

# Réalisation de tatouage et pigments

Thierry Fusade

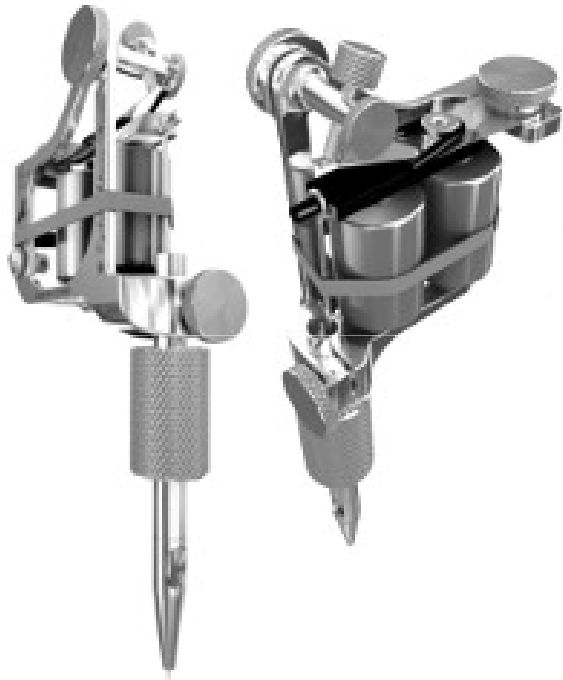
Nicolas Kluger

# Tatouage

insertion dans le **derme de pigments permanents** non biodégradables à l'aide d'une pointe ou par le biais d'une scarification



# Le dermographe



Le **dermographe** est constitué d'un électro-aimant qui entraîne une buse dans un mouvement alternatif de va et vient. Lorsqu'il est enclenché, les pointes se déplacent rapidement de haut en bas et permettent l'insertion de l'encre dans la peau

plusieurs formes d'**aiguilles** :

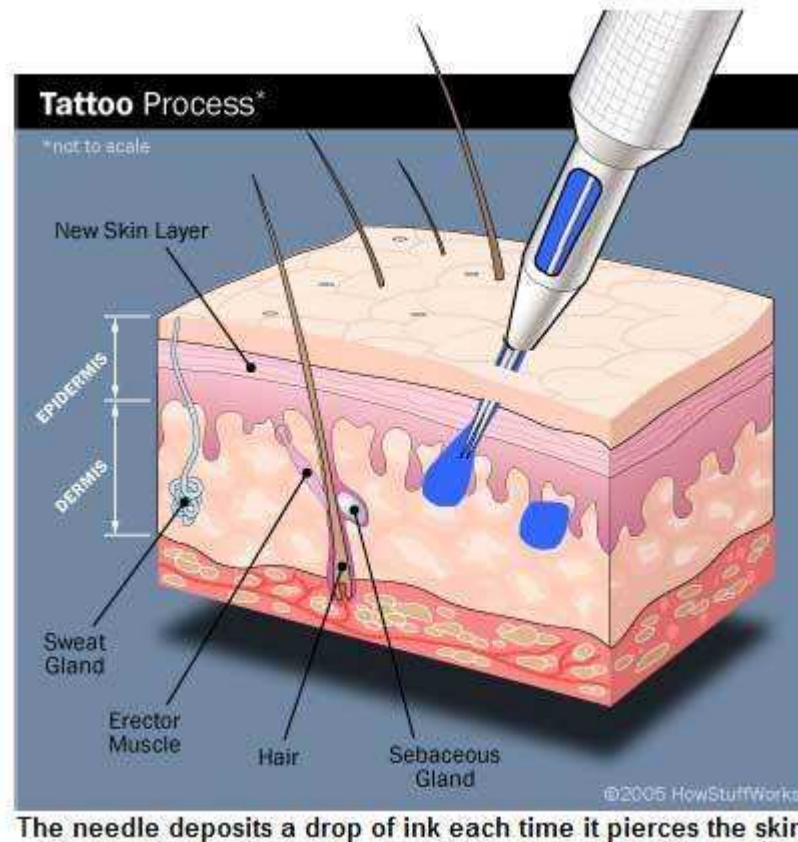
-aiguilles liners pour tracer les lignes et contours d'un tatouage

-aiguilles magnums pour faire le remplissage



# Insertion du pigment

Le pigment descend par capillarité le long des aiguilles jusqu'au point d'implantation fonction de la force d'appui: opérateur dépendant +++



# Les premiers jours du tatouage

Etude du devenir du pigment inséré dans le derme

De Souris SKH-1 « nude »

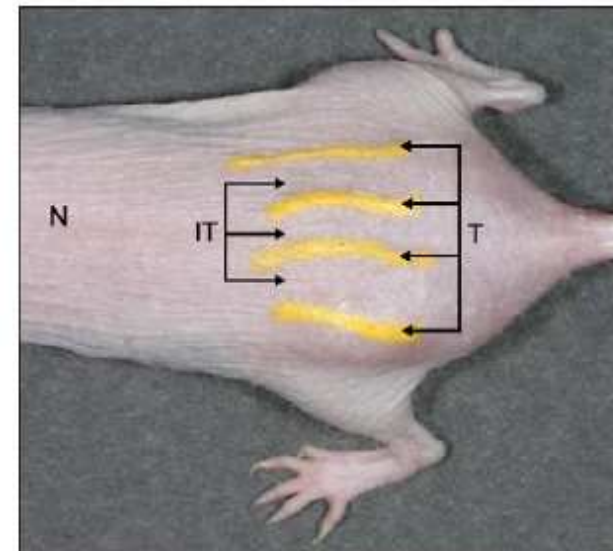
Chronologie des modifications histologiques liées au processus de cicatrisation d'un tatouage entre J0 et J14

Etude immunologique

Response of mouse skin to tattooing: Use of SKH-1 mice as a surrogate model for human tattooing

Neera V. Gopee<sup>a,b</sup>, Yanyan Cui<sup>a,b</sup>, Greg Olson<sup>c</sup>, Alan R. Warbritton<sup>c</sup>, Barbara J. Miller<sup>a,b</sup>,  
Letha H. Couch<sup>a</sup>, Wayne G. Wamer<sup>d</sup>, Paul C. Howard<sup>a,b,\*</sup>

Toxicol Appl Pharmacol. 2005 Dec 1;209(2):145-58.



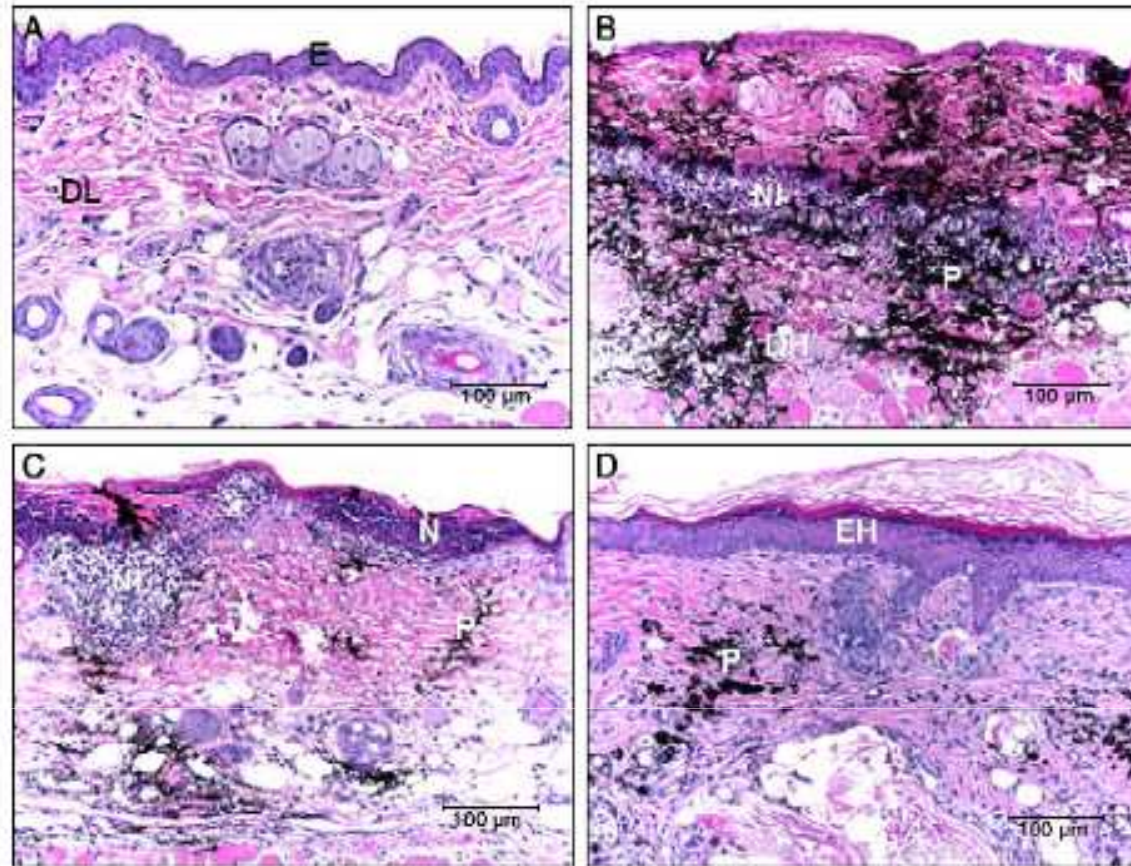


Fig. 2. Representative H and E staining of skin from untreated SKH-1-untreated murine skin (panel A), tattooed skin at day 0.5 (Panel B), day 1 (Panel C), and day 14 (Panel D). Untreated skin consists of the upper epidermis (E) and lower dermal layer (DL). Inflammatory cells, necrosis, and hemorrhaging are absent from the skin of non-tattooed mice (panel A). The tattooing procedure resulted in biological responses defined as: epidermal necrosis (N), acute inflammation mainly represented by massive neutrophil infiltration (NI), dermal hemorrhage (DH), epidermal hyperplasia (EH), and dermal pigmentation (P).

## Résultats histologiques

- Processus inflammatoire lié à la cicatrisation
- Hémorragie dermique et nécrose épidermique liée aux piqures

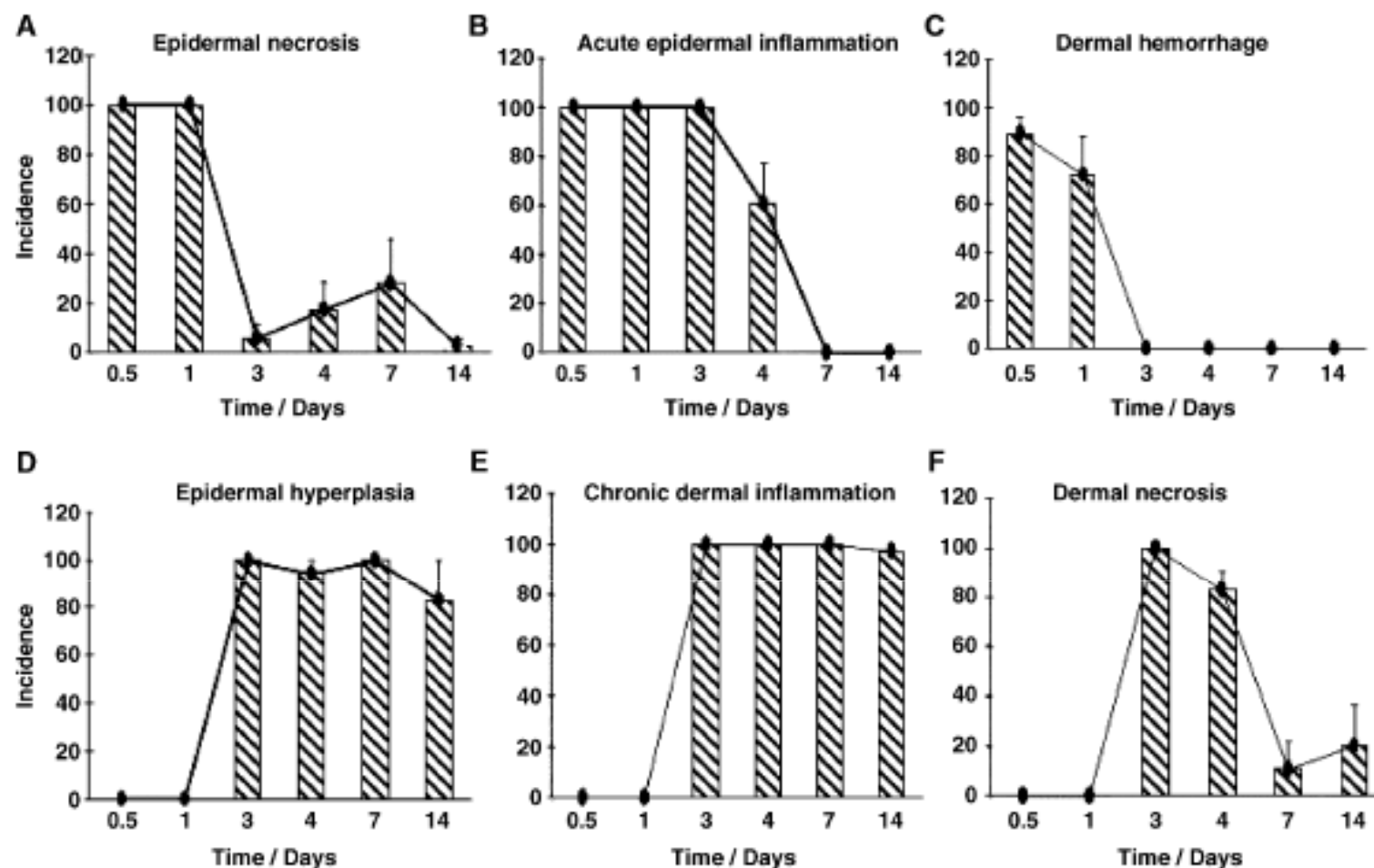
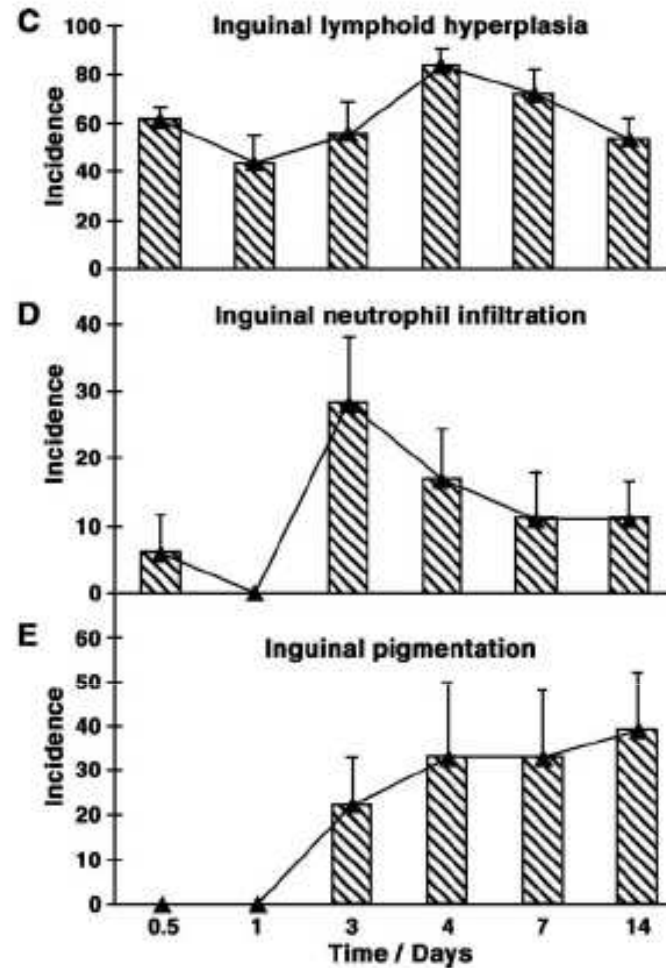
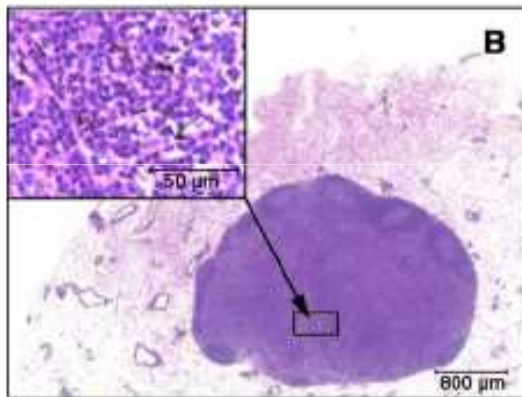
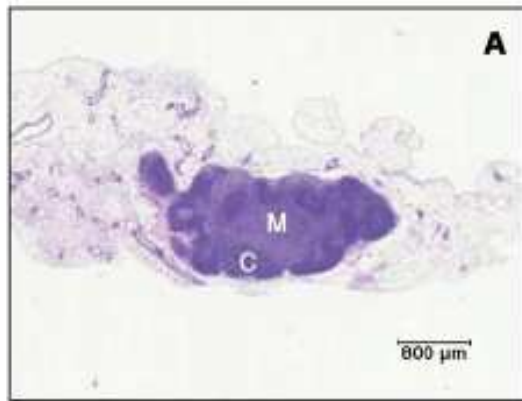


Fig. 3. Summary of the incidence of the histopathology findings in skin of tattooed mice. Female hairless SKH-1 mice were tattooed with 10% glycerol (vehicle), cadmium sulfide (CdS), ferrosulfate (iron), titanium dioxide (white), or commercially prepared Tulip yellow (yellow) tattoo and Midnight black (black) tattoo inks. Histological examination of skin excised from animals 0.5, 1, 3, 4, 7, and 14 days post-tattooing was performed to determine the incidence and various inflammatory endpoints. Biological responses included epidermal necrosis (panel A), acute epidermal inflammation (panel B), dermal hemorrhage (panel C), epidermal hyperplasia (panel D), chronic dermal inflammation (panel E), and dermal necrosis (panel F). Each data point represents  $n = 18 \pm \text{SEM}$ .



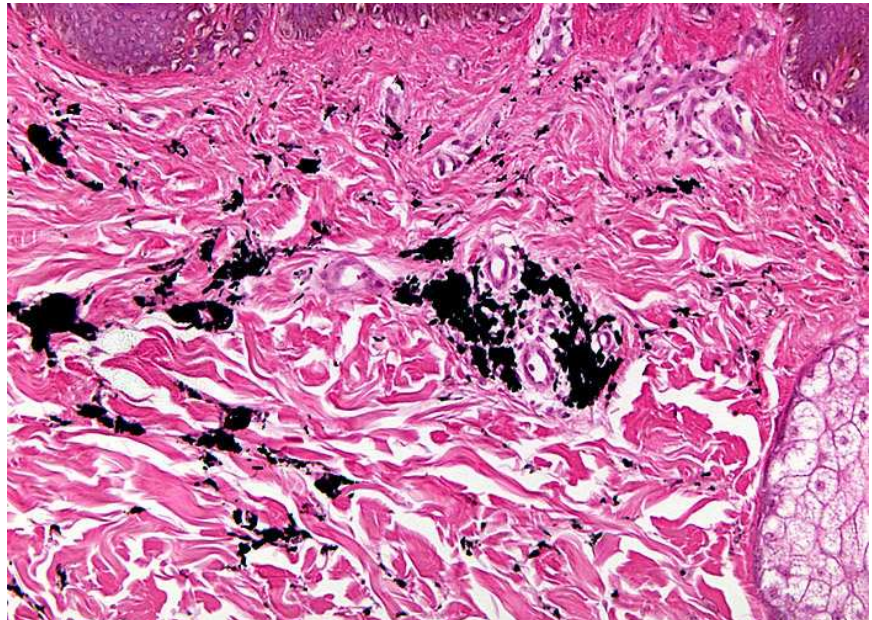
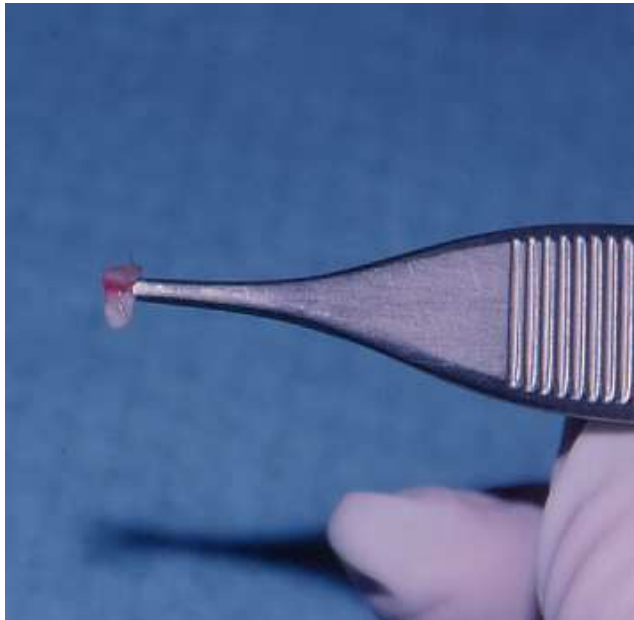
## Adénopathies loco-régionales de drainage

- Hyperplasie lymphoïde
- Infiltration de neutrophiles
- Pigmentation des ganglions à partir du troisième jour



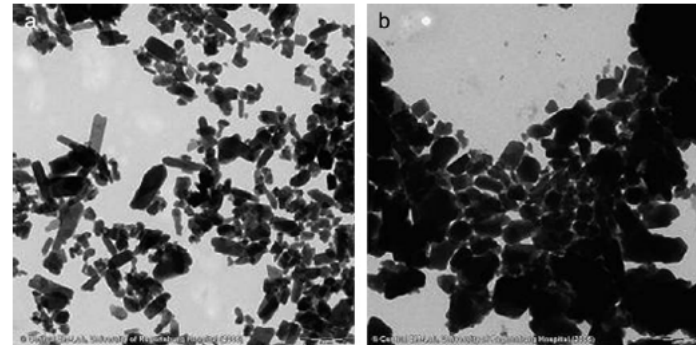
# A terme

- Particules pigmentaires intégrées dans phagosomes intra-fibroblastiques dermiques
- Persistance d'une pigmentation des ganglions satellites



# Quelle concentration de pigment?

- Détermination de la concentration dans peau humaine
  - Tatouage de peau humaine et de porc
  - Utilisation d'une encre « pure » de PR22 à 98%  
(Sur le marché, pureté à < 80%)
  - Concentration moyenne 2,53 mg/cm<sup>2</sup>  
(0,6 à 9,42 mg/cm<sup>2</sup>)
  - Différence d'agrégation entre le PR22 purifié et commercial



# Concentration pigmentaire dans tatouages

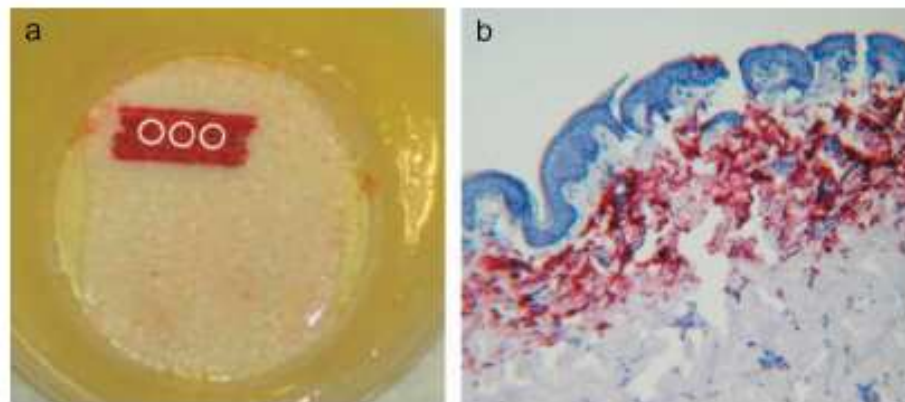
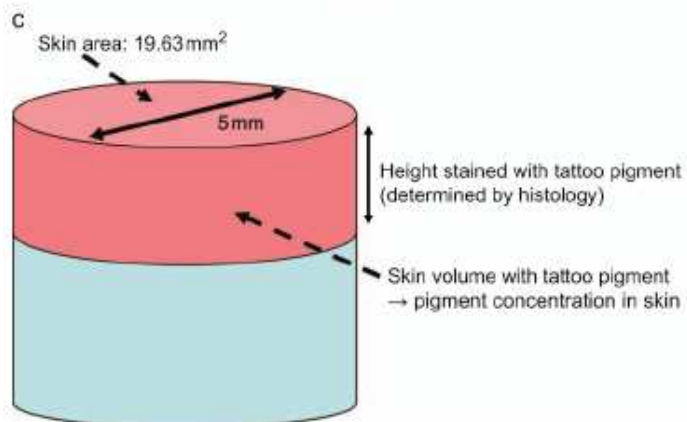
2,53 mg/cm<sup>2</sup>: quantité de pigment injecté par cm<sup>2</sup> de peau sur une colonne de derme papillaire réticulaire sup

**Surestimation vraisemblable** des concentrations:

Données *In vitro* post tatouage immédiat

Ne tient pas compte de la cinétique du pigment

(Élimination transepidermique ; Clairance lymphatique )



# Colorants et Pigments

- **Colorants (ou teintures)**
  - Solubles (solution)
  - Molécules organiques
  - +/- agent stabilisant (sulfate de Barium)
  - Encres des maquillages permanents
- **Pigments**
  - Insolubles (suspension)
  - Pigments minéraux (sulfures ou oxydes) et pigments organiques
  - Utilisés plutôt dans le tatouage traditionnel (stabilité, résistance chimique).

## « Additifs »

Rendre la suspension stable, la solution homogène, fluidité, adhérence à l'aiguille..., agents conservateurs (anti-infectieux), solvants (ethanol, isopropanol) pour transporter les additifs , +/- anesthésique local

# Classification des pigments

## Minéraux

terres, ocres, lapis-lazuli cinabre (sulfure de mercure), oxydes de fer naturels

## Plantes tinctoriales

Pigments biologiques extraits de plantes tinctoriales (composés organiques). Le pigment est extrait de diverses parties constitutives de la plante : les feuilles (guède, chlorophylle (E140), anthocyanes (E163)), les racines (garance) ou le tronc

Parmi les plantes tinctoriales les plus connues figurent :

le bleu indigo tiré de l'indigotier, la guède ou *pastel des teinturiers*, la garance, le safran tiré du *Crocus sativus*, la gaude pour la laque jaune de gaude (ou des verts en association avec le bleu de guède)

## Pigments d'origine animale

la cochenille Kermes vermilio pour des rouges carmins, écarlates ou cramoisis

le murex pour la pourpre qui colore depuis l'Antiquité la robe des sénateurs ou des cardinaux à Rome

le sépia ou encre de seiche

À partir du XIX<sup>e</sup> siècle, beaucoup de ces pigments naturels ont été reproduits par synthèse chimique (l'alizarine remplace la garance, la mauvéine, aniline, fuchsine).

## Pigments synthétiques

chimie minérale : sulfures et oxydes métalliques, de plomb, cadmium, chrome, cobalt, mercure ou titane. Des pigments minéraux synthétiques sont connus depuis l'Antiquité (bleu égyptien, vermillon).

chimie organique : pérylènes, quinacridones, phthalocyanines, azoïques. Leur découverte date du XIX<sup>e</sup> siècle et, constamment améliorés, ils sont les plus utilisés aujourd'hui

# La composition des encres évolue...

- Etudes anciennes (1980)
  - Colorants, pigments minéraux naturels ou synthétiques
- Timko AL et al. (Arch Dermatol 2001)
  - (Oxygène) titane, carbone , fer, chlorure
  - Absence de Mercure, Cobalt, Cadmium, Cuivre
- Autres composants
  - Bois de santal (natural red 22/23), Bois Brésil (Natural red 24), Sienne

Point important:

colorants azoïques en augmentation (*Lehmann 1988, Waldmann 1997*)

**Table 1. Percentage of Elemental Composition of Tattoo Pigments Obtained by X-ray Diffraction\***

Stock No.	Color	Element†										
		Titanium (22)	Aluminum (13)	Silica (14)	Copper (29)	Chromium (24)	Iron (26)	Chlorine (17)	Sulfur (16)	Carbon (6)	Oxygen (8)	Magnesium (12)
8001	Black	...	0.25	...	...	...	85.95	...	0.29	...	13.51	...
8007	White	98.55	1.45	...	...	...	...	...	...	...	...	...
8016	Fire red	...	26.21	...	...	...	...	9.68	10.76	23.29	30.06	...
8022	Flesh No.1 (tan)	74.27	1.75	...	...	...	23.98	...	...	...	...	...
8031	Indian brown	41.98	0.76	...	...	...	57.26	...	...	...	...	...
9001	Crimson red	...	...	17.2	...	...	...	...	...	49.36	22.25	11.19
9002	Devil's red	27.65	2.6	0.53	...	...	...	...	...	51.67	17.55	...
9008	Lotus (red)	40.17	3.2	...	...	...	...	...	...	17.71	38.92	...
9009	Venetian brown	...	0.38	1.73	...	...	79.85	...	...	...	18.04	...
9014	Florida orange	...	...	...	...	...	...	...	...	84.35	15.65	...
9017	Lemon yellow	53.06	1.86	...	...	...	...	...	...	23.9	21.18	...
9022	White	96.41	3.59	...	...	...	...	...	...	...	...	...
9023	Black	...	...	...	...	...	87.98	...	...	...	12.02	...
9024	Permanent green	...	0.89	...	13.32	...	...	51.55	...	34.24	...	...
9025	Emerald green	5.45	0.49	...	...	72.66	...	4.15	...	...	17.25	...
9026	Pine green	44.34	4.08	...	8.27	...	...	6.71	...	14.64	21.96	...
9029	Parrot green	58.57	2.51	...	...	...	...	4.61	...	17.12	17.19	...
9036	Sky blue	37.95	1.9	...	11.06	...	...	2.16	...	35.41	11.52	...
9061	Blue green	...	1.14	...	14.46	...	...	52.24	...	32.16	...	...
9090	Cerise (red)	51.51	2.18	...	...	...	15.34	...	...	9.81	21.16	...
9091	Yukon white	94.98	5.02	...	...	...	...	...	...	...	...	...
9092	Misty green	51.5	2.51	...	...	...	...	3.59	...	18.43	23.97	...
9093	Misty blue	94.82	4.13	...	...	...	...	1.05	...	...	...	...
9094	Tulip yellow	27.29	2.29	0.22	...	...	...	2.29	0.3	37.3	30.31	...
9095	Peony (pink)	63.77	2.38	...	...	...	...	...	...	13.85	20	...
9096	New blue	50.93	2.36	...	8.54	...	...	1.39	...	18.21	18.57	...
9097	Blush (orange)	58.06	2.25	...	...	...	...	2.87	...	14.39	22.43	...
9098	Wild violet	65.29	2.88	...	...	...	...	...	...	9.56	22.27	...
9099	Tulip red	...	0.19	13.4	...	...	...	...	...	52.29	25.12	9
Not applicable	India ink	...	...	...	...	...	...	...	...	92.19	7.81	...

\*The numeric values in the table represent the elemental percentage in the composition of the pigment. Ellipses indicate absence.

†The numerical number between the element represents its atomic number.

**TABLE 1. Pigment Numbers, Names, and Elemental Composition for Which Absorption Spectra Were Established**

Number	Name	Percentage of Elemental Composition <sup>b</sup>
8001	Black	85.95% iron, 13.51% oxygen, 0.29% sulfur, 0.25% aluminum
8007	White	98.55% titanium, 1.45% aluminum
8016	Fire red	30.06% oxygen, 26.21% aluminum, 23.29% carbon, 10.76% sulfur, 9.68% chlorine
8022	Flesh No. 1 (tan)	74.27% titanium, 23.98% iron, 1.75% aluminum
8031	Indian brown	57.26% iron, 41.98% titanium, 0.76% aluminum
9001	Crimson red	49.36% carbon, 22.25% oxygen, 17.2% silica, 11.19% magnesium
9002	Devil's red	51.67% carbon, 27.65% titanium, 17.55% oxygen, 2.6% aluminum, 0.53% silica
9008	Lotus (red)	40.17% titanium, 38.92% oxygen, 17.71% carbon, 3.2% aluminum
9009	Venetian brown	79.85% iron, 18.04% oxygen, 1.73% silica, 0.38% aluminum
9014	Florida orange	84.35% carbon, 15.65% oxygen
9017	Lemon yellow	53.06% titanium, 23.9% carbon, 21.18% oxygen, 1.86% aluminum
9022	White	96.41% titanium, 3.59% aluminum
9023	Black	87.98% iron, 12.02% oxygen
9024	Permanent green	51.55% chlorine, 34.24% carbon, 13.32% copper, 0.89% aluminum
9025	Emerald green	72.66% chromium, 17.25% oxygen, 5.45% titanium, 4.15% chlorine, 0.49% aluminum
9026	Pine green	44.34% titanium, 21.96% oxygen, 14.64% carbon, 8.27% copper, 6.71% chlorine, 4.08% aluminum
9029	Parrot green	58.57% titanium, 17.19% oxygen, 17.12% carbon, 4.61% chlorine, 2.51% aluminum
9061	Blue green	52.24% chlorine, 32.16% carbon, 14.46% copper, 1.14% aluminum
9090	Cerise (red)	51.51% titanium, 21.16% oxygen, 15.34% iron, 9.81% carbon, 2.18% aluminum
9091	Yukon white	94.98% titanium, 5.02% aluminum
9092	Misty green	51.5% titanium, 23.97% oxygen, 18.43% carbon, 3.59% chlorine, 2.51% aluminum
9093	Misty blue	94.82% titanium, 4.13% aluminum, 1.05% chlorine
9094	Tulip yellow	37.3% carbon, 30.31% oxygen, 27.29% titanium, 2.29% aluminum, 2.29% chlorine, 0.3% sulfur, 0.22% silica
9095	Peony (pink)	63.77% titanium, 20% oxygen, 13.85% carbon, 2.38% aluminum
9096	New blue	50.93% titanium, 18.57% oxygen, 18.21% carbon, 8.54% copper, 2.36% aluminum, 1.39% chlorine
9097	Blush (orange)	58.06% titanium, 22.43% oxygen, 14.39% carbon, 2.87% chlorine, 2.25% aluminum
9098	Wild violet (pink)	65.29% titanium, 22.27% oxygen, 9.56% carbon, 2.88% aluminum
9099	Tulip red	52.29% carbon, 25.12% oxygen, 13.4% silica, 9% magnesium, 0.19% aluminum
None	India ink	92.19% carbon, 7.81% oxygen

<sup>b</sup>Elemental composition data in column three was obtained via X-ray diffraction.



**Tabelle 1:** Elementanalytische Zusammensetzung nativer Tattoofarbstoffe. Zusammenfassung der EDS-Analysen verschiedener Farbtonproben.

**Table 1:** Elemental composition of tattoo dyes. Summary of results obtained by EDS analysis of different colors.

Schwarz	(hauptsächlich C), P und S, wenig Si und Al
Violett	Al, P, S, Cl, Ti, Cr
Grün	Al, P, Cl, Ti, Cu, einige Töne auch Cu-frei
Rot	Al, Si, S, Cl
Gelb	Si, Al, Ti, S
Blau	Na, Al, Si, P, S, Cl, Ti, Cu, K, Ca

# Composition des pigments

<b>Noir</b>	Carbone, Oxyde de fer, Aluminium
<b>Bleu</b>	Bleu de cobalt, cuivre
<b>Marron</b>	Ocre (sulfate de fer)
<b>Vert</b>	Bichromate de potassium, trioxyde de chrome, oxyde de chrome, chlorure de cuivre
<b>Jaune</b>	Sulfure de cadmium (Cd), dérivés azo
<b>Rouge</b>	Sulfure de Cadmium (Cd),
<b>Orange</b>	rouge sienne, Pau brazil (Bois bresil, pernambouc, <i>Caesalpinia echinata</i> ), Bois de santal
<b>Violet</b>	Monoxyde de manganèse (Mn)
<b>Blanc</b>	Oxyde de titane, oxyde de zinc
<b>Rose</b>	Rouge + Blanc (titane)

# Des molécules dépassant le seuil d'allergenicité

- 56 couleurs testées en spectrométrie, 4 marques
  - Aluminium, baryum, cuivre, fer, strontium +++
- Sels métalliques allergéniques
  - Chrome (35/56), Nickel (9/56) et Cobalt (1/56)
- Sels métalliques toxiques
  - Cadmium, manganèse, plomb, antimoine
  - Pas de mercure...

Market survey on toxic metals contained in tattoo inks

Giovanni Forte <sup>a,\*</sup>, Francesco Petrucci <sup>a</sup>, Antonio Cristaudo <sup>b</sup>, Beatrice Bocca <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Rome, Italy

<sup>b</sup> Istituto Dermatologico S. Galliciano, Via Elio Chianesi 53, 00144 Rome, Italy

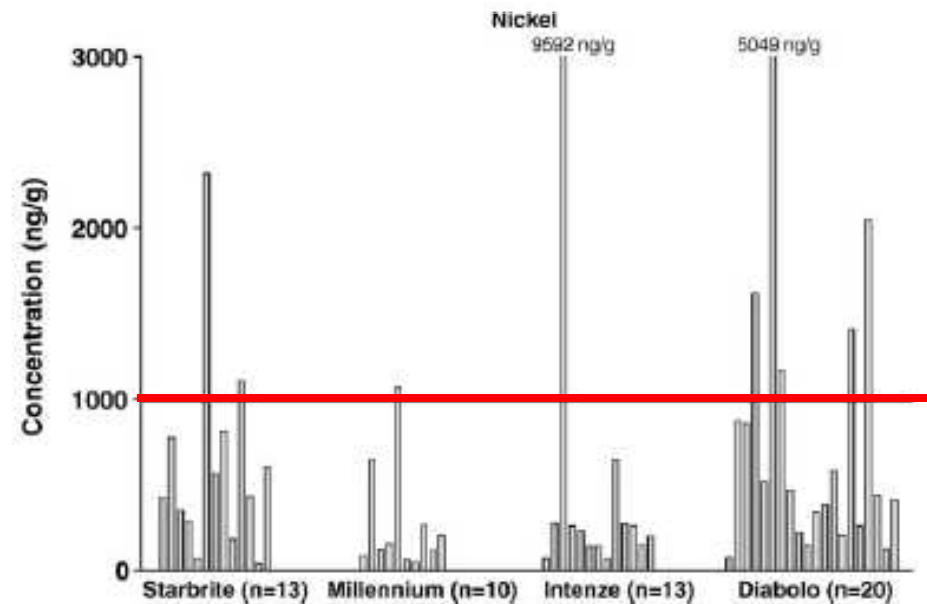


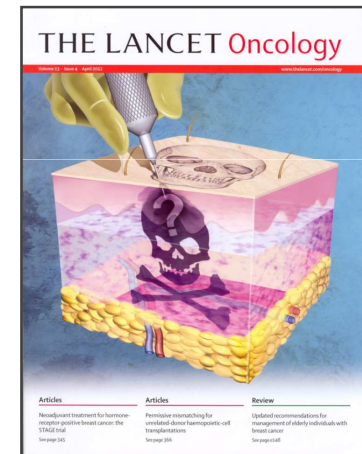
Fig. 1. Tattoo ink concentration of Cr and Ni compared to the safe allergological limit of 1 ppm (horizontal line).

# Le tatouage : modèle toxicologique unique

- Introduction en une fois d'un bolus de pigments en intra-dermique
- Persistance dans le derme durant toute la vie du tatoué
- Transport lymphatique +/- diffusion systémique ?

# Tatouages et cancers ?

- Totalement **spéculatif** à ce jour
- Association **fortuite** entre cancer cutané et tatouage
  - Publication de cas isolés
- Risque systémique ?
  - Les pigments de tatouage ou leurs produits de dégradations peuvent-ils diffuser au-delà des ganglions satellites? Risque de cancer viscéral ?



## Health risks of tattoo colors

Rudolf Vasold · Eva Engel · Burkhard König ·  
Michael Landthaler · Wolfgang Bäuml

Black tattoo inks are a source of problematic substances  
such as dibutyl phthalate

Karin Lehner<sup>1,2</sup>, Francesco Santarelli<sup>1</sup>, Rudolf Vasold<sup>2</sup>, Burkhard König<sup>2</sup>, Michael Landthaler<sup>1</sup>  
and Wolfgang Bäuml<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Dermatology, University of Regensburg, 93042 Regensburg, Germany and <sup>2</sup>Department of Organic Chemistry, University of Regensburg,  
93042 Regensburg, Germany

doi:10.1111/j.1600-0536.2011.01947.x

## Modern tattoos cause high concentrations of hazardous pigments in skin

EVA ENGEL<sup>1</sup>, FRANCESCO SANTARELLI<sup>2</sup>, RUDOLF VASOLD<sup>1</sup>, TIM MAISCH<sup>2</sup>, HEIDI ULRICH<sup>2</sup>, LUKAS PRANTL<sup>3</sup>,  
BURKHARD KÖNIG<sup>1</sup>, MICHAEL LANDTHALER<sup>2</sup> AND WOLFGANG BÄUMLER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Organic Chemistry, <sup>2</sup>Department of Dermatology, and <sup>3</sup>Department of Trauma Surgery,  
University of Regensburg, 93042 Regensburg, Germany

## Influence of a commercial tattoo ink on protein production in human fibroblasts

Mirella Falconi · Gabriella Teti · Michela Zago ·  
Angela Galanzi · Lorenzo Breschi · Susi Pelotti ·  
Alessandra Ruggeri · Giovanni Mazzotti

## Tattoo inks contain polycyclic aromatic hydrocarbons that additionally generate deleterious singlet oxygen

Johannes Regensburger<sup>1\*</sup>, Karin Lehner<sup>1\*</sup>, Tim Maisch<sup>1</sup>, Rudolf Vasold<sup>2</sup>, Francesco Santarelli<sup>1</sup>,  
Eva Engel<sup>2</sup>, Anita Gollmer<sup>1</sup>, Burkhard König<sup>2</sup>, Michael Landthaler<sup>1</sup> and Wolfgang Bäuml<sup>1</sup>

## The decrease of pigment concentration in red tattooed skin years after tattooing

K Lehner,<sup>†‡</sup> F Santarelli,<sup>†</sup> R Penning,<sup>§</sup> R Vasold,<sup>‡</sup> E Engel,<sup>‡</sup> T Maisch,<sup>†</sup> K Gastl,<sup>‡</sup> B König,<sup>‡</sup>

## Tattoo inks of general usage contain nanoparticles.

Running head: Tattoo inks contain nanoparticles.

Authors: T. Høgsberg<sup>1</sup>; K. Loeschner<sup>2</sup>; D. Löff<sup>3</sup>; J. Serup<sup>1</sup>

# Composés azoïques

Pigments **organiques de synthèse**, utilisés dans l'industrie couleurs **rouge, jaune, orange, brun**.

Mise au point initiale sous forme de laques afin d'être utilisés en peinture.

Etude scandinave sur 52 colorants

- 40 organiques et 12 autres
- 24/40 : contiennent des composants azoïques
- 9/24 : contiennent une **amine carcinogène**

anisidine, nitro-o-toluidine, chloro-o-toluidine, 3,3'-dichlorobenzidine potentiel carcinogène en cas d'exposition humaine (inhalation, ingestion)

# Photoinstabilité des pigments azoïques

- Pigment Yellow 74 (PY 74)

Exposition solaire (arc Xenon 6,5 kW)

Photodécomposition en de multiple produits:

N-2(2-methoxyphenyl)-3-oxobutanamide (O-acetanisidide)

2-(hydroxysimine)-N-(2-methoxyphenyl)-3-oxobutanamide

N,N''-bis(2-methoxyphenyl) urée

Toxicité sur tatouage après exposition solaire ou autre source lumineuse intense ?



# Photoinstabilité des pigments azoïques

- Pigment red (PR 22 et PR 9)

après photo-exposition, dégradation en :

- 2-méthyl-5-nitro aniline (dysfonction hépatique, mutagène sur Salmonella)
- 4-nitro-toluene (génétoxique sur les lymphocytes)
- 2,5-dichloroaniline (néphrotoxique chez le rat)
- 1,4-dichlorobenzène (cancer rénal chez le rat, cancer hépatique chez la souris)

# Photoinstabilité des pigments azoïques

- Irradiation de Cardinal Red (I8) par laser Nd:YAG 532nm

Augmentation de produits de dégradation

- 2-methyl-5-nitroaniline (25MNA)
- 2-5-dichloraniline
- 4-nitro-toluene (4NT)
- 1,4-dichlorobenzène

**Table 1** Amounts ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) of decomposition products before and after laser irradiation of the pigments Cardinal Red (CR) or I8. The products found were 2,5-dichloroaniline (2,5-DCA), 1,4-dichlorobenzene (1,4-DCB), 2-methyl-5-nitroaniline (2-MNA), and 4-nitrotoluene (4-NT) [29]

	CR before irradiation	CR after irradiation	I8 before irradiation	I8 after irradiation
$\mu\text{g/ml}$				
2-MNA	1.6 $\pm$ 0.3	53.1 $\pm$ 10.1	–	–
4-NT	1.0 $\pm$ 0.2	44.7 $\pm$ 8.2	–	–
2,5-DCA	–	–	11.8 $\pm$ 0.3	79.6 $\pm$ 1.4
1,4-DCB	–	–	< 0.5	32.6 $\pm$ 0.4

- Produits potentiellement toxiques et carcinogènes
- Risque en cas de détatouage laser ?

# 3,3'-dichlorobenzidine (DCB)

- Entre dans composition de pigments azo rouge et jaune (encres, textile, peinture, plastique... et encres de tatouage)
- Carcinogène probable 2B (Vessie)
- Retrouvé dans certaines encres : Pigment Yellow 87, orange 16
- [DCB] encres : 340 µg/mg (Zeilmaker et al, 2000)
- Etude de phototoxicité/photomutagénicité *Salmonella* TA102 et cellules Jurkat humaines
  - Phototoxicité sur TA 102 si DCB > 100 µM + exposition UV
  - Photomutagénicité sur TA 102 si DCB > 2µM
  - Phototoxicité sur Jurkat, concentration dépendant, surtout si UV

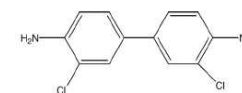


Fig. 1. Chemical structure of 3,3'-dichlorobenzidine.

Light-induced mutagenicity in *Salmonella* TA102 and genotoxicity/cytotoxicity in human T-cells by 3,3'-dichlorobenzidine: a chemical used in the manufacture of dyes and pigments and in tattoo inks

Lei Wang, Jian Yan, William Hardy, Charity Mosley, Shuguang Wang, Hongtao Yu\*

Department of Chemistry, Jackson State University, Jackson, MS 39217, USA

Received 4 August 2004; received in revised form 21 October 2004; accepted 24 October 2004  
Available online 8 December 2004

# Dégradation et transport PR 22

## Etude in vivo du Pigment Red 22

- 4 groupes
  - G1: Souris sacrifiées à J1
  - G2: Souris sacrifiées à J42
    - A J 10, exposition solaire 32 jours
    - Total 44,8 SED (Standard erythemal dose)
  - G3a, G3b
    - A J 10, exposition lumière naturelle 32 jour
    - G3a : analyse de la peau
    - G3b : irradiation Nd:YAG 532 nm, 2,5J/cm<sup>2</sup>/pulse, total : 165 J/cm<sup>2</sup>



**Figure 2.** Mice were tattooed with highly pure synthesized PR 22 (25% w/v) as shown by the four single pass tattoo 'stripes'(top). PR 22 has been transported to the lymph nodes causing a reddish coloration (bottom 2 panels).

Exp Dermatol. 2010 Jan;19(1):54-60

**Tattooing of skin results in transportation and light-induced decomposition of tattoo pigments--a first quantification in vivo using a mouse model.**

- J1
  - 36,5 µg PR22/punch
  - Estimation 584,0 µg PR22/souris
- J42 (groupe 2)
  - 9,9 µg/punch; 158,4 µg/souris
  - Diminution de 60% du pigment
  - Pas de carcinogène (2,5MNA, NT)
- J42 (groupe 3a)
  - 24,9 µg PR22/punch
  - Estimation 398,4 µg PR 22/souris
  - Diminution de 32%
- J42 + laser (groupe 3b)
  - Détection de 2,5 MNA, 6-NT, NAS
  - Diminution de 51%

**Table 1.** The values show the amount of PR 22 extracted 1 day after tattooing (group 1), 42 days after tattooing and exposure to solar radiation (group 2), or 42 days with room light followed without (group 3a) or with (group 3b) laser light irradiation. The respective standard deviation of the values (SD) is included in the table

Groups (conditions)	Amount per punch <sup>1</sup> [µg]	Amount per animal (mean) [µg]	Standard deviation (SD) [%]	Loss of pigment [%]
Group 1 (1 day after tattooing)	36.5	584.0	26	
Group 2 (42 days after tattooing + solar radiation)	9.9	158.4	64	Corr. to group 3a 60 P = 0.002 <sup>2</sup>
Group 3a (42 days after tattooing, ambient light only)	24.9	398.4	24	Corr. to group 1 32 P = 0.04 <sup>2</sup>
Group 3b (42 days after tattooing + laser)	12.3	196.8	16	Corr. to group 3a 51 P = 0.002 <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Weight per punch: 35 mg.

<sup>2</sup>Students t-test, two-sided.

- Diminution « naturelle » de la concentration de pigments: 32%
  - Elimination via l'épiderme (cicatrisation)
  - Transport dans le reste de l'organisme
    - Adénopathie: oui
    - Reste du corps: ?
  - Décomposition cutanée (UV, dégradation enzymatique) ?
- Diminution après laser: 51%
  - 8% du PR22 est retrouvé sous forme de 2,5-MNA et 4-NT
  - Autres métabolites non extraits et analysés ?
- Diminution après UV: 60%
  - Pas de produit de décomposition
    - Métabolisme in situ ?
    - Dispersion dans le corps ?
    - Autre mécanisme photochimique ?

**Table 2.** The values of the amount of the laser-induced decomposition products NAS, 2,5-MNA and 4-NT that were detected

Decomposition product	Amount per punch <sup>1</sup> (mean) [ $\mu$ g]	Amount per animal (mean) [ $\mu$ g]	Standard deviation (%)
NAS	0.1	1.6	28
2,5-MNA	0.3	4.8	27
4-NT	0.1	1.6	28

<sup>1</sup>Weight per punch: 35 mg.

The respective standard deviation (SD) of the values is indicated in this table.

# Pigment noir et hydrocarbures aromatiques

- Noir : oxyde de fer, carbone et suies
- Analyse de 19 encres noires achetées chez des vendeurs spécialisés (HPLC, spectrométrie)
  - Sélection de 20 HAP (hydrocarbures polycyclique aromatiques) de références
  - 16 HAP détectés
  - 5 HAP sont carcinogènes 2B, 1 (2A) et 1 (1)
  - [HAP] maximum totale moyenne = 201,1 +/- 19,5 µg/g
    - 0,1 µg/g (dibenzo[a,h]anthracene)
    - 24,5 µg/g (phenanthrene)
  - [phénols] maximale = 385 µg/g
- Estimation pour un tatouage de 400 cm<sup>2</sup>
  - Fourchette haute 2,53 mg/cm<sup>2</sup>: injection de 402 µg (PAH), 770 µg (phénol)

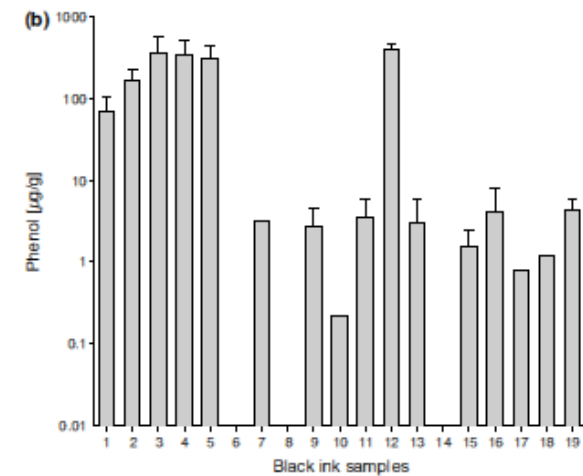
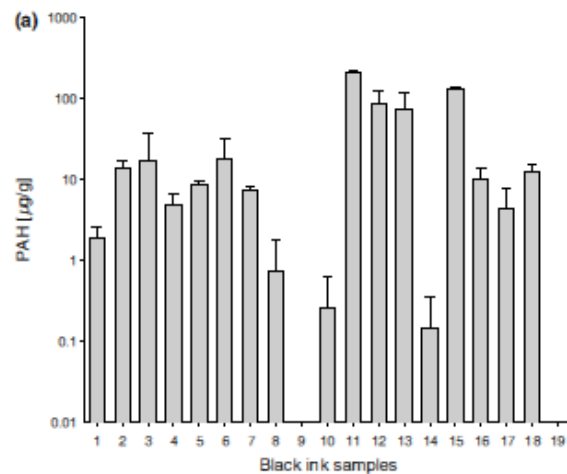
**Table 1.** PAHs found in black tattoo inks

PAHs <sup>1</sup>	Mean value extracted [ $\mu\text{g/g}$ ]	Mean daily dietary intake (49) [ $\mu\text{g/person}$ ]	Carcinogenicity USEPA (7)	Toxicity TEF (35)
Phenanthrene (12)	24.5 $\pm$ 6.0	1.54	D	0.001
Acenaphthylene (8)	14.5 $\pm$ 5.5	0.13	D	0.001
Benzo[b]fluoranthene (2)	4.5 $\pm$ 4.3	<b>0.04</b>	<b>B2</b>	0.1
Pyrene (12)	4.4 $\pm$ 0.8	0.35	D	0.001
Anthracene (8)	3.3 $\pm$ 0.8	0.07	D	0.01
Fluoranthene (14)	2.8 $\pm$ 1.0	0.35	D	0.001
Chrysene (4)	1.7 $\pm$ 0.8	<b>0.11</b>	<b>B2</b>	0.01
Benzo[a]anthracene (6)	1.6 $\pm$ 0.2	<b>0.05</b>	<b>B2</b>	0.1
Benzo[ghi]perylene (3)	1.2 $\pm$ 1.5	0.05	D	0.01
Indeno[1,2,3-cd]pyrene (2)	1.1 $\pm$ 1.0	<b>0.03</b>	<b>B2</b>	0.1
Acenaphthene (8)	0.9 $\pm$ 0.3	0.98	<sup>2</sup>	0.001
Fluorene (6)	0.9 $\pm$ 0.2	0.59	D	0.001
Benzo[k]fluoranthene (2)	0.4 $\pm$ 0.2	<b>0.01</b>	<b>B2</b>	0.1
Benzo[a]pyrene (4)	0.3 $\pm$ 0.2	<b>0.04</b>	<b>B2</b>	1.0
Naphthalene (7)	0.3 $\pm$ 0.1	<sup>2</sup>	<b>C</b>	0.001
Dibenzo[a,h]anthracene (1)	0.1 $\pm$ 0.1	<b>0</b>	<b>B2</b>	1.0

<sup>1</sup>The number in brackets indicate the total number of inks in which the respective PAH was found.

<sup>2</sup>Data not available.

The bold characters highlight the probable or possible carcinogenic PAHs.

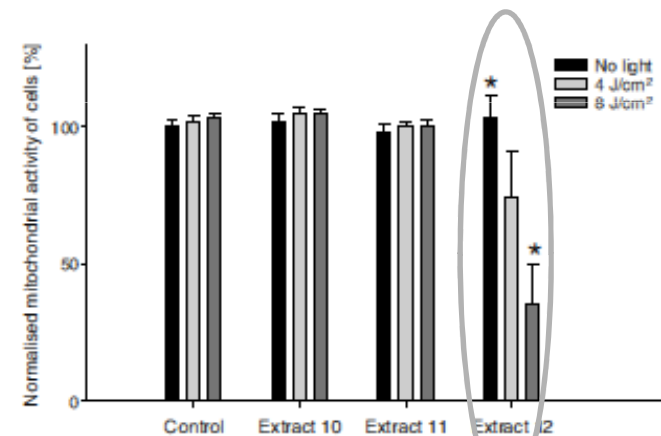




# Carcinogénicité des Hydrocarbures aromatiques dans la peau?

- Inconnue actuellement après tatouage et vraisemblablement inexistante (utilisé depuis des siècles ...)
- Tatouage ≠ inhalation, apport alimentation ou application cutanée
- Persistance au long cours dans le derme  
Transport ganglionnaire : 30%

- Incubation de kératinocytes humains avec 3 extraits d'encre avec diverses concentrations de HAPs
- Irradiation par des UVA (330-400 nm), 4-8 J/cm<sup>2</sup>
- Réaction phototoxique avec une encre / 3
- Conséquence *in vivo* en cas d'encre noire dans la peau d'un tatoué avec expositions solaires répétées ?
- Limites
  - Conditions *in vitro*
  - Utilisation d'UVA
  - *In vivo*, les kératinocytes ne sont pas en contact direct avec les encres (derme)



**Figure 3.** Phototoxicity of PAHs. When comparing to dark control (black bar: no light, no extract), mitochondrial activity of cells did not change after incubation with diluted ink extracts and UVA irradiation for inks 10 and 11. The mitochondrial activity of cells decreased with increasing light dose for black ink sample #12 (black: control, red: 4 J/cm<sup>2</sup>, green: 8 J/cm<sup>2</sup>). The decrease in mitochondrial activity (asterisk) was statistically significant ( $P \leq 0.05$ ) for 8 J/cm<sup>2</sup> when compared to dark control (black bar: without light, with extract). This specific ink sample contained a mixture of PAHs that effectively absorb UVA radiation and exhibit high values of singlet oxygen quantum yield  $\Phi_{\Delta}$  at the same time.

# Pigments et nanoparticules

- Etude sur différents pigments du commerce: évaluation de l'existence de nanoparticules
- Pigments divisés en trois groupes:  
Noir: plus petites particules  
Pigments colorés: taille intermédiaire  
Blanc plus grande taille
- Pigments testés contiennent NP sauf blanc  
Noir quasi que des nanoparticules <100 nm
- Notion récente mais existence vraisemblablement ancienne....  
-> Nanotoxicologie ?

# Toxicité, Carcinogénicité: tout est question de quantité

- Furanes: aucune réglementation ne fixe de teneurs maximales autorisées dans les denrées alimentaires. En l'absence de réglementation, les capsules de café ont été récemment mises en cause pour la présence de furanes. Mais « plusieurs actions tels l'apport d'air frais lors de la torréfaction des graines (ou l'agitation du café à l'aide d'une cuillère) permet de réduire drastiquement le niveau de contamination. »



- L'OMS a classé en mai 2011 les champs électromagnétiques radiofréquences (de 9 à 300 GHz) comme "*peut-être cancérigènes*". En 2009, selon l'Anses, les travaux de recherche disponibles ne permettaient pas d'identifier un mécanisme d'effet non thermique



# Ecueils et questionnements

- Etudes *in vitro* majoritairement +++
- Vision toxicologique loin de la pertinence clinique
- Y – a – t’il
  - un risque lié à l’exposition aux UV des tatouages ?
  - un risque après détatouage laser ?
  - un risque d’intoxication chronique par des sels métalliques ?
  - un risque particulier chez les personnes tatoués « corps entier » ?

- La plupart des pigments et colorants ont une utilisation primitive autre que le tatouage (alimentaire, industrie)
- Aux Etats-Unis, les colorants additifs nécessitent un accord FDA avant mise sur le marché Mais aucun pigment n'a été approuvé pour être utilisé spécifiquement dans les encres de tatouages

- **Resolution ResAP(2008)1**

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)



- **Régulation débutante européenne**

Règles de bonne pratique concernant la fabrication des pigments comme en France ou en Suisse, aucun arsenal législatif ne permet actuellement d'en assurer le contrôle.

(Arrêté du 15 septembre 2010 pris pour l'application de l'article L. 513-10-3 du code de la santé publique relatif aux bonnes pratiques de fabrication des produits de tatouage)

## ARRETE

# Arrêté du 6 mars 2013 fixant la liste des substances qui ne peuvent pas entrer dans la composition des produits de tatouage

NOR: AFSP1306308A

Ne peuvent pas entrer dans la composition des produits de tatouage :

1° Les substances classées **cancérogènes, mutagènes et reprotoxiques (CMR) 1A, 1B, 2 et sensibilisantes de catégorie 1** par le règlement modifié (CE) n° 1272/2008 modifié relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges et ses modifications publiées au Journal officiel de l'Union européenne, notamment l'annexe VI, partie 3, tableau 3.1 « Liste des classifications et étiquetages harmonisés de substances dangereuses, figure dans le volume III a distinct » et le tableau 3.2 « Liste des classifications et étiquetages harmonisés des substances dangereuses, provenant de l'annexe I de la directive 67/548/ CEE, figure dans le volume III b distinct » ;

2° Les substances énumérées en annexe de l'arrêté du 6 février 2001 modifié fixant la liste des substances qui ne peuvent entrer dans la composition des produits cosmétiques ;

3° Les substances reconnues comme étant sensibilisantes au vu des avis rendus par le Comité scientifique pour la sécurité des consommateurs dans les teintures capillaires, listées en annexe de l'arrêté du 6 février 2001 modifié fixant la liste des substances qui ne peuvent être utilisées dans les produits cosmétiques en dehors des restrictions et conditions fixées par cette liste ;

4° Les substances listées aux colonnes 2 à 4 de l'annexe de l'arrêté du 6 février 2001 modifié fixant la liste des colorants que peuvent contenir les produits cosmétiques ;

5° Les substances CMR et sensibilisantes figurant en annexe dans la partie « Critères concernant les procédés et les substances chimiques » : le point 22 a concernant les colorants cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction qui ne doivent pas être utilisés et le point 23 concernant les colorants potentiellement sensibilisants, de la décision 2002/371/ CE de la Commission du 15 mai 2002 établissant les critères d'attribution du label écologique communautaire aux produits textiles et modifiant la décision 1999/178/ CE ;

6° Les substances listées au tableau 1 « Liste des colorants organiques reconnus comme étant cancérogènes » et au tableau 2 « Liste des amines aromatiques ayant un potentiel cancérogène » de l'avis du Comité scientifique pour la sécurité des consommateurs (SCCNFP/0495/01, final) 1, adopté le 27 février 2002 ;

7° Les substances listées au tableau 1 « Liste des amines aromatiques qui ne doivent pas être présentes dans les produits servant au tatouage et au maquillage permanent ni libérées par les colorants azoïques, en particulier en raison de leurs propriétés cancérogènes, mutagènes, reprotoxiques et sensibilisantes » et au tableau 2 « Liste non exhaustive de substances qui ne doivent pas être présentes dans les produits servant au tatouage et au maquillage permanent en raison de leurs propriétés cancérogènes, mutagènes, reprotoxiques et/ ou sensibilisantes (BC/ CEN/97/29.11) » de la résolution ResAP (2008) 1 du Conseil de l'Europe sur les exigences et les critères d'innocuité des tatouages et des maquillages permanents (remplaçant la résolution ResAP (2003) 2 sur les tatouages et les maquillages permanents), adoptée par le Comité des ministres le 20 février 2008

# Direction Générale de santé

- « Il est bien précisé que « ne peuvent entrer dans la composition des produits de tatouage [...] les substances listées aux colonnes 2 à 4 de l'annexe de l'arrêté du 6 février 2001 modifié fixant la liste des colorants que peuvent contenir les produits cosmétiques ». En conséquence, seuls les colorants des colonnes 2 à 4 sont interdits dans les produits de tatouages. Les colorants dans la colonne 1 de cette même annexe peuvent être utilisés, de même que toute autre substance entrant dans la composition des produits de tatouages, *dès lors que ces substances ont fait l'objet d'une évaluation de leur innocuité par le fabricant d'encre ou le responsable de la mise sur le marché* ».



# Perspectives

- Etudes nécessaires en situation réelle, *in vivo*
  - de la quantité de pigment introduit
  - du devenir chimique des produits introduits
  - de la concentration et de l'action des produits de dégradation
  - de la pertinence biologique *in vivo* des données précédentes du devenir des pigments après détatouage laser
- Suivi de cohortes de tatoués (analyse sanguine, biopsies, registre des cancers)
- Et surtout adopter des listes consensuelles définissant spécifiquement les pigments qui peuvent être autorisés plutôt que des critères d'exclusion qui évolueront toujours en retard par rapport aux nouveaux développements industriels et à la « réactivité » des fabricants de pigments



Merci de votre  
attention