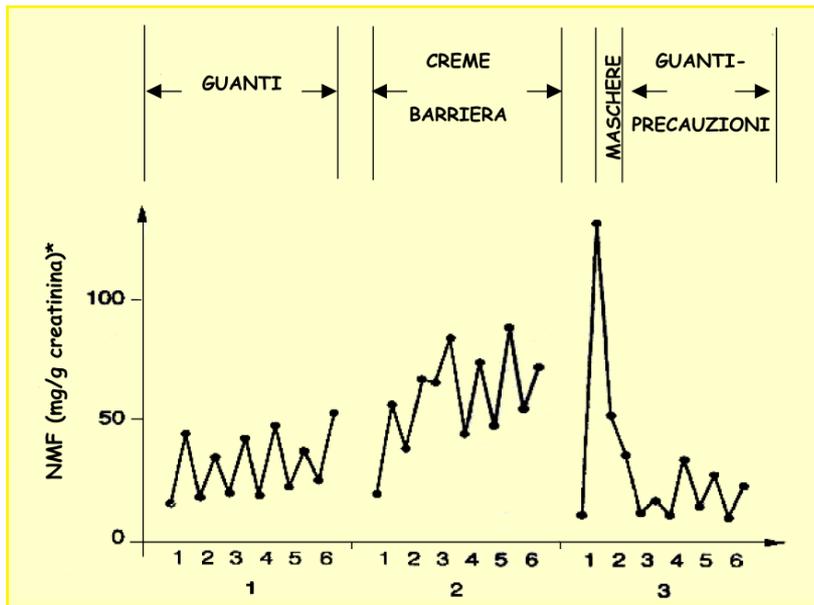


Figura 5. Variazioni giornaliere, nel corso di 3 settimane lavorative, dei livelli di NMF in lavoratori che utilizzano differenti DPI (26)

* L'N-metilformamide (NMF) è il metabolita urinario della DMF

Sartorelli (35) riporta il modello statistico di analisi *Latin square*¹ proposto dall'INRS francese (49): vengono monitorati, nelle medesime condizioni espositive, 4 lavoratori, per 4 giorni consecutivi, equipaggiati a turno con 4 differenti configurazioni (senza protezioni, con protezioni respiratorie, con protezioni cutanee, con protezione totale cutanea e respiratoria). In tal modo può essere dimostrato quale ruolo svolge l'assorbimento transcutaneo nell'ambito dell'esposizione in esame.

Un esempio dell'applicazione di un metodo simile è riportato in uno studio fatto in un'industria di produzione di fibre acriliche per evidenziare l'entità dell'assorbimento cutaneo della dimetilformamide (DMF). I risultati dello studio sono riassunti nella figura 5.

Il monitoraggio biologico è poi utile per la valutazione dell'efficacia delle bonifiche e dei mezzi protettivi, confrontando i livelli degli indicatori prima e dopo la messa in atto di tali misure.

6. Ruolo del medico competente

Il ruolo del medico competente è sicuramente determinante per identificare quelle situazioni lavorative nell'ambito delle quali si può configurare un'esposizione a tossici caratterizzati da un significativo assorbimento cutaneo, associato o meno ad effetti lesivi sulla cute. Nonostante le conoscenze sulle modalità di assorbimento transcutaneo dei tossici e sulla possibilità di valutazione dell'esposizione siano in fase di sviluppo, le metodiche a di-

sposizione siano scarsamente standardizzate e necessitino di ulteriori approfondimenti sia sul piano tecnico che applicativo, il medico competente deve attivamente impegnarsi nella **valutazione del rischio specifico**. Peraltro l'obbligo di valutazione esiste per tutti i potenziali rischi chimici e per tutti i livelli dei singoli rischi, non solo per quelli che per legge richiedono l'obbligo di sorveglianza sanitaria (2).

Il medico competente deve partecipare alla **valutazione dell'esposizione**, integrando ed interpretando i dati ambientali alla luce dei potenziali effetti dannosi sulla salute derivanti dall'assorbimento cutaneo dei tossici esaminati.

Al medico competente spettano specificamente la programmazione della **sorveglianza sanitaria** e la formulazione di **giudizi d'idoneità specifica** che ne costituisce l'atto conclusivo (1). Nello svolgimento di tali compiti dovrà tener conto di tutte quelle condizioni che, fa-

vorendo la penetrazione transcutanea dei tossici, possono rendere il lavoratore ipersuscettibile (ad esempio psoriasi, dermatiti eczematose, disturbi della cheratinizzazione) (12). Dovrà anche valutare, nell'ambiente di lavoro, l'esistenza di eventuali condizioni microclimatiche che potrebbero influire sulla permeabilità della cute ai tossici. Dovrà infine valutare l'eventuale presenza di condizioni di "intolleranza" verso i guanti che potrebbero rappresentare fattori di ipersuscettibilità di cui tenere conto nella fase di formulazione del giudizio di idoneità. Si possono a questo proposito citare sensibilizzazioni verso i costituenti del guanto che, determinando l'insorgenza di dermatiti eczematose, impediscano l'utilizzo del DPI, oppure la presenza di iperidrosi che potrebbe compromettere l'integrità cutanea agevolando la penetrazione transcutanea dei tossici e rendere poco tollerabile l'uso protratto di guanti.

Inoltre al medico competente spetterà, in condizioni in cui si configuri l'esposizione a tossici caratterizzati da assorbimento cutaneo, la corretta interpretazione dei risultati del **monitoraggio biologico** che in questo contesto rappresenta uno strumento utile soprattutto per la valutazione dell'efficacia dei DPI adottati.

Infine, sarà necessario che il medico competente partecipi ai programmi di **formazione e informazione** fornendo tutte le necessarie informazioni sui possibili effetti per la salute derivanti dall'esposizione a tossici in grado di penetrare attraverso la via cutanea, avere un ruolo attivo nella **sceita di DPI** adeguati e sensibilizzare i lavoratori ad un loro corretto impiego.

¹ È un modello statistico che consente di confrontare gli effetti di n trattamenti in un esperimento in cui esistano altre 2 sorgenti di variabilità note, ciascuna a n livelli. I trattamenti principali sono indicati con A, B, C e D, mentre i 2 fattori secondari sono rappresentati dalle righe e dalle colonne della tabella in cui sono rappresentate le combinazioni dei trattamenti. Per ogni combinazione di riga e colonna si usa soltanto uno dei 4 trattamenti: ogni trattamento compare una sola volta in ogni riga e in ogni colonna. La variabilità sistematica tra righe, o analogamente tra colonne, non influenza i confronti fra trattamenti e si può dire che il particolare tipo di disegno scelto l'ha eliminata.

7. Conclusioni

- La riduzione dell'esposizione per via inalatoria a tossici industriali (grazie agli interventi preventivi negli ambienti di lavoro) ha messo in rilievo l'importanza di una valutazione dell'esposizione cutanea;
- Mancano oggi limiti di esposizione cutanea professionale;
- È necessario uniformare il criterio di assegnazione della *skin notation*;
- Occorre approfondire gli studi e standardizzare i metodi in modo da garantire basi scientifiche solide alle metodiche di stima del rischio cutaneo e un'applicabilità delle stesse a tutte le realtà produttive (9, 26);
- La percezione del rischio di assorbimento cutaneo è spesso bassa. Il rischio risulta legato ad una scarsa coscienza della problematica, con conseguente sotto-stima del problema, ad un errato utilizzo dei DPI, ad abitudini di pulizia inadeguate. In questo contesto il medico competente dovrebbe svolgere un ruolo rilevante orientando i corsi di formazione/informazione verso la sensibilizzazione della popolazione esposta al rischio cutaneo.

8. Bibliografia

- 1) Alessio L, Farina G. Il giudizio di idoneità lavorativa specifica: atto conclusivo della sorveglianza sanitaria. *Med Lav* 2001; 92:227-238
- 2) Apostoli P, Bartolucci GB, Imbriani M et al. Usque tandem? Riflessioni sul Decreto Legislativo 2 febbraio 2002 n. 25. *G Ital Med Lav Erg* 2002; 24: 99-111.
- 3) Aprea C, Sciarra G, Lunghini L et al. Antiparassitari. Minoia C, Perbellini L. Monitoraggio ambientale e biologico dell'esposizione professionale a xenobiotici (Vol 1). Milano, Morgan Edizioni Tecniche 2000.
- 4) Benford DJ, Cocker J, Sartorelli P et al. Dermal route in systemic exposure *Scand J Work Environ Health* 1999; 25 (special issue): 511-520.
- 5) Byrne MA. Suction methods for assessing contamination on surfaces. *Ann Occup Hyg* 2000; 44: 523-528.
- 6) Brouwer DH, Semple S, Marquart J et al. A dermal model for spray painters. Part I: subjective exposure modelling of spray paint deposition. *Ann Occup Hyg* 2001; 45: 15-23.
- 7) Brouwer DH, Semple S, Dick F et al. A dermal model for spray painters. Part II: estimating the deposition and uptake of solvents. *Ann Occup Hyg* 2001; 45: 25-33.
- 8) Brouwer DH, Boeniger MF, Van Hemmen J. Hand wash and manual skin wipes. *Ann Occup Hyg* 2000; 44: 501-510.
- 9) Carmichael NG. Critique of the paper: could pesticide toxicology studies be more relevant to occupational risk assessment. *Ann Occup Hyg* 2001, 45: S19-S21.
- 10) Carrer P, Maroni M, Cavallo D et al. Valutazione dell'esposizione ad idrocarburi policiclici aromatici ed a benzene, toluene e xilene di lavoratori di una centrale termoelettrica che utilizza olio combustibile denso. *Med Lav* 2001; 92: 314-326.
- 11) Cherrie JW, Brouwer DH, Roff M et al. Use of qualitative and quantitative fluorescence techniques to assess dermal exposure. *Ann Occup Hyg* 2000; 44: 519-522.
- 12) Crippa M, Belleri L, Gelmi M et al. Dermatopatie e giudizio di idoneità lavorativa specifica. *Med Lav* 2002; 93: 3-10.
- 13) Czerczak S, Kupczewska M. Assignment of skin notation for maximum allowable concentration (MAC) list in Poland. *Appl Occup Environ Hyg* 2002; 17: 187-199.
- 14) Davis JE. Minimizing occupational exposure to pesticides: personnel monitoring. *Residue Review* 1980; 75: 33-50.
- 15) De Cock J, Heederik D, Kromhout H et al. Strategy for assigning a "skin notation": a comment. *Ann Occup Hyg* 1996; 40: 611-614.
- 16) Drexler H. Assignment of skin notation for MAK values and its legal consequences in Germany. *Int Arch Occup Environ Health* 1998, 71: 503-505.
- 17) European Center for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). Percutaneous absorption. Monograph n. 20. Brussels: ECETOC Aug 1993.
- 18) EPA (1998) Dermal Exposure Guideline 875.2400, working draft. Washington. D.C.: U.S. Environmental Protection Agency.
- 19) Fenske RA. Dermal Exposure: a decade of real progress. *Ann Occup Hyg* 2000; 44: 489-491.
- 20) Ghafourian T, Fooladi S. The effect of structural QSAR parameters on skin penetration. *Int J Pharm* 2001; 217: 1-11.
- 21) Guy RH, Potts RO. Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am J Ind Med* 1993; 23: 711-719.
- 22) Hadgraft J. Skin, the final frontier. *Int J Pharm* 2001; 224: 1-18.
- 23) Hakkert BC. Refinement of risk assessment of dermally and intermittently exposed pesticide workers: a critique. *Ann Occup Hyg* 2001; 45: S23-S28.
- 24) Kezic S, Monster AC, Van De Gevel IA et al. Dermal absorption of neat liquid solvents on brief exposures in volunteers. *AIHJ* 2001; 62: 12-18.
- 25) Larese F, Sartorelli P, Scansetti G. Assorbimento percutaneo dei tossici industriali: il Dermal Exposure Network (DEN) dell'Unione Europea. *Med Lav* 1998; 89: 538-544.
- 26) Lauwerys R. Dimethylformamide. In Alessio L, Berlin A, Boni M, Roi R Ed. Biological indicators for the assessment of human exposure to industrial chemicals. EUR 10704 EN. Commission of The European Communities, Luxembourg, 1986: 21-27.
- 27) Limasset JC, Simon P, Poirat P et al. Estimation of the percutaneous absorption of styrene in an industrial situation. *Int Arch Occup Environ Health* 1999: 46-51.
- 28) Maina G, Larese F, Sartorelli P et al. Riskofderm: un progetto europeo per la valutazione dell'esposizione per via cutanea a tossici industriali. *Med Lav* 2002 93: 73-79.
- 29) Marquart H, Maidment S, McClafflin JL et al. Harmonization of future needs for dermal exposure assessment and modeling: a workshop report. *Appl Occup Environ Hyg* 2001; 16: 218-227.
- 30) Ness S.A. Surface and dermal monitoring for toxic exposures. New York, John Wiley & Sons Inc., 1994.
- 31) Nylander-French LA. A tape-stripping method for measuring dermal exposure to multifunctional acrylates. *Ann Occup Hyg* 2000; 44: 645-651.
- 32) Sartorelli P, Van Hemmen J, Benford D et al. Uso dei dati sperimentali di passaggio percutaneo nel processo di risk assessment. *Med Lav* 2000, 91: 81-89.
- 33) Perbellini L, Buratti M, Fustinoni S. Solventi II. In Minoia C, Perbellini L. Monitoraggio ambientale e biologico dell'esposizione professionale a xenobiotici (Vol 6). Milano, Morgan Edizioni Tecniche 2000.
- 34) Ross JH, Driver JH, Cochran RC Could et al. Could pesticide toxicology studies be more relevant to occupational risk assessment? *Ann Occup Hyg* 2001; 45: S5-S17.
- 35) Sartorelli P. La stima del rischio cutaneo in medicina del lavoro. *Med Lav* 2000; 91, 3: 183-191.
- 36) Sartorelli P, Aprea C, Bussani R et al. Il problema dell'assorbimento cutaneo dei fitofarmaci. Metodi di valutazione. In Antiparassitari, Ambiente e Salute 3° Congresso Nazionale S.I.V.R. Antiparassitari, Ambiente e Salute. Pavia, 1997 International Center for Pesticide Safety: 175-181.
- 37) Sartorelli P, Aprea C, Cenni A et al. Prediction of percutaneous absorption from physicochemical data: a model based on data of in vitro experiments. *Ann Occup Hyg* 1998; 42: 267-276.
- 38) Sartorelli P, Cenni A, Matteucci G. Dermal exposure assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons: in vitro percutaneous penetration from lubricating oil. *Int Arch Occup Environ Health* 1999; 72: 528-532.

- 39) Sartorelli P. Dermal exposure assessment in occupational medicine. *Occup Med* 2002; 52: 151-156.
- 40) Schneider T, Cherrie JW, Vermeulen R et al. Dermal exposure assessment. *Ann Occup Hyg* 2000; 44: 493-499.
- 41) Schneider T, Vermeulen R, Brouwer DH et al. Conceptual model for assessment of dermal exposure. *Occup Environ Med* 1999; 56: 765-773.
- 42) Sciarra G, Scarpelli A. La valutazione dell'esposizione cutanea. *G Ig Ind* 2000; 25: 29-39.
- 43) Soutar A, Semple S, Aitken RJ et al. Use of patches and whole body sampling for the assessment of dermal exposure. *Ann Occup Hyg* 2000; 44: 511-518.
- 44) Steiling W, Kreutz J, Hofer H. Percutaneous penetration/dermal absorption of hair dyes in vitro. *Toxicol Vitro* 2001; 15: 565-570.
- 45) Sznitowska M, Janicki S, Baczek A. Studies on the effect of pH on the lipoidal route of penetration across stratum corneum. *J Control Release* 2001; 76: 327-335.
- 46) Thongsinthusak T, Ross JH, Saiz SG et al. Estimation of dermal absorption using the exponential saturation model. *Regul toxicol pharmacol* 1999; 29: 37-43.
- 47) TNO Nutrition and Food Research. Dermal absorption and pharmacokinetic studies in human volunteers. *Toxicol Tribune* 2001, n. 28.
- 48) Vale JA. Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus (OP) insecticide poisoning. *Toxicol Lett* 1998; 102-103: 649-652.
- 49) Wild P, Grzebyk M. Latin squares designs. INRS Published studies: 3458. In *Wiley, Encyclopedia of Biostatistics (Vol 3)*, 1998: 2209-2211.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano il Prof. Pietro Sartorelli dell'Università degli Studi di Siena per i preziosi suggerimenti forniti.