

Keuringsdienst van Waren

Kleurstoffen voor Tatoeage en Permanente Make-Up

Een oriënterend onderzoek naar:

- chemische en microbiologische samenstelling
- wetgeving

Rapportnummer ND COS 012

drs. H.R. Reus en drs R. D. van Buuren

Keuringsdienst van Waren, Noord
Postbus 465
9700 AL Groningen

Telefoon : 050-5886000
Telefax : 050-5886100
e-mail : nd@kvw.nl
internetsite : www.keuringsdienstvanwaren.nl

november, 2001

INHOUDSOPGAVE

BLZ

SUMMARY

SAMENVATTING EN TREFWOORDEN

1.	INLEIDING	1
2.	DOEL VAN HET ONDERZOEK	2
3.	TATOEAGE	2
3.1.	Algemeen	2
3.2.	Soorten tatoeages	3
3.2.1.	Decoratieve tatoeages	3
3.2.2.	Cosmetische tatoeages	3
3.2.3.	Traumatische tatoeage	3
3.2.4.	Medische tatoeage	4
3.3.	Neveneffecten	4
3.3.1.	Verwijderen van tatoeages of PMU	4
4.	GRONDSTOFFEN	5
5.	WETGEVING	7
5.1.	De Wet op de Geneesmiddelenvoorziening (WOG)	7
5.2.	De Wet Milieugevaarlijke stoffen (WMS)	7
5.3.	De Warenwet (Warenwetbesluit Kosmetische Produkten)	7
5.4.	De Warenwet (artikel 18c)	7
5.5.	Wettelijke eisen voor azo-kleurstoffen en metalen	8
6.	OPZET EN WERKWIJZE	8
7.	METHODEN VAN ONDERZOEK	8
7.1.	Microbiologisch onderzoek	8
7.2.	Chemisch onderzoek	9
7.2.1.	Azo-kleurstoffen	9
7.2.2.	Zware metalen	9
8.	RESULTATEN	10
8.1.	Microbiologisch onderzoek	10
8.1.1.	Dichte en geopende verpakkingen	11
8.2.	Chemisch onderzoek	11
8.2.1.	Azo-kleurstoffen	11
8.2.2.	Zware metalen	12
9.	DISCUSSIE	16
9.1.	Microbiologische veiligheid	16
9.2.	Azo-kleurstoffen	17
9.3.	Zware metalen	18
9.4.	Handhaving wettelijke voorschriften	18
10.	CONCLUSIES	19
11.	LITERATUURLIJST	20

Bijlage 1

Bijlage 2

Bijlage 3

Bijlage 4

Bijlage 5

Bijlage 6

Summary

This report describes the results of a study on the chemical composition and the microbiological condition of tattoo- and permanent make-up (PMU) colorants.

In the period May-July the Inspectorate for Health Protection visited eight tattooshops, one beauty centre and three suppliers of colorants and took 63 samples of colorants from opened and unopened containers. The samples were analysed for the presence of carcinogenic aromatic amines which are prohibited in textiles and footwear, and for the presence of the metals lead, cadmium, nickel, chromium, cobalt, strontium, barium, manganese and zinc. In addition, the samples were also examined for the total bacteria count, the presence of pathogenic bacteria, yeasts and moulds.

Eleven samples (18%) were microbiologically contaminated; eight samples originating from opened colorant containers and three originating from unopened containers. In none of the samples yeasts and moulds were detected. In seven samples more than 100.000 bacteria/ml were found. Six samples contained the species *Pseudomonas*. The pathogen *Pseudomonas aeruginosa* has been identified in three samples. Intra-dermal injection of these contaminated colorants could result in serious infections.

Azo dyes, based on carcinogenic aromatic amines, were identified in 10 samples (17%). The carcinogenic aromatic amines o-toluidine, o-anisidine, toluenediamine and dichlorobenzidine were detected. The removal of a tattoo or permanent make-up by means of a laser treatment might result in decomposition of azo dyes into these aromatic amines. Further investigation has to demonstrate the effect of a laser treatment on intra-dermal localised azo dyes.

Several samples contained one or more (heavy) metals in high concentrations. The effect of these metals on consumers' health has to be studied in the near future.

Taking into account the microbiological contamination and the presence of harmful chemicals, it is obvious that tattoos or permanent make up may cause certain risks.

At the moment there is no specific legislation for marketing (safe) colorants for tattoos or permanent make-up in the Netherlands nor in the EU. There is also no legislation concerning working procedures like hygienic management. Considering the increasing popularity of having a tattoo or permanent make-up and the chemical and microbiological condition of the colorants, specific legislation is needed.

Samenvatting en trefwoorden

In dit rapport worden de resultaten beschreven van een onderzoek naar de chemische samenstelling en de microbiologische gesteldheid van kleurstoffen, welke gebruikt worden bij het tatoeëren en bij het aanbrengen van permanente make-up.

In samenwerking met de GG&GD's Amsterdam en Keuringsdienst van Waren Noord zijn in het voorjaar van 2001, 8 tatoeageshops en een schoonheidsinstituut bezocht, alsmede 3 leveranciers van kleurstoffen. In totaal zijn monsters genomen van 63 geopende en ongeopende verpakkingen kleurstof. De monsters zijn onderzocht op het voorkomen van (in textiel, schoeisel en beddengoed verboden) kankerverwekkende aromatische amines, alsmede op de aanwezigheid van de metalen lood, cadmium, cobalt, strontium, barium, nikkel, zink chroom en mangaan. Tevens zijn alle monsters microbiologisch onderzocht op algemeen kiemgetal, pathogenen, gisten en schimmels.

Uit het onderzoek is gebleken dat 11 monsters (18%) microbiologisch besmet zijn. Hiervan zijn 8 monsters afkomstig uit een (geopende) gebruikersoplossing en 3 monsters uit een ongeopende verpakking. In 7 monsters worden meer dan 100.000 kiemen/ml aangetoond, hetgeen als een ernstige besmetting moet worden beschouwd. In 6 van de besmette monsters worden bacteriën aangetroffen van de species *Pseudomonas*. De pathogeen *Pseudomonas aeruginosa* is 3 keer aangetoond. Het intradermaal injecteren van dergelijke besmette kleurstoffen kan leiden tot ernstige ontstekingsreacties.

Uit het chemisch onderzoek is gebleken, dat in 10 monsters (17%) azo-kleurstoffen voorkomen, die opgebouwd zijn uit kankerverwekkende aromatische amines. Aangetoond zijn o-toluidine, o-anisidine, toluendiamine en dichloorbenzidine. Indien een tatoeage of een permanente make-up wordt verwijderd middels een laserbehandeling zouden de azo-kleurstoffen weer kunnen ontleden in deze kankerverwekkende aromatische amines. In een nadere studie dient onderzocht te worden wat de mogelijke effecten zijn van het verwijderen van een tatoeage of permanente make-up middels een laser.

Onderzoek naar de aanwezigheid van (zware) metalen laat zien dat in vele kleurstoffen een of meerdere (zware) metalen, in soms hoge concentraties, aanwezig zijn. Het is op dit moment niet bekend wat de mogelijke gezondheidsrisico's zijn van deze concentraties metalen.

Uit het onderzoek blijkt dat het zetten van een tatoeage of het aanbrengen van een permanente make-up uit microbiologisch en chemisch oogpunt zeker niet zonder risico is. Gezien de toenemende populariteit van tatoeages en permanente make-up, waardoor dagelijks duizenden consumenten risico's lopen, is het dringend gewenst regelgeving te laten genereren voor deze branche.

Uit het onderzoek is gebleken dat er momenteel geen wettelijke regeling is voor het (veilig) op de markt brengen van kleurstoffen voor het tatoeëren en permanente make-up. De huidige regelgeving is ontoereikend voor bedrijven die zich bezig houden met het zetten van een tatoeage of permanente make-up.

Met name de werkwijze (het tatoeëren zelf, maar ook de hygiëne) in de tatoeageshops laat nogal eens te wensen over. Optreden tegen misstanden is door het ontbreken van specifieke wetgeving vaak moeilijk.

TREFWOORDEN

Tatoeagekleurstof, permanente make-up (PMU), microbiologie, azo-kleurstof, zware metalen

1. INLEIDING

Het woord tatoeage is afgeleid van het Engelse woord "tattoo", dat op zijn beurt afkomstig is van het Tahitiaanse woord "tatu", dat merken betekent. De oudst bekende tatoeage dateert van ca. 8000 v.C. en is ontdekt op een Egyptische priesteres. Tatoeages worden wereldwijd door verschillende culturen gebruikt om uiteenlopende redenen variërend van sociaal culturele tot puur cosmetische aspecten.

In Europa werden tatoeages in het verleden voornamelijk aangebracht bij zeelieden, tegenwoordig is het laten zetten van een tatoeage vooral een rage bij jongeren. Een variant van het tatoeëren is de (semi) permanente make-up (PMU). Deze techniek wordt als specialisatie binnen het schoonheidsinstituut uitgevoerd. Deze "make-up" is minder persistent dan de originele tatoeage; waar tatoeages levenslang zichtbaar blijven, vervagen of vervaagt de semi permanente make-up na een aantal jaren.

In Nederland bevindt zich een relatief groot aantal tatoeage shops (circa 1000) en een zeer snel groeiend aantal schoonheidssalons (nu reeds circa 1500) dat zich bezig houdt met PMU. Dagelijks worden er bij enige duizenden mensen tatoeages geplaatst of permanente make-up aangebracht.

De vestigingsvergunningen voor een tatoeage shop worden verstrekt door de gemeenten, waarbij de GG&GD's toezicht kunnen houden op deze shops, indien de gemeenten dit vastleggen in een gemeenteverordening. Deze toezichthoudende taken zijn echter beperkt; optreden is zeer beperkt mogelijk door deze instantie. De mogelijkheden van landelijke opsporingsorganisaties, zoals de Keuringsdienst van Waren en de Inspectie Gezondheidszorg, zijn eveneens beperkt.

De GG&GD Amsterdam heeft voor haar toezichthoudende taken in de tatoeage- en piercingshops van Amsterdam hygiënerichtlijnen opgesteld ^(i,ii). Deze richtlijnen zijn landelijk door de GG&GD's overgenomen en fungeren thans als leidraad voor toezicht op de hygiëne in deze branche.

Daarnaast beschikken de schoonheidsspecialisten over een hygiëncode met een bijlage over tatoeëren en piercen ⁽ⁱⁱⁱ⁾.

Uit onderzoek van de GG&GD Amsterdam is gebleken dat de Amsterdamse tatoeage- en piercingstudio's in grote lijnen wel aan de inrichtingseisen voldoen, maar dat het hygiënisch werken de nodige zorgen baart. Uit het onderzoek is namelijk gebleken, dat men nauwelijks kennis van zaken heeft over reinigen, desinfecteren en steriliseren ^(iv). Een kleine steekproef van de Keuringsdienst van Waren naar het gebruik van desinfectiemiddelen heeft dit beeld bevestigd. In meer dan 50% van de bezochte bedrijven blijkt gewerkt te worden met desinfectiemiddelen die niet aan de wettelijke eisen voldoen ^(v).

Uit een Duits onderzoek, uitgevoerd aan 23 rode en gele kleurstoffen is gebleken dat in 20 ervan Azo-kleurstoffen voorkomen die kunnen leiden tot de vorming van kankerverwekkende aromatische amines ^(vi). Het gebruik van deze kleurstoffen is in Nederland verboden in kleding, schoeisel en beddengoed ^(vii).

Verder werden in de onderzochte kleurstoffen zware metalen, zoals nikkel en lood aangetroffen.

Nederlandse tatoeëerders hebben verdeeld gereageerd op de resultaten van het Duitse onderzoek (^{viii}). Volgens een aantal tatoeëerders zijn er niet of nauwelijks problemen met de tatoeagepigmenten, aangezien er bijna geen klachten gemeld worden. Omdat alleen "natuurlijke" kleurstoffen gebruikt worden zou het tatoeëren veilig zijn. Tevens zou een tatoeage de huid juist beschermen tegen UV-straling. Andere tatoeëerders meldden wel allergische reacties (roodheid, jeuk, ontstekingen) als gevolg van gekleurde pigmenten. Deze tatoeëerders gebruikten daarom alleen nog maar zwarte pigmenten.

Klachten met betrekking tot tatoeages worden in het medische circuit niet systematisch gemeld en behandeld. Daar weinig bekend is over de aard van de gebruikte kleurstoffen, hebben dermatologen en de GG&GD Amsterdam de Keuringsdienst van Waren benaderd om onderzoek te doen naar de samenstelling en de veiligheid van deze kleurstoffen.

De hoofdinspecteur non-food heeft de KvW Noord dringend verzocht hier aandacht aan te besteden^{ix}

Bij het verwijderen van een tatoeage met behulp van de lasertechniek worden de kleurstoffen vrijgemaakt en zullen vervolgens in het lichaam worden opgenomen. De kleurstoffen en/of afbraakproducten zullen gedeeltelijk worden uitgescheiden dan wel opgeslagen in organen.

2. DOEL VAN HET ONDERZOEK

Het doel van het onderzoek is geweest gegevens te verzamelen over de chemische en microbiologische veiligheid van kleurstoffen voor tatoeage en semi permanente make-up. Tevens is getracht tijdens de inspectie informatie te achterhalen over de samenstelling van de bemonsterde kleurstoffen. Ook wordt geïnventariseerd op basis van welke wetgeving de overheid zou kunnen optreden tegen het toepassen van schadelijke kleurstoffen.

3. TATOEAGE

3.1. Algemeen

Tatoeages zijn het resultaat van intradermale injecties van kleurpigmenten in de dermis van de huid. De kleurpigmenten (inkten) worden door een oscillerende naald op een gelijke diepte in de dermis aangebracht. Afhankelijk van de plaats van de tatoeage varieert de diepte van de perforatie van 0,5 tot 2 millimeter.

De kleurpigmenten bevinden zich voornamelijk in de intradermale ruimten van de dermis en zijn grotendeels omgeven door een membraan waardoor de pigmenten niet uit de dermis kunnen diffunderen.

Naast de voornaamste kleur zwart, waarmee meestal de contouren worden gezet, is een uitgebreid kleurenpallet beschikbaar. De meeste kleuren zijn afkomstig van metaalzouten, waarbij de elementen ijzer, chroom, titanium, cobalt, kwik, cadmium, koper, zink en mangaan de voornaamste zijn.

Alhoewel de tatoeëerder kan kiezen uit vele (meer dan 150 !) kleuren van meerdere aanbieders, hebben de meeste tatoeëerders en schoonheidsspecialisten slechts een beperkt aantal kleuren in huis. Een ervaren tatoeëerder of schoonheidsspecialist kan "alle" benodigde kleuren maken (mengen, indikken) uit een basisset van circa 7 kleuren. In de praktijk blijkt dan ook dat slechts een beperkt aantal kleuren voorhanden is bij de tatoeëerders en schoonheidsspecialisten.

3.2. Soorten tatoeages

Tatoeages zijn in 4 hoofdcategorieën onder te verdelen(*).

3.2.1. Decoratieve tatoeages

Tatoeages welke voor de "sier" worden aangebracht worden decoratieve tatoeages genoemd. Deze tatoeages kunnen voorkomen op meerdere lichaamsdelen. In het algemeen worden die lichaamsdelen gebruikt die een dikke dermis hebben, zoals de benen en armen. In een dergelijke dermis is het weglekken vanuit de dermis naar het systeem (bloed) tot een minimum beperkt zodat de tatoeage tientallen jaren blijft zitten.

3.2.2. Cosmetische tatoeages

Vanaf 1984 worden cosmetische tatoeages geplaatst. In beginsel werden deze tatoeages aangebracht bij vrouwen ter vervanging van een onderontwikkelde of niet aanwezige gelaatscontour. Al snel werd een aantal toepassingen populair zoals de permanente eyeliner, de lipcontour en de getatoeëerde wenkbrauw. Deze zogenaamde Semi Permanente Make-up (PMU) blijft circa 3 tot 6 jaar scherp en goed zichtbaar. Daarna vervaagt de tatoeage snel, maar bijna nooit volledig. Dit wordt veroorzaakt doordat de dermis van de hoofdhuid relatief dun is. Deze "dunne" dermis is minder goed in staat de geïnjecteerde kleurpigmenten vast te houden waardoor na een aantal jaren het merendeel van de pigmenten uit de dermis is verdwenen.

Een tweede groep van cosmetische tatoeages zijn de tatoeages waarbij huidaandoeningen als littekens en hyperpigmentatie kunnen worden gecamoufleerd. Ook bij post-operatieve reconstructies spelen de cosmetische tatoeages een steeds grotere rol. Het tatoeëren van een tepel na een borstoperatie is een bekende behandeling.

3.2.3. Traumatische tatoeage

De huid kan ook "getatoeëerd" worden door middel van een mechanische penetratie. Een explosie of wondjes veroorzaakt door scherpe punten kan er voor zorgen dat kleine partikels zich min of meer irreversibel in de huid nestelen. Buskruittatoeages bij schutters en metaalpartikels bij metaalbewerkers zijn voorbeelden van traumatische tatoeages.

3.2.4. Medische tatoeage

Bij de behandeling van een chronische aandoening, waarbij consequent een bepaald gedeelte van de huid (of het er onder liggende weefsel) behandeld moet worden, kan een scherp afgebakend segment van de huid middels tatoeage worden gemarkeerd.

3.3. Neveneffecten

Bij het aanbrengen van een tatoeage of een PMU neemt de consument een aantal risico's, die echter volledig geaccepteerd lijken te worden^(xi). Het aantal klachten bij tatoeëerders en artsen is namelijk gering. Uiteraard is de huid geïrriteerd na de behandeling, maar deze irritatie zal geen weken mogen duren. Toch blijkt dat patiënten slechts in extreme gevallen een huisarts of dermatoloog zullen bezoeken.

De huid wordt bij het aanbrengen van een tatoeage of een PMU duizenden keren gepenetreerd met een injectienaald, waardoor de kans op besmetting met bacteriën en/of virussen groot is. Om deze kans te verkleinen moeten derhalve de nodige hygiënische voorzorgsmaatregelen worden getroffen zoals het scheren en desinfecteren van de huid en het desinfecteren en steriliseren van de instrumenten^(xii,xiii,xiv,xv,xvi,xvii).

Ook kan een kleurstof in het lichaam afweermechanismen opwekken zoals toxische en/of immunologische reacties. Overgevoeligheid voor bepaalde typen kleurstoffen komt hierbij het meeste voor. Vooral de rode pigmenten zijn hiervoor verantwoordelijk. In extreme situaties kunnen irreversibele reacties zich manifesteren, zoals hyperpigmentatie en ooglidnecrose.

3.3.1. Verwijderen van tatoeages of PMU

Een mislukte tatoeage, een tatoeage van een "spijtoptant" of een cosmetische tatoeage kan redelijk goed worden verwijderd middels lasertherapie. Bij een dergelijke therapie worden de kleurpigmenten door de energie van een laserstraal met een bepaalde golflengte en pulsduur afgebroken tot kleine brokstukken. Het exacte mechanisme van de tatoeageverwijdering is nog niet bekend, maar men vermoedt dat de gefragmenteerde kleurpigmenten uit de dermis worden afgevoerd. Een andere verklaring zou kunnen zijn dat de optische eigenschappen van de kleurpigmenten veranderen door de fragmentatie. Voor het fragmenteren van de verschillende kleurpigmenten zijn telkens specifieke golflengten nodig.

Helaas is het niet altijd mogelijk een tatoeage of een PMU te verwijderen met behulp van de lasertherapie. Sommige pigmenten reageren onvoorspelbaar op de behandeling. Gerapporteerd zijn bevindingen waarbij rode en roodachtige pigmenten na behandeling zwart worden. Tevens kunnen als neveneffect immunologische afweerreacties ontstaan op de brokstukken van de pigmenten^(x)

4. GRONDSTOFFEN.

De kleurstoffen welke worden gebruikt voor tatoeages en PMU kunnen op meerdere wijzen worden verkregen. Enkele gespecialiseerde firma's in Nederland leveren speciaal aan tatoeëerders en schoonheidsspecialisten. Deze firma's importeren zowel kant-en-klare oplossingen als vaste kleurpigmenten. De vaste kleurpigmenten worden vervolgens door de importeur opgelost, afgevoerd en in de handel gebracht. Voorzover bekend worden veel van deze pigment-oplossingen niet geconserveerd omdat met er blijkbaar van uit gaat dat deze kleurstofoplossingen (een mengsel van water, alcohol en glycerol) geen geschikte voedingsbodems voor micro-organismen zijn.

Via het internet kan ook een groot aantal tatoeage kleurstoffen besteld worden. In dit onderzoek worden de mogelijkheden en de omvang er van niet nader bestudeerd.

Een zeer beperkt aantal kleurpigmenten wordt gebruikt voor de medische (cosmetische) tatoeage. Het gaat hierbij om kleurpigmenten die worden gebruikt in cosmetica en in het kader van de cosmetica-wetgeving uitvoerig zijn gescreend op toxiciteit, allergeniteit, (foto)stabiliteit en op het (niet) leiden tot complicaties bij gebruik **op** de huid. Bij deze beoordeling gaat men uit van een effect op de huid en een mogelijke permeatie van de pigmenten door de huid. Afhankelijk van deze permeatie wordt de systemische belasting toxicologisch beoordeeld.

Deze kleurpigmenten zijn echter niet gescreend op genoemde eigenschappen **in** de huid waardoor kan worden gesteld dat de veiligheid van deze kleurpigmenten niet is gegarandeerd. De gebruikte componenten voor deze toepassing zijn voornamelijk ijzeroxides en titaniumdioxide.

De aard van de kleurstoffen die bij het tatoeëren gebruikt wordt is zeer gevarieerd. De oudste stof die gebruikt wordt voor het tatoeëren is koolstof, afkomstig van de as van verbrandingsprocessen. Later zijn hier plantaardige kleurstoffen en Oost-Indische inkt aan toegevoegd. Ook de kleurpigmenten op basis van metaalionen bleken al snel geliefd bij de tatoeëerders vanwege de helderheid van deze pigmenten. Tegenwoordig wordt veel geëxperimenteerd met gesynthetiseerde kleurstoffen gezien de grote verscheidenheid aan mogelijke kleuren en hun verwachte (foto)stabiliteit.

Uit een Noorse studie^(xviii) kan worden afgeleid dat kleurstoffen voor tatoeëren en PMU verdeeld kunnen worden in de volgende groepen:

A. Organische kleurstoffen

De organische kleurstoffen kunnen hierbij grofweg worden onderverdeeld in de volgende categorieën:

- Natuurlijke kleurstoffen, zoals Brazilin (rood), Curcumin (geel), Indigo (blauwviolet) en Santalin (rood).
- Organometaalverbindingen, zoals bepaalde koper-phtalocyaninederivaten. Deze vormen blauwe en groene kleurstoffen.
- Overige kleurstoffen, zoals Rhodamine B (violet) en Erythrosine (rood).

- Azo-kleurstoffen. Dit zijn stoffen die een $-N=N-$ binding bezitten en op grond van de verdere chemische structuur verschillende kleuren kunnen aannemen. (De Azo-kleurstoffen kunnen door ontleding aromatische amines vormen. Van een aantal aromatische amines is wetenschappelijk bewezen dat deze carcinogene eigenschappen bezitten.

B. Anorganische kleurstoffen

Anorganische verbindingen bevatten een of meerdere metaalionen. De aanwezigheid van 1 specifiek metaalion is hierbij verantwoordelijk voor de kleur van een bepaald pigment.

Door het mengen van pigmenten kan vervolgens elke gewenste kleur verkregen worden.

Zo wordt in de praktijk onder andere gebruik gemaakt van de in tabel 1 opgenomen metaalionen. Deze tabel geeft een indicatie van de aard van de kleuren en kan niet gezien worden als een totaal overzicht.

In veel gevallen gaat het hierbij om de oxiden.

Tabel 1: Globaal overzicht van de van oudsher bekende relatie tussen verschillende metaalionen en de kleur van een tatoeagekleurstof.

Metaal	Kleur
Zink (als oxide)	Wit
Lood (als oxide)	Wit
Titanium (als oxide)	Wit
Kwik (als sulfide)	Rood
Chroom(VI) (als oxide)	Rood
Cobalt (als aluminaat)	Blauw
Chroom(III) (als oxide of gehydrateerd oxide)	Groen
Cadmium (als sulfide)	Geel
Mangaan (als div.zouten)	Paars
Koper (I) (div. zouten)	Bruin/goud
Ijzer (als oxide)	Bruin

Van deze metalen kan gesteld worden dat cadmium en lood nephro- en neurotoxisch zijn en accumuleren in het lichaam. Chroom en nikkel zijn frequente allergenen.

Bariumsulfaat wordt veelal als hulpstof aan oplossingen of suspensies van organische pigmenten toegevoegd teneinde de organische moleculen hier aan te laten hechten.

5. WETGEVING

In diverse publicaties van het Wetenschappelijk Comité voor cosmetica en niet-levensmiddelen (het SCCNFP^{xix} in Brussel) en van de Raad van Europa (de CoE^{xx} in Strassbourg) wordt aangegeven dat er lacunes zitten in de Europese en lidstaat-wetgeving met betrekking tot kleurstoffen voor tatoeage^(xviii) en PMU^(xviii).

Voor wat betreft Nederland zijn de volgende wetten op de een of andere manier relevant bij het tatoeëren en het aanbrengen van een PMU, alsmede op de gebruikte kleurstoffen.

5.1. De Wet op de Geneesmiddelenvoorziening (WOG)

Het aanbrengen van een tatoeage of een PMU kan op grond van deze wet niet beschouwd worden als een medische handeling. De handeling heeft geen heilzame, herstellende en/of preventieve werking. De gebruikte kleurstoffen zijn dan ook niet te beschouwen als geneesmiddelen.

5.2. De Wet Milieugevaarlijke Stoffen (WMS)

De kleurstoffen die in de handel gebracht worden voor tatoeëren en PMU vallen binnen het bereik van deze wet. Dit houdt in dat alle producten geëtiketteerd dienen te worden conform de eisen welke deze wet stelt. In concreto betekent dit, dat gevaarsymbolen en R- en S-zinnen moeten worden vermeld op elke verpakkingseenheid, als het product binnen de gevaarsindeling van genoemde wet valt. Verder dient van elke kleurstof een veiligheidsinformatieblad voorhanden te zijn, waarin de specifieke gevaren in kaart zijn gebracht.

5.3. De Warenwet (Warenwetbesluit Kosmetische Producten)

Het Warenwetbesluit Kosmetische Producten regelt het op de markt brengen van cosmetische producten. Cosmetische producten worden in het betreffende besluit gedefinieerd als producten ter verfraaiing en verzorging/onderhouden van de huid, haren, tanden, nagels en externe slijmvliezen^(xxi). Deze definitie houdt in dat cosmetische producten alleen op de huid, haren, tanden, nagels en externe slijmvliezen worden aangebracht. Daar een tatoeage of een PMU intradermaal wordt aangebracht kunnen de hiervoor bestemde kleurstoffen niet als cosmetische producten worden beschouwd.

5.4. De Warenwet (artikel 18c)

Artikel 18c van de huidige Warenwet is een algemeen artikel dat het verhandelen van onveilige waren die geschikt of bestemd zijn voor gebruik in de privé-huishouding verbiedt, voorzover dit niet geregeld is in specifieke besluiten. Alhoewel de kleurstoffen voor tatoeage of PMU waren zijn in de zin van de Warenwet, het zetten van een tatoeage of PMU is dit niet omdat het een handeling (dienstverlening) betreft. Op dienstverlening aan de consument is artikel 18c van de Warenwet namelijk niet van toepassing.

5.5. Wettelijke eisen voor azo-kleurstoffen en metalen.

Binnen de Nederlandse wetgeving zijn uit volksgezondheidsoverwegingen verschillende eisen gesteld aan het voorkomen van azo-kleurstoffen en (zware) metalen. Deze eisen zijn zowel van toepassing op levensmiddelen als op bepaalde non-food producten. Voor tatoeage en PMU kleurstoffen is echter niets geregeld.

6. OPZET EN WERKWIJZE

De keuze voor de geselecteerde omvang van het uit te voeren chemisch onderzoek is gebaseerd op de algemene bezorgdheid voor de aanwezigheid van (voor de consument) schadelijke stoffen.

Op grond van deze bezorgdheid zullen de kleurstoffen voor tatoeage en PMU onderzocht worden op de aanwezigheid van azo-kleurstoffen, de (zware) metalen lood, cadmium, cobalt, nikkel, chroom en mangaan, alsmede de aardalkalimetalen barium en strontium.

Ter realisering van dit project is nauw samengewerkt met de GG&GD's van Amsterdam en Groningen.

Hiertoe zijn de volgende inspecties verricht:

- In samenwerking met de GG&GD Amsterdam zijn 6 tattoo-shops bezocht, alsmede 1 schoonheidsinstituut dat semi permanente make-up uitvoert;
- In samenwerking met GG&GD Groningen zijn 2 tattoo-shops bezocht;
- Er zijn 2 leveranciers van kleurstoffen voor semi permanente make-up bezocht;
- Er is 1 leverancier van kleurstoffen voor tatoeëerders bezocht.

Per inspectie zijn 5-6 monsters van de meest gebruikte kleurstoffen genomen. In totaal zijn 63 monsters kleurstoffen voor onderzoek genomen. Verder is tijdens de inspecties bij leveranciers van kleurstoffen navraag gedaan naar de aanwezigheid, dan wel de beschikbaarheid van veiligheidsinformatiebladen van deze kleurstoffen.

7. METHODEN VAN ONDERZOEK

Het onderzoek van de kleurstoffen is in twee delen opgesplitst, microbiologisch en chemisch onderzoek.

7.1. Microbiologisch onderzoek

De monsters zijn, in een 10^x - verdunning ingezet op gisten en schimmels, het (an)aeroob kiemgetal, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens* en Enterobacteriaceae.

Een uitgebreide beschrijving van de methode van onderzoek is te vinden in bijlage 1.

7.2. Chemisch onderzoek

Het chemisch onderzoek is gericht geweest op de aanwezigheid van azo-kleurstoffen en een aantal (zware) metalen.

7.2.1. Azo-kleurstoffen

De bepaling van aromatische amines afkomstig van Azo-kleurstoffen is gebaseerd op de Warenwetmethode ^(xxii) en een KvW methode ^(xxiii) en is daar waar nodig aangepast.

Een uitgebreide beschrijving van de methode van onderzoek is te vinden in bijlage 2.

7.2.2. Zware metalen.

Bij het onderzoek naar de aanwezigheid van zware metalen is gekeken naar het totale gehalte van de metalen lood, cadmium, cobalt, strontium, barium, nikkel, zink, chroom en mangaan.

Een uitgebreide beschrijving van de methode van onderzoek is te vinden in bijlage 3.

8. RESULTATEN

8.1. Microbiologisch onderzoek

Er zijn in totaal 63 monsters van kleurstoffen onderzocht op de aanwezigheid van gisten en schimmels, alsmede op het algemeen kiemgetal, zowel aerob als anaerob.

Alle resultaten van het onderzoek worden weergegeven in bijlage 4 en zijn samengevat in tabel 2.

Gisten en schimmels worden in geen van de onderzochte monsters aangetroffen.

In 7 monsters (11%) wordt een aerob kiemgetal $> 10^5$ /ml gevonden. Twee van deze 7 monsters hebben ook een (facultatief) anaerob kiemgetal $> 10^5$ /ml.

- In 6 monsters zijn bacteriën van de species *Pseudomonas* aangetoond.
- In 3 monsters (van bovengenoemde 6) wordt de pathogene bacterie *Pseudomonas aeruginosa* aangetroffen.
- In de overige 3 monsters worden de niet-pathogene bacteriën *Pseudomonas putida* en *Pseudomonas fluorescens* aangetroffen.

Tabel 2 Resultaten van het microbiologisch onderzoek, waarbij 63 kleurstoffen zijn onderzocht.

Onderzoek	Kiemgetal	Aantal	Percentage	Pathogeen
Aerob kiemgetal	10^2 - 10^3 / ml	1	2	
	10^3 - 10^4 / ml	0	0	
	10^4 - 10^5 / ml	3	5	
	$> 10^5$ / ml	7	11	
Anaerob kiemgetal Pseudomonas	$> 10^5$ / ml *	2	3	
	$> 10^5$ / ml *	6	10	
	Waarvan	3	5	<i>Pseud. aeruginosa</i>
		2	3	<i>Pseud. putida</i>
		1	2	<i>Pseud. fluorescens</i>

* Deze positieve monsters zijn ook positief op Aerob kiemgetal

De besmette monsters bleken allemaal tatoeage kleurstoffen te zijn. Geen van de 11 PMU monsters bevatten kiemen.

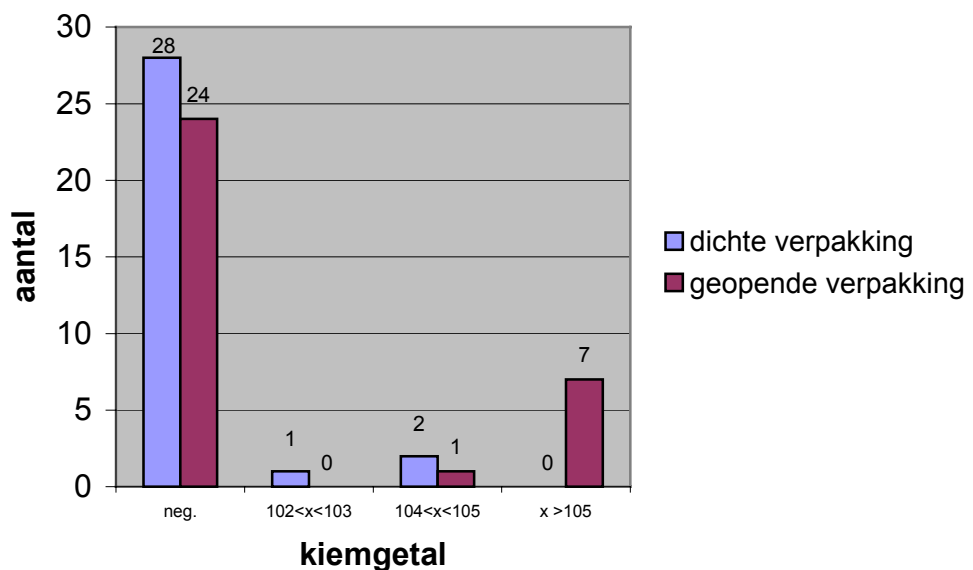
8.1.1. Dichte en geopende verpakkingen

Een onderverdeling van de kleurstoffen laat zien dat de kleurstoffen, welke bij bemonstering reeds geopend in de zaak stonden, microbiologisch gezien van aanzienlijk slechtere kwaliteit zijn dan de kleurstoffen afkomstig uit de dichte (gesloten) verpakkingen (grafiek 1).

Van de dichte verpakkingen bleken 3 monsters (10%) microbiologisch besmet te zijn en 28 monsters (90%) niet. Het maximale kiemgetal was hierbij $5 \cdot 10^4$ kve/ml.

Van de geopende verpakkingen bleek 1 monster (3%) een kiemgetal te hebben van $5 \cdot 10^4$ kve/ml en bleken 7 monsters (22%) meer dan $5 \cdot 10^5$ kve/ml te bevatten. 24 Monsters (75%) bleken geen kiemen te bevatten.

Grafiek 1: kiemgetallen in kleurstoffen



8.2. Chemisch onderzoek

8.2.1. Azokleurstoffen

Er zijn in totaal 60 monsters kleurstof voor tatoeage en PMU onderzocht op de aanwezigheid van (voor textiel, schoeisel en beddengoed verboden) aromatische amines. Een aantal stoffen uit de groep aromatische amines wordt als (verdacht) carcinogeen beschouwd en derhalve zeer schadelijk voor de gezondheid van de mens.

Tevens is onderzocht of de stof aniline voorkomt in de monsters. Aniline is ook een aromatisch amine, maar wordt nog niet als (verdacht) carcinogeen beschouwd. De stof aniline wordt momenteel echter wel nader bestudeerd, omdat er aanwijzingen zouden bestaan, dat de stof tumoren in de milt zouden kunnen veroorzaken^{xxiv,xxv}.

Uit het onderzoek is gebleken dat 11 (18%) monsters azo-kleurstoffen bevatten. Van deze monsters bevatten er 10 (17%) een of meerdere (verdacht) carcinogene aromatische aminen. Van de PMU kleurstoffen bleken 3 monsters (27%) positief en van de tatoeage kleurstoffen 7 (15%). Van de kleurstoffen die zowel voor de PMU als de tatoeage werden verkocht was 1 monster (16%) positief. Als (verdacht) carcinogene stoffen worden aangetroffen o-toluidine, o-anisidine, toluendiamine en dichloorbenzidine.

Tabel 3. Overzicht gehalten aniline en aromatische aminen in tatoeage en PMU kleurstoffen, uitgedrukt in mg/kg.

kleur	Aniline	o-toluidine	o-anisidine	Toluendiamine	Dichloorbenzidine	Tatoeage of PMU
Oranje	25			250	3400	Tatoeage
Oranje	24				1600	PMU
Oranje	19				600	Tatoeage
Oranje					50	Tatoeage
Rood			1	10		PMU
Rood	7				7	Tatoeage
Rood			17	24	13	Tatoeage
Rood	4				20	Tatoeage
Rood	3					PMU en Tatoeage
Roze		4				PMU
Groen			16			Tatoeage

8.2.2. Zware metalen

Er zijn in totaal 53 monsters onderzocht op de aanwezigheid van een van de in hoofdstuk 4 genoemde 9 (zware) metalen.

De resultaten van het chemisch onderzoek staan weergegeven in bijlage 5. De grafische weergave betreffende de zware metalen per kleurstof staat in bijlage 6. De voornaamste metalen staan hieronder weergegeven.

Mangaan komt voor in concentraties ≥ 10 mg/kg in bruine (7x), zwarte (2x), rode (1x) en gele (1x) kleurstoffen. Het maximaal gevonden gehalte bedraagt 3000 mg/kg in de rode kleurstof.

Nikkel komt voor in concentraties ≥ 10 mg/kg in 4 bruine kleurstoffen. Het maximaal gevonden gehalte bedraagt 35 mg/kg. In deze 4 bruine kleurstoffen komen zowel mangaan als nikkel voor.

Chroom komt voor in concentraties ≥ 5 mg/kg in bruine (3x) en zwarte (2x) kleurstoffen. Het maximaal gevonden gehalte bedraagt 12 mg/kg in 2 bruine kleurstoffen.

Strontium komt voor in concentraties ≥ 10 mg/kg in oranje (3x), rode (1x), gele (1x), zwarte (1x) en groene (1x) kleurstoffen.
Het maximaal gevonden gehalte bedraagt 300 mg/kg in de zwarte kleurstof.

Barium komt voor in concentraties ≥ 10 mg/kg in groene (2x), blauwe (2x), rode (2x), witte (1x) en gele (1x) kleurstoffen.
Het maximaal gevonden gehalte bedraagt 2000 mg/kg in een van de rode kleurstoffen.

Lood komt voor in concentraties ≥ 5 mg/kg in witte (2x) en paarse (2x) kleurstoffen.
Het maximaal gevonden gehalte bedraagt 15 mg/kg in een van de witte kleurstoffen.

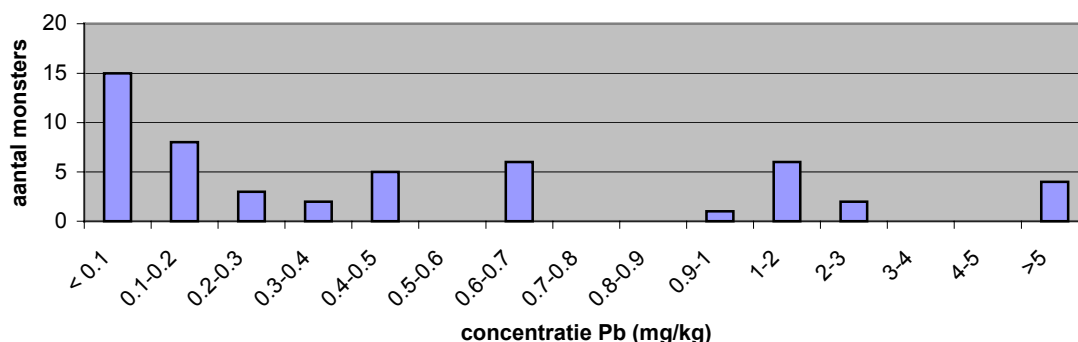
Cobalt komt voor in concentraties ≥ 1 mg/kg in bruine (9x) en rode (1x) kleurstoffen.
Het maximaal gevonden gehalte bedraagt 3 mg/kg in een van de bruine kleurstoffen.

Cadmium komt voor in concentraties $\geq 0,1$ mg/kg in oranje (1x) en in bruine (1x) kleurstoffen.
Het maximaal gevonden gehalte bedraagt 0,5 mg/kg in de oranje kleurstof.

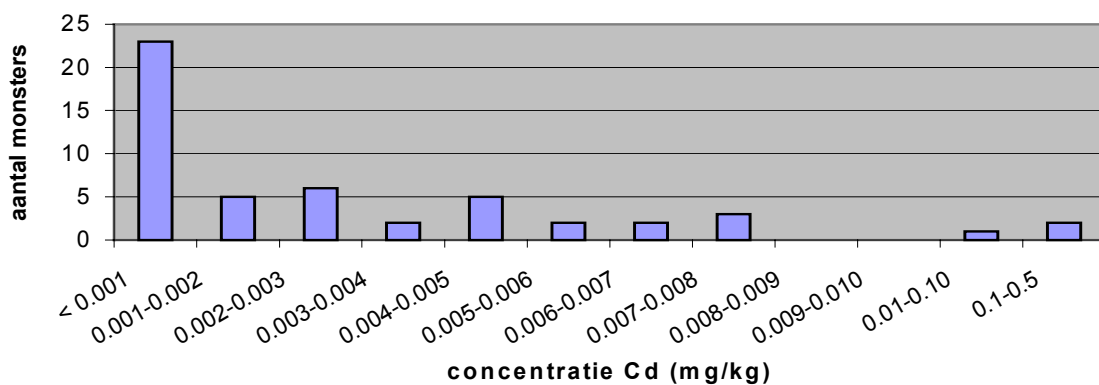
Zink komt voor in concentraties $\geq 0,5$ mg/kg in oranje (3x), groene (3x), blauwe (3x) en zwarte (3x) kleurstoffen.
Het maximaal gevonden gehalte bedraagt 3,9 mg/kg in een van de groene kleurstoffen.

In de grafieken 2 t/m 10 zijn de gevonden gehalten van elk metaal afzonderlijk uitgezet.

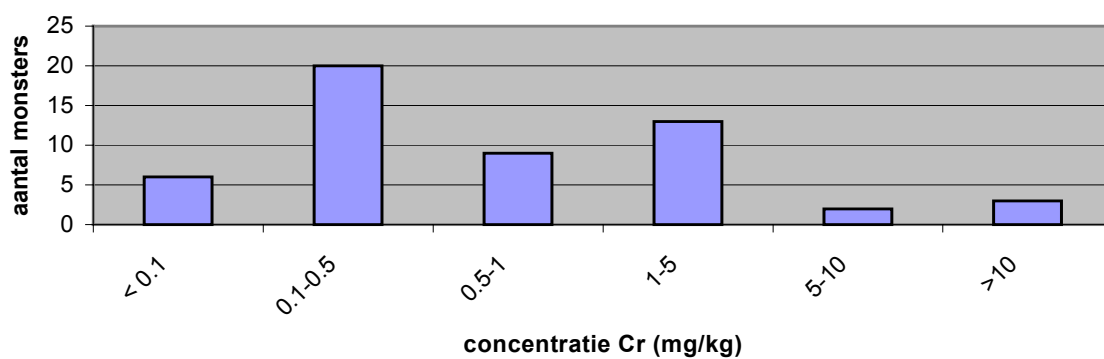
Grafiek 2: Loodgehalte in kleurstoffen



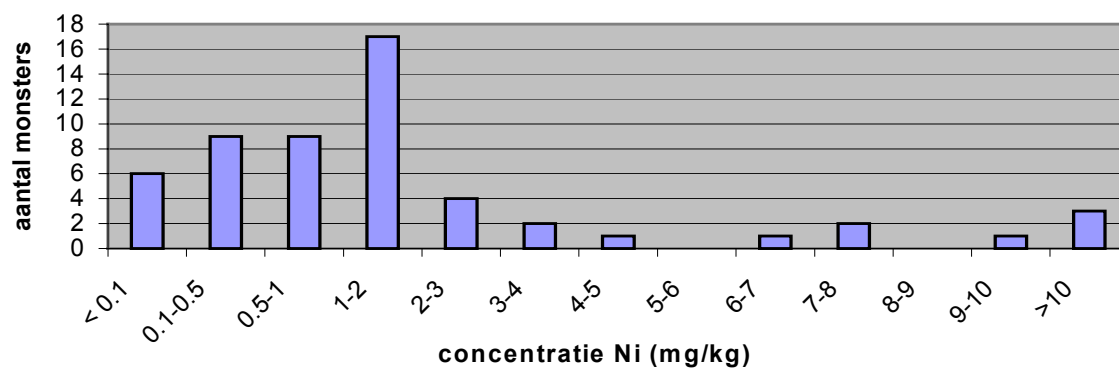
Grafiek 3: Cadmiumgehalte in kleurstoffen



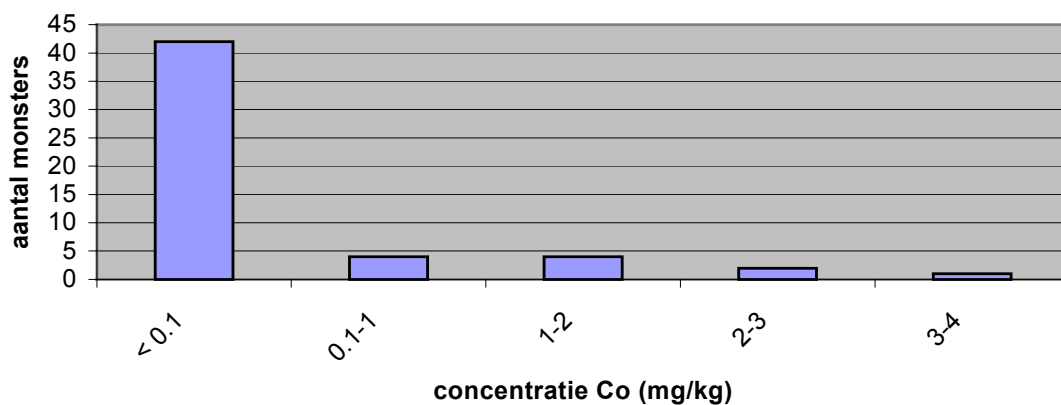
Grafiek 4: Chromgehalte in kleurstoffen



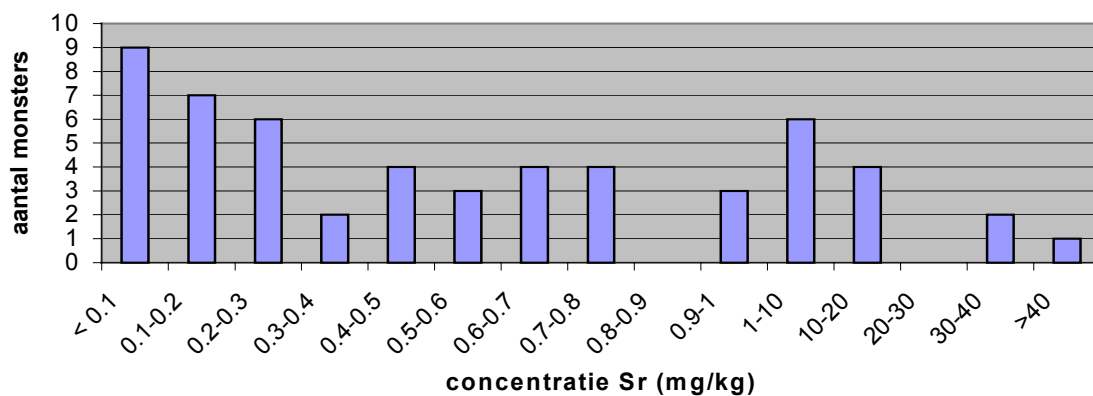
Grafiek 5: Nikkelgehalte in kleurstoffen



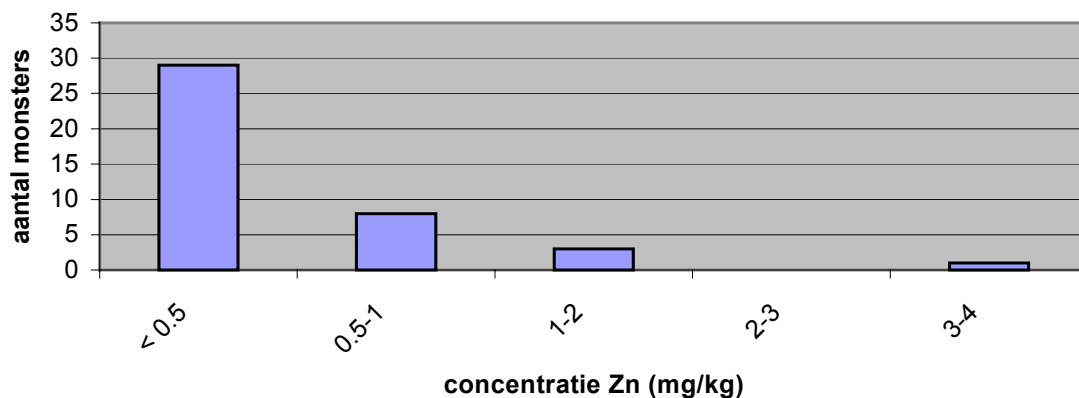
Grafiek 6: Cobaltgehalte in kleurstoffen



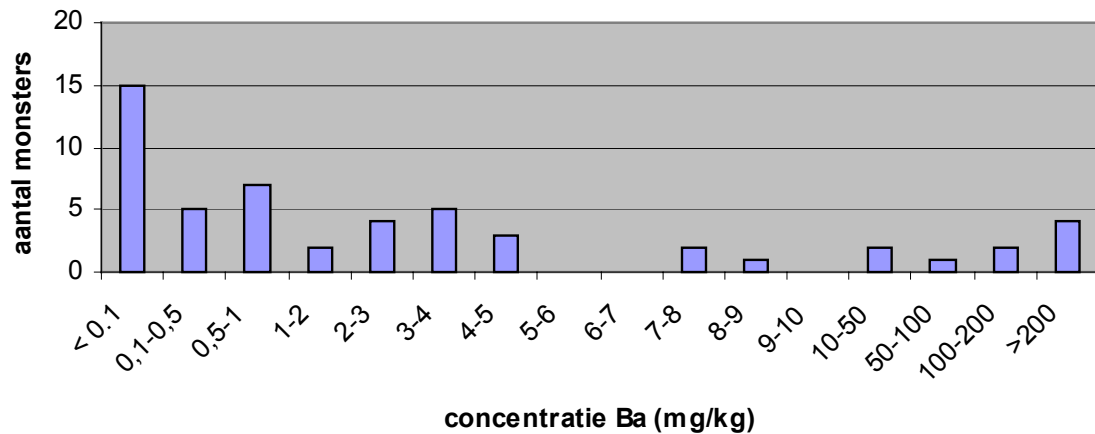
Grafiek 7: Strontiumgehalte in kleurstoffen



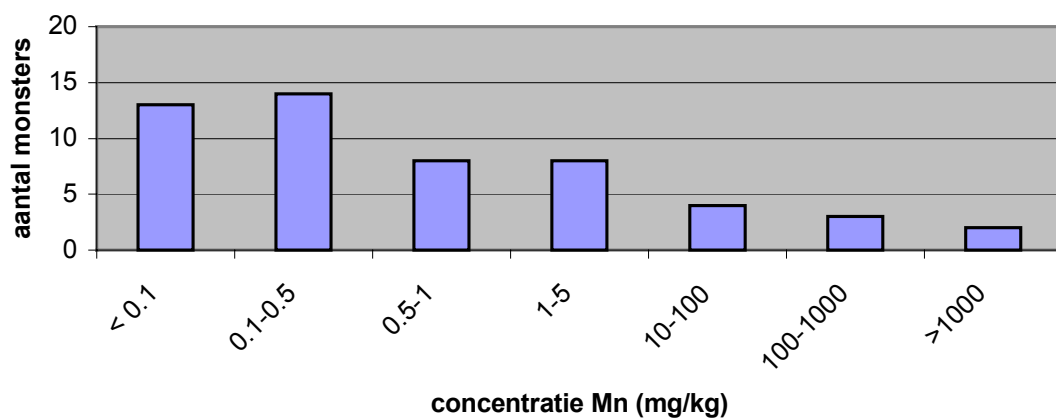
Grafiek 8: Zinkgehalte in kleurstoffen



Grafiek 9: Bariumgehalte in kleurstoffen



Grafiek 10: Mangaangehalte in kleurstoffen



9. DISCUSSIE

9.1 Microbiologische veiligheid

Microbiologische besmetting komt voor in 18% van de bemonsterde producten. In 10% van de monsters werden pathogene micro-organismen gevonden. De meeste positieve monsters blijken bemonsterd te zijn uit reeds geopende verpakkingen. De positieve monsters welke bemonsterd zijn uit ongeopende verpakkingen hadden een relatief laag kiemgetal.

De besmetting wordt dus blijkbaar grotendeels veroorzaakt op de werkplek zelf. De combinatie van niet-hygiënisch werken en het gebruik van niet-geconserveerde producten zorgt voor de besmetting van de producten.

Veel tatoeëerders maken gebruik van pigmentflesjes waarin 25, 50 of meer milliliters kleurstof zitten. Een dergelijke kleurstof kan dan weken (of maanden) in een shop aanwezig zijn, waardoor de kans op besmetting en uitgroei groot is. Uit de resultaten kon worden afgeleid dat de positieve monsters niet ad random verdeeld bemonsterd zijn, maar juist uit een beperkt aantal shops komt. Dit houdt in dat de werkwijze (met name de hygiëne) een bepalende rol speelt in de besmetting van de monsters.

De constatering dat zelfs ongeopende verpakkingen microbiologisch besmet zijn is wellicht nog ernstiger dan de besmetting door de tatoeëerder. Deze verpakkingen zijn klaarblijkelijk besmet bij het afvullen, en dat betekent dat zelfs een goede en hygiënisch werkende tatoeëerder onbedoeld een klant kan infecteren.

Het gegeven dat tatoeagekleurstoffen in de shops besmet raken, waarbij grote aantallen micro-organismen ontstaan, indiceert een potentieel gevaar. Gezien het gegeven dat veel kleurstoffen niet-steriel worden afgevuld, dat uitgroei van micro-organismen in de vloeistoffen plaatsvindt en dat de vloeistoffen vervolgens intradermaal geïnjecteerd worden, lijken de mogelijkheden van bacteriële ontstekingen groot. Eventuele virale besmettingen zouden ook via handen en/of apparatuur kunnen worden overgebracht.

9.2. Azo-kleurstoffen

Het onderzoek naar de aanwezigheid van azo-kleurstoffen laat zien dat in 10 monsters (17%) één of meerdere (verdacht) carcinogene aromatische amines worden aangetroffen, hetgeen duidt op de aanwezigheid van één of meerdere azo-kleurstoffen. Verder is in 1 monster de aanwezigheid van uitsluitend aniline, een in Europa (nog) niet als carcinogeen ingedeeld aromatisch amine, aangetoond.

Als (voor textiel, schoeisel en beddengoed verboden) amines zijn gevonden o-toluidine, o-anisidine, tolueendiamine en dichloorbenzidine.

Alhoewel de stof aniline momenteel niet als (verdacht) carcinogeen wordt beschouwd, is de stof wel in nader onderzoek, omdat er aanwijzingen zijn dat de stof tumoren in de milt zou induceren.

De gevonden gehalten aromatische amines lopen sterk uiteen. Zeer opvallend is dat met name de rode, roze en oranje kleuren azo-kleurstoffen bevatten en dat **uitsluitend** in de oranje kleuren gehalten worden gevonden, welke de gestelde norm voor textiel, schoeisel en beddengoed (max. 30 mg/kg) ruimschoots overschrijden.

De stof tolueendiamine wordt hierbij in gehalten tot 250 mg/kg aangetoond, d.w.z. 8x boven de norm voor textiel. De stof dichloorbenzidine wordt in gehalten tot 3400 mg/kg aangetoond, d.w.z. ruim 100 x boven de norm voor textiel.

De gevonden concentraties zijn zonder meer hoog te noemen. De vergelijking met de normen uit het textielbesluit is natuurlijk slechts indicatief.

Indien een consument bij een tatoeage of een PMU wordt blootgesteld aan een azo-kleurstof in een concentratie welke gelijk is aan de textielnorm, dan is de belasting veel hoger dan wanneer deze consument een kledingstuk draagt waarin eenzelfde concentratie kleurstof aanwezig is. Een tatoeage of PMU wordt volledig geïnjecteerd in de huid, terwijl de kleurstof in textiel slechts beperkt in aanraking met de (opper)huid zal komen.

Daarnaast is het risico groot dat, indien de tatoeage wordt "weggelaserd", de consument wordt blootgesteld aan hoge concentraties (zeer toxische) aromatische aminen. De kans is namelijk groot dat de kleurpigmenten op basis van azo-kleurstoffen uiteenvallen in brokstukken die voornamelijk bestaan uit aromatische aminen.

9.3. Zware metalen

Het onderzoek naar de aanwezigheid van (zware) metalen laat zien dat de elementen lood (< 10 mg/kg), cadmium (\leq 0,5 mg/kg), cobalt (< 3 mg/kg), nikkel (< 2 mg/kg) en zink (< 4 mg/kg) regelmatig voorkomen in de verschillende pigmenten. Vooral witte en rode pigmenten bevatten lood, cadmium en nikkel. De gevonden concentraties van deze componenten kunnen mogelijk negatieve gezondheidsaspecten veroorzaken.

De elementen strontium, barium, mangaan en chroom worden incidenteel in relatief hoge concentraties in verschillende kleurstoffen aangetoond. Voor de auteurs is het momenteel onbekend in hoeverre deze gevonden waarden schade kunnen berokkenen aan de gezondheid.

Of de gevonden gehalten (zware) metalen daadwerkelijk risico's opleveren voor de gezondheid van diegene die getatoeëerd wordt, is moeilijk te zeggen. De referentiekaders (normen in een wetgeving) ontbreken hier doordat de componenten direct in de huid gebracht worden. Aangezien achterhaald kan worden hoeveel grammen of milliliters pigment geïnjecteerd wordt in verschillende tatoeages en de gehalten zware metalen bekend zijn kan een blootstellingsonderzoek gemaakt worden.

9.4. Handhaving wettelijke voorschriften

Op dit moment kan wegens het ontbreken van algemene en/of specifieke wetgeving niet worden opgetreden tegen "onveilige situaties" in de tattoo-shops en de schoonheidssalons. Daarmee is het ook onduidelijk welke landelijke instantie toezichthouder is.

De GG&GD's kunnen hoogstens op basis van een gemeenteverordening de gemeenten adviseren de vestigingsvergunning in te trekken, waarbij "eigen" (GG&GD) criteria kunnen worden gebruikt met betrekking tot de hygiënische omstandigheden.

10. CONCLUSIES

Uit het onderzoek worden de volgende conclusies getrokken:

De chemische en microbiologische samenstelling van kleurstoffen die gebruikt worden voor tatoeage en permanente make-up, is zorgwekkend te noemen.

Verpakkingen kunnen bij tatoeëerders en schoonheidsspecialisten geruime tijd open blijven staan. Geconstateerd is dat in geopende verpakkingen dan ook hoge concentraties micro-organismen aanwezig kunnen zijn. In de geopende verpakkingen zijn pathogenen aangetroffen. Het injecteren van dergelijke (met pathogene micro-organismen) besmette kleurstoffen kan tot ernstige ontstekingsreacties leiden. Ook in ongeopende verpakkingen zijn micro-organismen aangetoond, zij het in lagere concentraties. Dat betekent dat de pigmenten niet altijd steriel en/of voldoende geconserveerd zijn.

Kankerverwekkende aromatische aminen zijn (in hoge) concentratie aangetoond in 10 kleurstoffen (17%), zowel in de tatoeage- als in de PMU-kleurstoffen. Aangezien de kleurstoffen (vooral bij de PMU) langzaam maar constant en gedurende lange tijd kunnen weglekken uit de dermis, is de kans op een systemische belasting met deze stoffen aanwezig. Nader onderzoek zal moeten uitwijzen of deze belasting aanvaardbaar is of niet. De Nederlandse wetgever heeft in ieder geval gemeend de consument te moeten beschermen tegen de aanwezigheid van deze kleurstoffen in textiel, schoeisel en beddengoed vanwege het risico op kanker.

Zware metalen worden aangetoond in tatoeage- en PMU kleurstoffen. Het staat op dit moment wetenschappelijk niet vast of deze belasting aanvaardbaar is of niet.

Optreden tegen geconstateerde misstanden betreffende de kwaliteit van tatoeage- en PMU-kleurstoffen kan pas plaatsvinden, als er wetgeving komt waaronder deze stoffen en het gebruik er van vallen. Het ontbreken van wetgeving zorgt voor onduidelijkheid bij de controlerende instanties, leveranciers, tatoeëerders en schoonheidsspecialisten.

Gezien de resultaten van dit onderzoek lijkt het gewenst op nationaal en Europees niveau specifieke wetgeving te maken in het kader van consumentenbescherming.

11. LITERATUUR

- ⁱA. Boonstra en J. Worp, Hygienerichtlijnen voor tatoeëren, 4e druk 2000 GG&GD Amsterdam
- ⁱⁱA. Boonstra en J. Worp, Hygiënerichtlijnen voor piercen, 3e druk 1999 GG&GD Amsterdam
- ⁱⁱⁱE.J. Lantinga, Code van de schoonheidsspecialist, Publicatiereeks nr. 219, september 2000, Hoofdbedrijfschap Ambachten, Voorburg
- ^{iv}J. Worp en A. Boonstra, Evaluatierapport tatoe- en piercingstudio's Amsterdam, GG&GD Amsterdam, september 1999
- ^vH.R. Reus, Oriënterend onderzoek naar het gebruik van desinfectiemiddelen in tattoo- en piercingstudio's, Inspectie Waren en Veterinaire Zaken, rapport ND BIO 001/01, november 1999
- ^{vi}Öko-test Magazin, D-60486 Frankfurt, 8/98
- ^{vii}Warenwetbesluit Azo-kleurstoffen, d.d. 23 april 1998, Stb 339
- ^{viii}Dagblad De Limburger, 30 juli 1998
- ^{ix}Brief Hoofdinspecteur Non-Food Keuringsdienst van Waren d.d. 17 oktober 2000
- ^xK.Ongenaë, Tatoeages: soorten, complicaties, lasertherapie, Dermatologie actueel nr.56, 4-6, 2000
- ^{xi}B. de Meijere, Medische tatoeage, Dermatologie actueel nr.56, 9-11, 2000
- ^{xii}E. Thomas, B.J. Kearney en J.H. Beare, Med. J. Aust., 739 – 741, 1973
- ^{xiii}N.A.G. Mowat, P.W. Brunt, F. Albert-Recht en W. Walker, Lancet, 33 – 34, 1973
- ^{xiv}J.J. Horan en M.J. Gratten, N.Z. Med.J., 79, 820 – 822, 1974
- ^{xv}1. A.E. Limentani, I.M. Elliot, N.D. Noah en J.K. Lamborn, Lancet, 86 – 88, 1979
- ^{xvi}M.A. Harrison en N.D. Noah, Lancet, 644, 1980
- ^{xvii}G.B. Hopkins, J.V.T. Gostling, I. Hill, D.J.N. McNab, D.P. Mullan en R.W.B. Scutt Br. Med. J., 210 – 211, 1973
- ^{xviii}Council of Europe, Rapport RD 10-1/34, Public Health Committee, Committee of experts on cosmetic products Permanent make-up and tattooing colours (first draft)
- ^{xix}http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/sccp/index_en.html

^{xx} <http://www.coe.int/portalT.asp>

^{xxi} Warenwetbesluit Kosmetische Produkten

^{xxii} Warenwetbesluit Azo-kleurstoffen, Bijlage II, d.d 23 april 1998, Stb. 339

^{xxiii} Keuringsdienst van Waren Noord, Analysevoorschrift CHE-01\ND603

^{xxiv} P. Bragt, Interne notitie, Aniline in schertsartikel, 13 maart 2001-11-01

^{xxv} Canadian Environmental Protection Act. Priority Substances List Assessment Report. Aniline. Health Canada 1994. ISBN 0-662-22028-5.

Bijlage 1.

Methoden van onderzoek (microbiologisch)

Project : COS012 tattoo kleurstoffen
Naam : Annemarie Bruijn-Mulder NFC-lab
Datum : 14 augustus 2001

1. Bepaling van het aantal gisten en schimmels
MIC01-WV113:
BEPALING VAN HET AANTAL KWEEKBARE GISTEN EN /OF
SCHIMMELS IN WAREN MET BEHULP VAN DE GIETPLAATMETHODE
2. Bepaling van het aëroob kiemgetal bij 30°C (mesofiel)
MIC01-WV101:
BEPALING VAN HET AANTAL AËROOB KWEEKBARE MICRO-
ORGANISMEN IN WAREN MET BEHULP VAN DE
GIETPLAATMETHODE
Opmerking: Trypton Soya Agar (TSA)
gebruikt i.p.v. Plate Count Agar
(PCA)
Motivatie voor afwijking methoden: TSA is een rijker medium dan
PCA, waardoor beschadigde
cellen beter zullen groeien.
3. Bepaling van het aantal Pseudomonaden
MIC01-WV124:
BEPALING VAN HET AANTAL KWEEKBARE *PSEUDOMONAS SPP.* BIJ
25°C MET BEHULP VAN DE SPATELPLAATMETHODE
Opmerking: Incubatie bij 30°C i.p.v. 25°C
Motivatie voor afwijking methode: 30°C benaderd de
lichaamtemperatuur beter dan
25°C
Bevestiging: Api 20 NE (Biomérieux)
4. Bepaling van het aantal Enterobacteriaceae
MIC01-WV106:
BEPALING VAN HET AANTAL KWEEKBARE ENTEROBACTERIACEAE
BIJ 37°C MET BEHULP VAN DE GIETPLAATMETHODE
5. Bepaling van het Anaëroob kiemgetal bij 30°C (mesofiel)
MIC01-WV104:
BEPALING VAN HET AANTAL ANAËROOB EN FACULTATIEF
ANAËROOB KWEEKBARE MICRO-ORGANISMEN MET BEHULP VAN
DE GIETPLAATMETHODE

Bijlage 2.

Methoden van onderzoek (AZO-kleurstoffen)

De bepaling verloopt in 4 stappen;

1. Oplossen van het monster in een geschikt oplosmiddel
2. reductie van de azobindingen
3. derivatisering van de amines m.b.v. heptafluorboterzuuranhydride (HFBA)
4. detectie m.b.v. GC-MS

De toegepaste analysemethoden zijn onderstaand verkort weergegeven.

Opwerkingsmethode

A. Kleurstoffen in oplossing

- Los 500 mg op in 50 ml demi-water
- Voeg aan het opgeloste monster 3 ml natriumdithioniet (200 mg/ml) toe
- Verwarm het mengsel 30 min. op een waterbad van 70 °C
- Koel af tot kamertemperatuur
- Pipetteren 5 ml en breng dit op een pH > 9
- Voeg 5 ml demi-water toe
- Voeg 15 ml dichloormethaan toe en vortex 1 min.
- Verwijder de bovenstaande waterfase
- Droog de dichloormethaanfractie op watervrij natriumsulfaat

B. Vaste kleurstoffen

- Los 200 mg op in 50 ml ethanol
- Voeg aan het opgeloste monster 3 ml natriumdithioniet (200 mg/ml) toe
- Verwarm 30 min. op een waterbad van 70 °C
- Koel af tot kamertemperatuur
- Pipetteer 5 ml en breng dit op pH > 9
- Voeg 15 ml dichloormethaan toe en vortex 1 min.
- Voeg 10 ml demi-water toe en schud 1 min.
- Verwijder de bovenstaande waterfase
- Voeg nogmaals 10 ml demi-water toe en schud 1 min.
- Verwijder de bovenstaande waterfase
- Droog de dichloormethaanfractie op watervrij natriumsulfaat

Derivatisering

- Pipetteer 5 ml van de gedroogde dichloormethaanfractie en voeg 100 ul heptafluorboterzuuranhydride (HFBA) toe, meng en laat 5 min. staan
- Voeg 5 ml fosfaatbuffer (pH = 7) toe en schud 1 min.
- Pipetteer de bovenlaag af
- Voeg 5 ml demiwater toe en schud 1 min.
- Pipetteer de bovenlaag af
- Breng de onderste laag over in een vial en injecteer 2 ul in de GC-MS

GC-MS condities.

Injectievolume: 2.0 µl
Injectietemperatuur: 280 °C
Detectietemperatuur: 280 °C
Splitless
Kolomflow: 1.0 ml/min
Kolomtemp. 45 °C (1 min.)
25 °C naar 180 °C
5 °C naar 250 °C (5 min)
scanmode: SIM

Een oplossing welke bekende hoeveelheden van de stoffen aniline, o-anisidine, 4,4 diaminodifenylmethaan, 4-aminodifenyyl, benzidine, 2-chlooraniline en 3,3 dimethoxybenzidine (6,6 µg/ml van elke stof) bevat, is als referentie oplossing gebruikt.

Aan de hand van de retentietijden en de massafragmenten (zie tabel 3) worden aanwezige amines gekarakteriseerd en gekwantificeerd.

Tabel 3. Overzicht retentietijden en massafragmenten

Stof	Retentietijd	Massafragmenten
Aniline	5.33	289, 120, 77
o-toluidine	5.68	134, 303, 106
o-anisidine	6.26	319, 135, 150
p-chlooraniline	6.37	323, 126, 154
p-cresidine	6.66	333, 149, 164
4-chloor-o-toluidine	6.67	337, 168, 140
2,4,5-trimethylaniline	6.87	331, 162, 134
2,4-tolueendiamine	8.01	345, 514, 317
2-naftylamine	8.59	339, 142, 115
4-aminodifenyyl	10.60	365, 168, 141
4,4-oxydianiline	16.88	592, 395
Benzidine	16.84	576, 379, 557
4,4-diaminodifenylmethaan	17.52	132, 590, 302
3,3-dichloorbenzidine	18.32	609, 447, 644
3,3-dimethylbenzidine	18.51	604, 407, 355
3,3-dimethyl4,4diaminodifenylmethaan	18.60	618, 146, 316
2-chlooraniline	19.01	300, 624, 166
4,4-thiodianiline	19.22	608, 411, 439
3,3-dimethoxybenzidine	20.59	636, 637, 452

Bijlage 3.

Methoden van onderzoek (Zware metalen)

Voor de bepaling van de elementen Ni, Ba, Sr, Cd, Pb, Co, Mn en Cr is de volgende werkwijze aangehouden.

- 0,4 gram monster wordt opgelost in 20 ml gec. salpeterzuur
- de standaarden worden eveneens opgelost in gec. salpeterzuur
- standaarden en monsters worden gemeten met de AAS/grafietoven.
- per element geldt een apart temperatuurprogramma voor de grafietoven

Voor de bepaling van Zn wordt de volgende werkwijze aangehouden

- 0.4 gram monster wordt opgelost in 20 ml ethanol 100 %.
- de standaarden worden eveneens opgelost in ethanol 100 %
- Standaarden en monsters worden gemeten de AAS/vlam.

Als detectiegrens voor de onderzochte metalen gelden de waarden als vermeld in tabel 1.

Tabel 1 Detectiegrens voor de bepaling van zware metalen

Metaal	mg/kg
Lood	0,025
Cadmium	0,001
Cobalt	0,02
Strontium	0,01
Barium	0,1
Nikkel	0,025
Chroom	0,01
Mangaan	0,01
Zink	0,5

Bijlage 4.

Microbiologische data (ad random weergegeven)

	Verpakking	Gisten & Schimmels	kgT TSA	Pseud.	Pseudomonas	Entero's	An.kgt	Cl.perfr.	Bedrijf	T of P	Opmerkingen
1	Voorverpakt	<10	<10	<10		<10	<10		a	P	groen
2	Voorverpakt	<10	<10	<10		<10	<10		a	P	geel
3	Voorverpakt	<10	<10	<10		<10	<10		a	P	blauw
4	Voorverpakt	<10	<10	<10		<10	<10		a	P	rood
5	Geopend	neg.	neg.	neg.		neg.	neg.		b	P	bruin
6	Voorverpakt	<10	<10	<100		<10	<10		c	P	red lip liner
7	Geopend	<10	<10	<100		<10	<10		c	P	oranje
8	Geopend	<10	<10	<100		<10	<10		c	P	hot pink
9	Voorverpakt	<10	<10	<100		<10	<10		c	P	pink 7
10	Voorverpakt	<10	<10	<100		<10	<10		c	P	jet black
11	Voorverpakt	<10	<10	<100		<10	<10		c	P	dark bleu
12	Geopend		1,9E+05		aeruginosa	<10		<10	d	T	groen/geel
13	Geopend		>3,0E5		fluorescens	<10		<10	d	T	rood
14	Geopend		<10			<10		<10	d	T	blauw
15	Voorverpakt	<10	1,5E+02	<10		<10	<10		e	T	bruin
16	Voorverpakt	<10	4,3E+04	<100		<10	<10		e	T	oranje
17	Voorverpakt	<10	<10	<100		<10	<10		e	T	licht paars
18	Voorverpakt	<10	<10	<100		<10	<10		f	T	rood
19	Voorverpakt	<10	5,0E+04	<100		<10	<10		f	T	geel
20	Voorverpakt	<10	<10	<100		<10	<10		f	T	blauw
21	Geopend	<10	<10	<100		<10	<10		g	T	geel/oranje
22	Geopend	<10	<10	<100		<10	<10		g	T	groen
23	Geopend	<10	<10	<10		<10	<10		g	T	zwart
24	Geopend	<10	<10	<100		<10	<10		g	T	geel/oranje
25	Geopend	<10	<10	<10		<10	<10		g	T	zwart
26	Geopend	<10	6,1E+04	<10		<10	<10		g	T	groen
27	Geopend	<10	>>3,0E5	>3,0E5	putida	<10	<10		h	T	rood
28	Geopend	<10	>>3,0E5	>>3,0E5	putida 59% of fluorescens 36%	<10	<10		h	T	rood
29	Geopend	<10	>>3,0E5	>>3,0E5	aeruginosa	<10	>3,0E5		h	T	blauw
30	Geopend	<10	>>3,0E5	>>3,0E5	aeruginosa	<10	>3,0E5		h	T	blauw
31	Geopend	<10	<10	<100		<10	<10		i	T	wit
32	Geopend	<10	<10	<10		<10	<10		i	T	bruin
33	Geopend	<10	<10	<10		<10	<10		i	T	licht paars
34	Geopend	<10	<10	<10		<10	<10		i	T	wit
35	Geopend	neg.	neg.	neg.		neg.	neg.		i	T	paars
36	Geopend	neg.	neg.	neg.		neg.	neg.		i	T	bruin
37	Geopend	<10	<10	<100		<10	<10		j	T	wit
38	Geopend	<10	<10	<10		<10	<10		j	T	groen
39	Geopend	<10	>1,5E5	<10		<10	<10		j	T	rood

40	Geopend	<10	<10	<10	<10	<10	j	T	geel
41	Geopend	<10	<10	<100	<10	<10	j	T	blauw
42	Geopend	<10	<10	<10	<10	<10	k	T	groen
43	Geopend	<10	<10	<100	<10	<10	k	T	rood
44	Geopend	<10	<10	<100	<10	<10	k	T	wit
45	Geopend	<10	<10	<10	<10	<10	k	T	geel
46	Geopend	<10	<10	<10	<10	<10	k	T	blauw
47	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	rood
48	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	oranje
49	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	groen
50	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	wit
51	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	roze
52	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	bruin
53	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	licht blauw
54	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	paars
55	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	oranje
56	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	zwart
57	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	l	T	zwart
58	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	m	T & P	pigment camouflage
59	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	m	T & P	atlantic bleu
60	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	m	T & P	magenta red
61	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	m	T & P	basic skin
62	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	m	T & P	indonesian mist
63	Voorverpakt	<10	<10	<100	<10	<10	m	T & P	irish green

Bijlage 5.

Data zware metalen onderzoek (ad random weergegeven)

Overzicht gemeten gehalten zware metalen (uitgedrukt in mg/kg)									
Kleur	Lood	cadmium	cobalt	strontium	barium	nikkel	zink	chrom	mangaan
Blauw	2	0,004	n.a.	0,5	2,2	2,4	n.a.	2,2	0,3
Geel	0,4	0,002	n.a.	0,2	n.a.	0,04	n.a.	0,3	0,06
Rood	0,1	0,07	1,9	11	n.a.	3,9	n.a.	0,5	3000
Paars	0,7	0,007	0,05	0,6	n.a.	1,8	n.a.	2	0,8
Bruin	2	0,01	2,6	0,5	3,5	35	n.a.	3,3	120
Oranje	0,2	0,5	n.a.	18,6	0,4	1,9	0,9	3,4	0,9
Bruin	0,2	0,1	1,4	0,6	0,7	6,2	*	11,5	220
Blauw	n.a.	0,002	0,02	0,9	n.a.	1,5	1	1,9	2,1
Blauw	n.a.	0,003	0,06	0,5	0,5	1,9	1	2,1	2,1
Oranje	n.a.	n.a.	n.a.	0,1	n.a.	0,5	n.a.	0,4	0,08
Oranje	n.a.	0,001	n.a.	0,1	0,2	0,6	1	0,4	0,07
Zwart	n.a.	0,001	n.a.	0,03	3,2	1,8	1	1,3	0,2
Zwart	n.a.	n.a.	n.a.	0,01	3,2	1,9	1,5	1,3	0,2
Groen	n.a.	0,004	n.a.	0,7	7,6	1,7	1,5	0,7	1,5
Groen	0,07	n.a.	n.a.	0,7	7,3	1,6	3,9	0,7	1,4
Blauw	n.a.	0,002	n.a.	1	32,5	0,8	1	0,5	0,1
Groen	0,03	0,006	n.a.	4	260	3,3	1,4	1,1	0,6
Rood	0,2	0,008	n.a.	1	8,3	0,1	n.a.	0,3	2,7
Geel	0,07	0,004	0,6	0,2	4,4	0,7	n.a.	0,1	19,1
Paars	6,2	n.a.	n.a.	n.a.	1,6	n.a.	*	n.a.	0,1
Paars	7,5	0,002	n.a.	0,08	1,3	0,08	*	0,2	0,5
Bruin	0,6	0,003	2,4	0,5	2,7	18,2	n.a.	8,4	710
Bruin	0,9	0,008	3,3	0,8	3,5	31,6	*	12,1	1500
Wit	2	0,008	n.a.	0,4	n.a.	1,3	n.a.	0,4	0,2
Wit	1,6	0,006	n.a.	0,3	0,1	1	*	0,3	0,1
Blauw	0,2	n.a.	n.a.	0,5	12,8	1,5	*	1,5	0,6
Geel	0,4	0,009	n.a.	2	2,2	1	*	1,5	0,7
Wit	14,9	0,007	0,09	0,7	0,8	0,4	*	0,4	0,6
Groen	0,2	n.a.	0,1	3,3	115	4,1	*	4,2	1,4
Rood	0,3	n.a.	n.a.	32,1	940	0,5	*	0,4	0,2
Geel	*	0,002	0,07	18,2	120	1,5	*	0,7	0,8
Blauw	0,6	0,004	0,04	n.a.	80	0,5	n.a.	0,1	0,1
Rood	0,09	0,004	0,02	31,8	2000	0,6	n.a.	0,2	1
Oranje	0,3	n.a.	n.a.	1	4,8	0,3	n.a.	0,2	0,4
Roze	1,2	n.a.	n.a.	0,05	0,2	0,3	n.a.	0,2	0,02
Bruin	0,4	n.a.	1,1	0,2	0,6	2,2	n.a.	0,3	40,5
Zwart	1	n.a.	0,3	310	4,3	1,9	*	5,4	17,9
Zwart	0,5	0,001	0,2	0,2	0,7	0,7	n.a.	n.a.	9,8
Groen	0,3	n.a.	n.a.	18,2	720	2,6	n.a.	0,8	0,09
Bruin	0,1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,04	n.a.	n.a.	n.a.
Rood	0,1	0,001	n.a.	1	n.a.	0,2	n.a.	0,1	n.a.

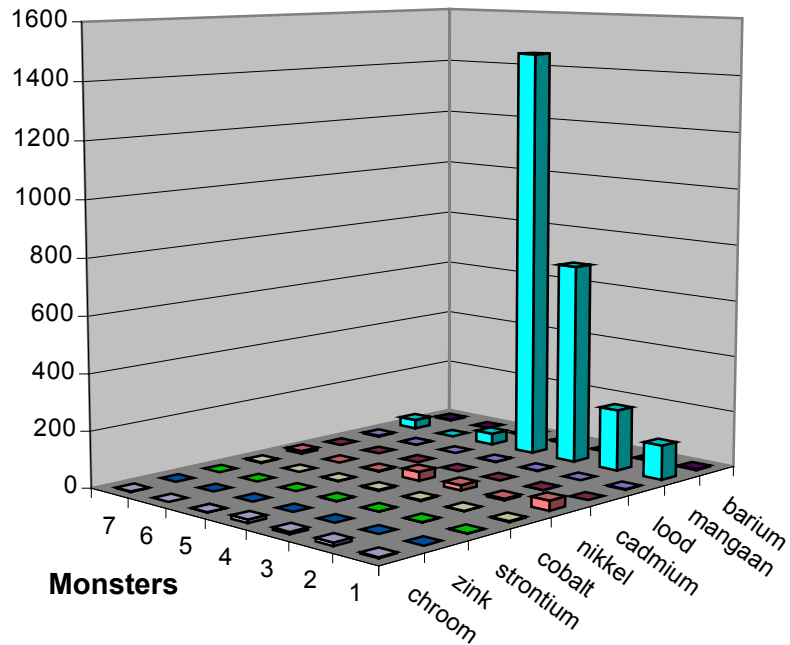
Wit	1,2	0,001	n.a.	0,8	2,3	0,08	n.a.	0,6	0,2
Oranje	0,6	0,002	n.a.	0,5	n.a.	0,4	1	0,05	0,2
Zwart	0,1	n.a.	n.a.	1,1	n.a.	1	n.a.	10,4	1,4
Zwart	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1	0,03	n.a.
Wit	8,9	n.a.	n.a.	0,1	n.a.	2	n.a.	0,3	n.a.
Rood	n.a.	n.a.	n.a.	0,6	n.a.	0,1	n.a.	0,03	n.a.
Paars	0,5	n.a.	n.a.	0,1	n.a.	1,6	n.a.	0,3	n.a.
Blauw	1,4	n.a.	n.a.	0,8	0,6	1,5	n.a.	0,9	0,2
Groen	0,1	n.a.	n.a.	0,3	0,8	2,7	n.a.	0,9	0,04
Oranje	0,7	n.a.	n.a.	0,3	0,4	0,6	n.a.	0,3	0,3
Ro./paars	0,1	n.a.	n.a.	0,06	0,9	0,4	n.a.	0,1	n.a.
Bruin	3,2	n.a.	1,6	0,2	3,4	9,7	n.a.	1,5	32,8

Bijlage 6

Zware metalen gevonden in pigmenten, gesorteerd per kleur

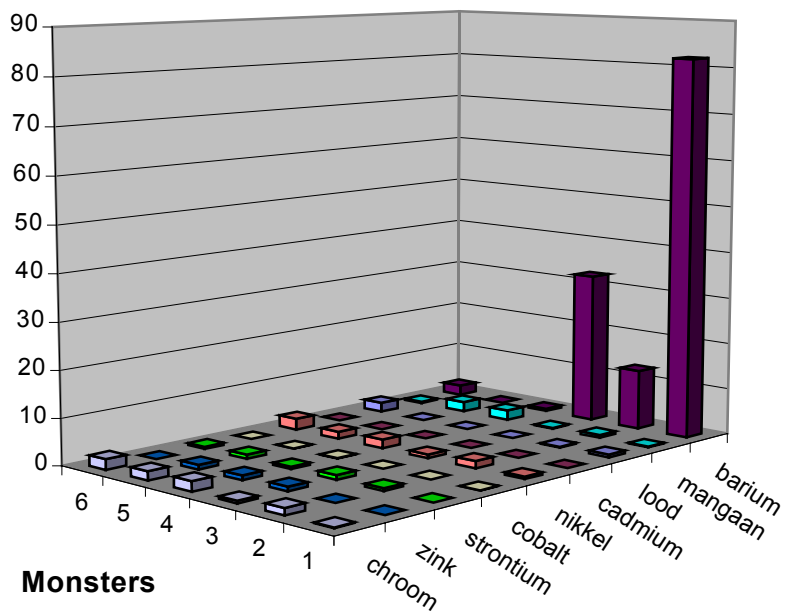
Conc. (mg/kg)

Zware metalen in bruine pigmenten



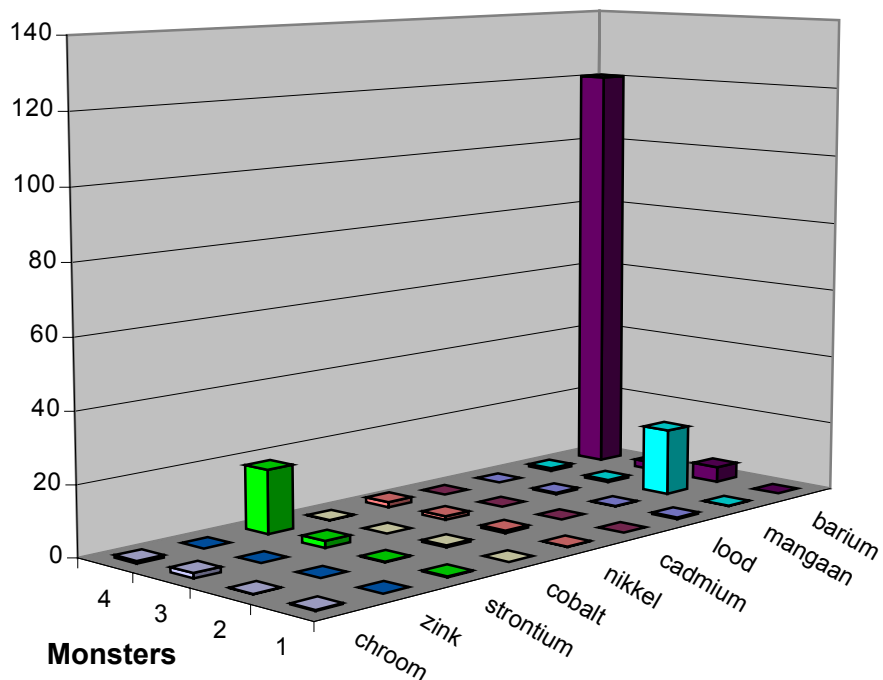
Conc. (mg/kg)

Zware metalen in blauwe pigmenten



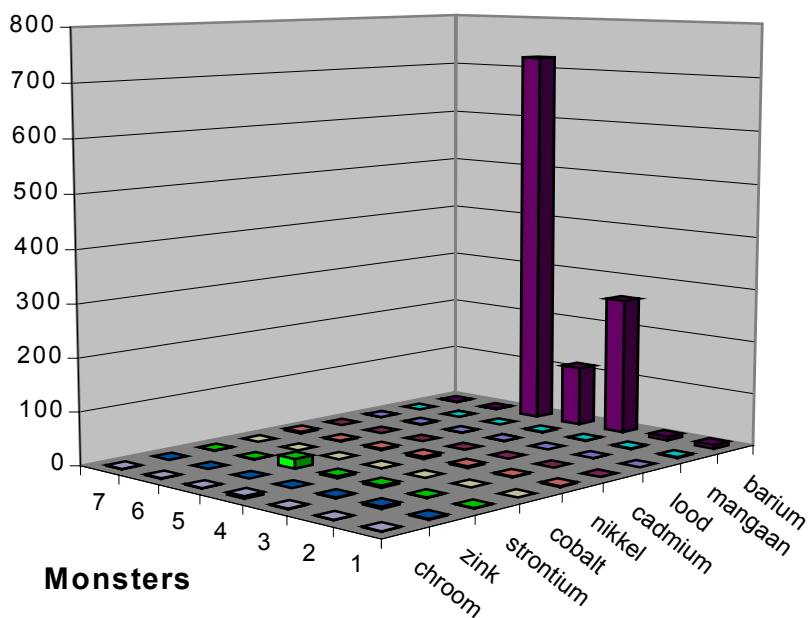
Conc. (mg/kg)

Zware metalen in gele pigmenten



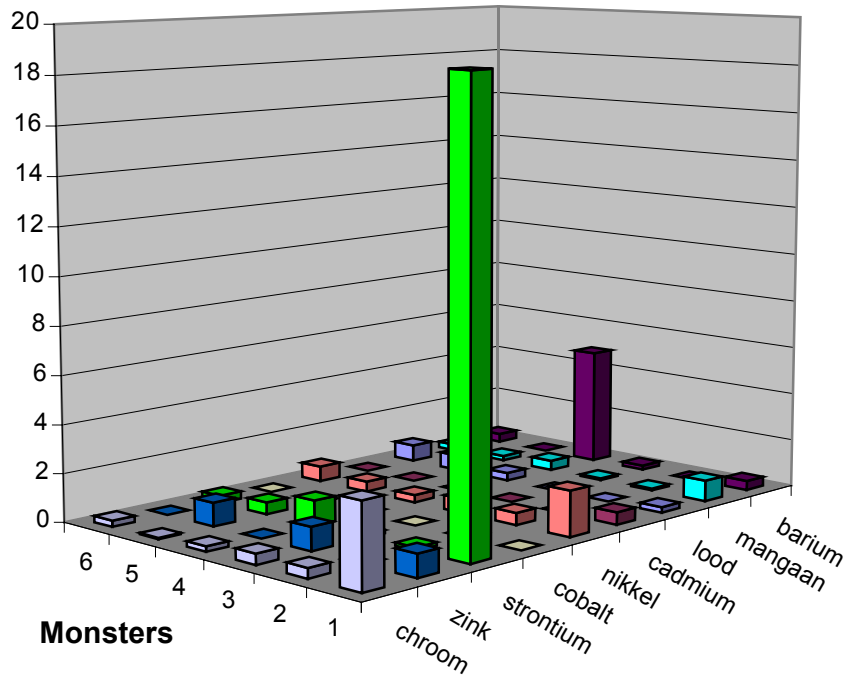
Conc. (mg/kg)

Zware metalen in groene pigmenten



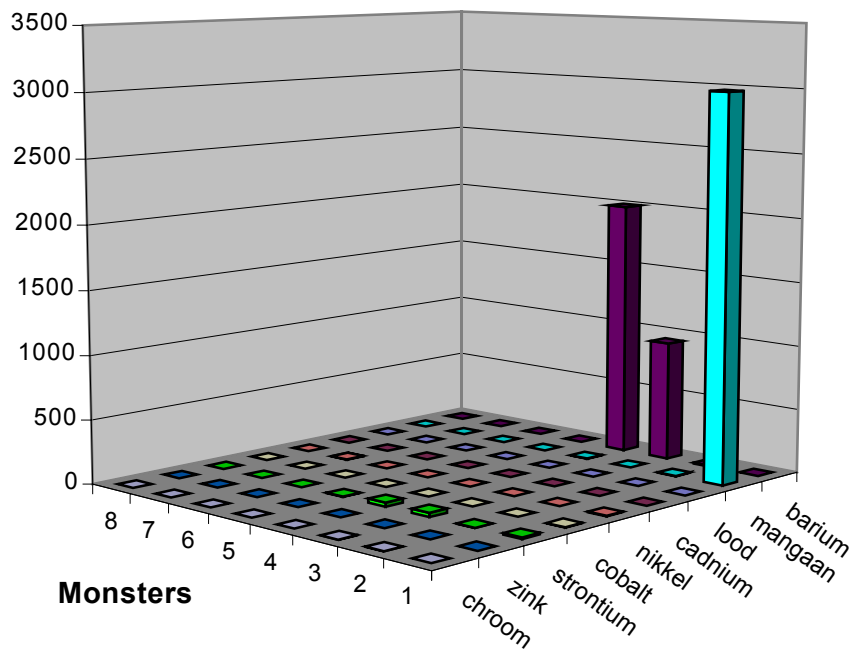
Zware metalen in oranje pigmenten

Conc. (mg/kg)



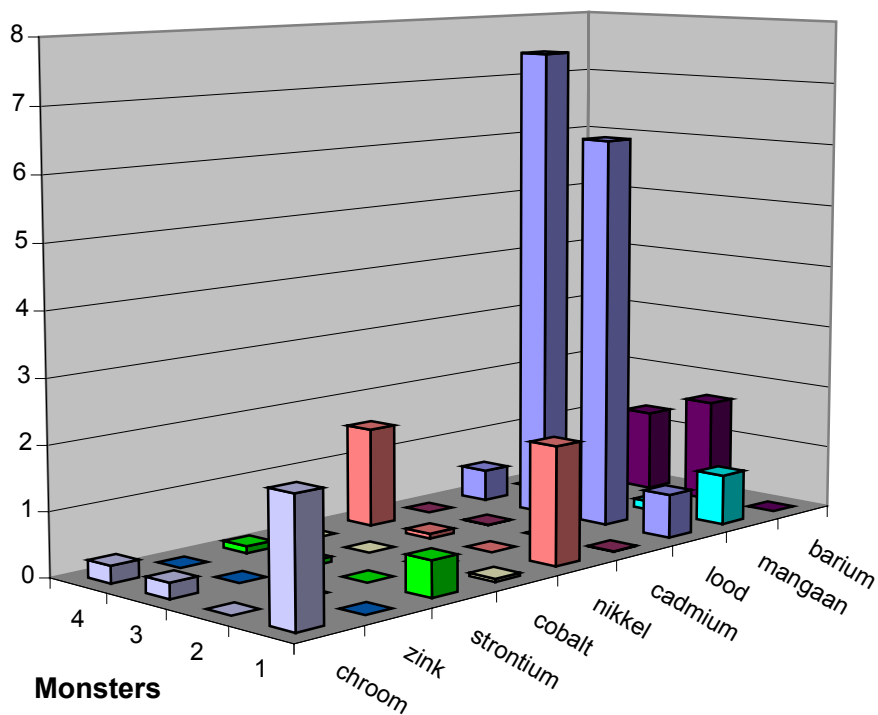
Zware metalen in paarse pigmenten

Conc. (mg/kg)



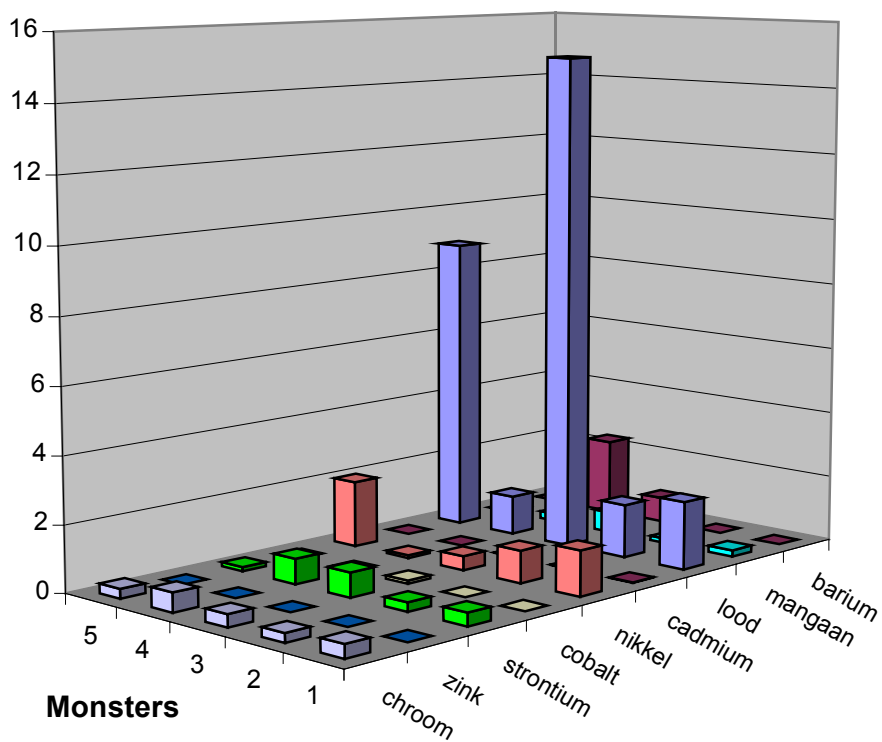
Zware metalen in rode pigmenten

Conc. (mg/kg)



Zware metalen in witte pigmenten

Conc. (mg/kg)



^{xxii} Warenwetbesluit Azo-kleurstoffen, Bijlage II, d.d 23 april 1998, Stb. 339

^{xxiii} Keuringsdienst van Waren Noord, Analysevoorschrift CHE-01\ND603

^{xxiv} P. Bragt, Interne notitie, Aniline in schertsartikel, 13 maart 2001-11-01

^{xxv} Canadian Environmental Protection Act. Priority Substances List
Assessment Report. Aniline. Health Canada 1994. ISBN 0-662-22028-5.