

Sensibilisierungstestung und Regulation

Matthias Peiser

Kurzübersicht

I. Kontaktallergie: Sensibilisierung und Auslösung

II. Testverfahren für Endpunkt Sensibilisierung heute und morgen

III. Regulation des sensibilisierenden Potentials von Inhaltsstoffen aus Kosmetika in der EU

I. Kontaktallergie:

Sensibilisierung und Auslösung

Allergie

„Eine überschießende Immunreaktion des Organismus auf bestimmte körperfremde Stoffe“

„Häufiger Kontakt mit einem Allergen ruft eine Reaktion mit dem Gegenstoff (Antikörper) hervor“

„Allergie ist eine veränderte Reaktionskette des Körpers“

(Freiherr Clemens von Pirquet, 1906)

Körperfremde Stoffe, Allergene sind

1. Substanzen aus natürlicher Umwelt

2. Substanzen aus künstlich hergestellten Produkten

Allergene aus der natürlichen Umwelt

Allergenquelle	Spezies	Hauptallergen
Blütenpollen	Betula pendula	Bet v1
	Artemisia vulgaris	Art v1
Nahrungsmittel	Erdnuss	Ara h1
	Gluten im Getreide	Gliadin
	Krustentiere	Tropomyosin
	Soya	Soya-Protein, Trypsin Inhibitor
Tierhaar	Katze, Speichel	Lysozym
	Katze, Talgdrüse	Fel d1
Schimmelpilze	Aspergillus fumigatus	Asp f1
	Alternaria alternata	Alt a1
	Coprinus Comatus	Cop c1

Allergene aus künstlich hergestellten Produkten

Allergenquelle	Substanzklasse	Allergene Substanz
Arzneimittel	Antibiotika PABA-Inhibitor COX-Hemmer	Penicillin Sulfonamid Acetyl-Salicylsäure
Kosmetika	Duftstoffe Konservierungsstoffe Lichtschutzfilter, Absorber Tattoos Friseurchemikalien	Zimtaldehyd Parabene Benzophenon-3 p-Phenylendiamin (PPD) PPD, Ammoniumpersulfat
Schmuck	Metallionen	Nickel, Kobalt
Textilfarben	Azofarbstoffe	Dispers Orange 3, Rot 1

Allergieformen:

Hypersensibilitätsreaktion

Syndrom

Allergen

Typ I (IgE-vermittelt,
Soforttyp)

Allergische Rhinitis

Systemische Anaphylaxie

Akute Urtikaria

Asthma

Nahrungsmittelallergie

Pollen

Hausstaubmilbenkot

Gift

Medikamente

Nahrungsmittel

Tierhaare

Insektenbisse

Pollen

Hausstaubmilbenkot

Erdnüsse

Milch

Fisch u. a.

Typ IV (T-Zell-vermittelt,
verzögerter Typ)

Kontaktdermatitis

Tuberkulinreaktion

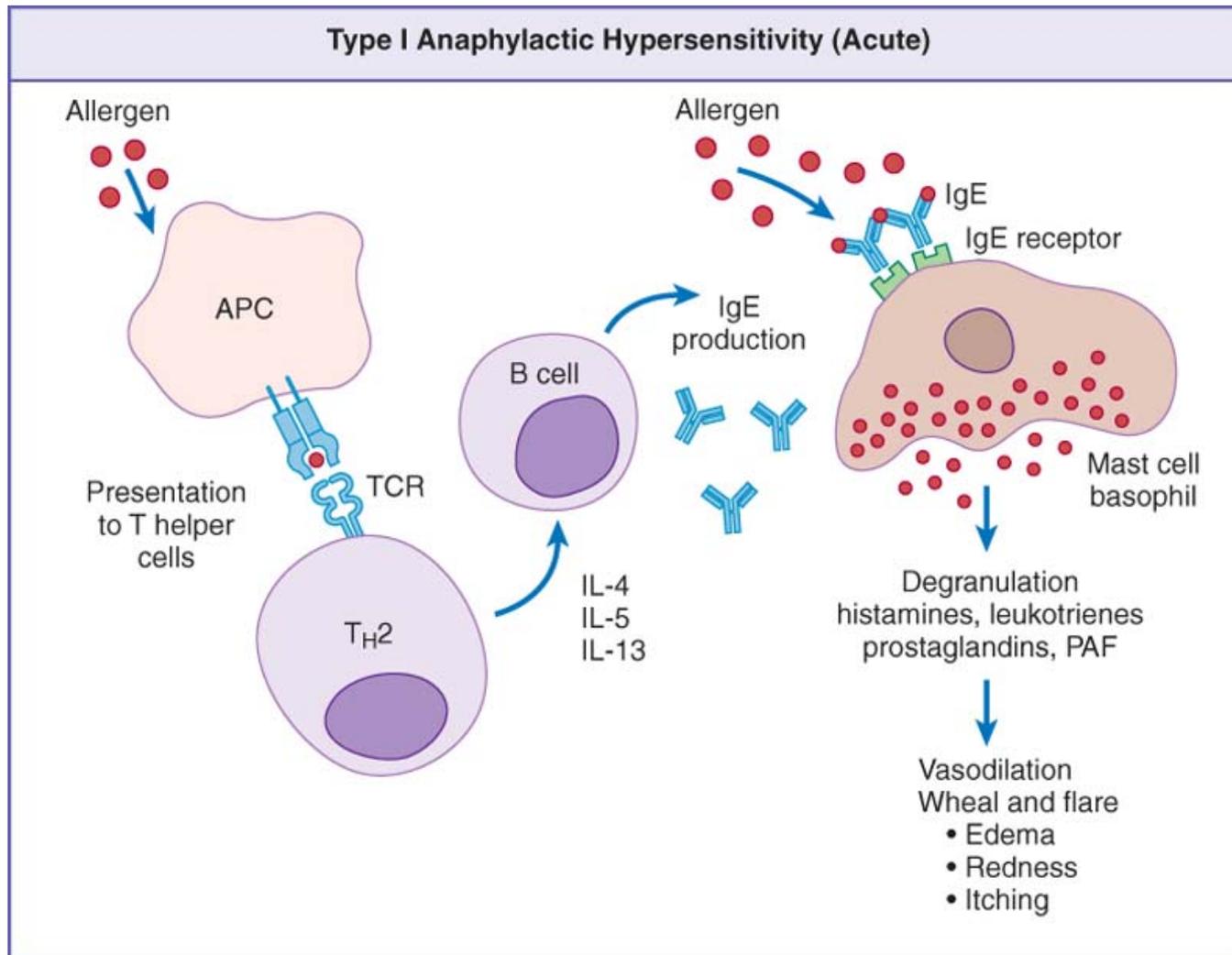
Nickel

Farbstoffe

Konservierungsstoffe u. a.

Tuberkulin

Typ-I Allergie: IgE und Histamin



APC: Antigen-
präsentierende Zelle
IgE: Immunglobulin E
TCR: T-Zell-Rezeptor
T_H2: T-Helfer-Zelle Typ 2

© Elsevier. Actor: Elsevier's Integrated Immunology and Microbiology - www.studentconsult.com

Beispiel Typ I: Immunreaktion auf Allergen der Hausstaubmilbe



Enzymatische Aktivität von Der p1 ermöglicht Gewebeeintritt

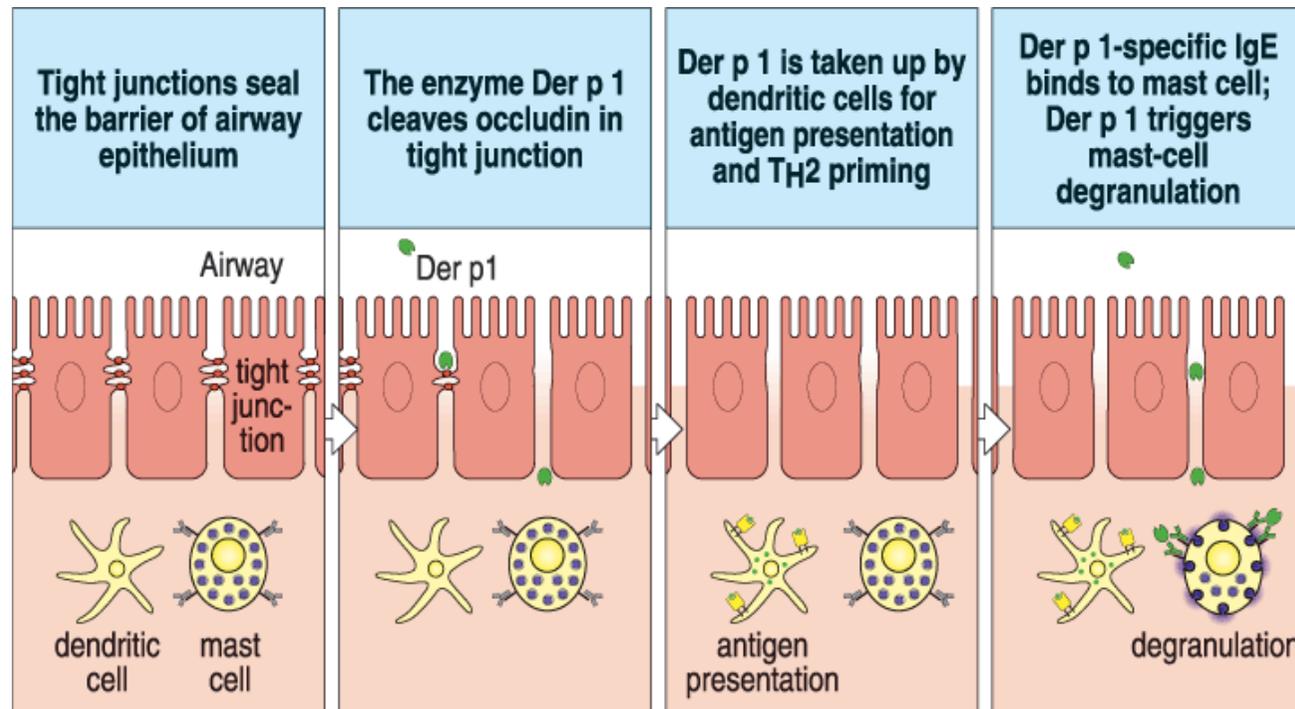


Fig 12.5 © 2001 Garland Science

Typ-IV Allergie: Kontaktdermatitis

- | | | |
|----------------------------|---|---|
| • Erkrankung | Allergische Kontaktdermatitis | (unterschieden von irritativer Form) |
| • Syndrom | Kontakthypersensibilität | (Reaktion verzögerter Typ) |
| • Klinisches Bild | Kontaktekzem | |
| • Phasen | Sensibilisierung | Haut (ohne Symptome) |
| | Auslösung/Elizitation | Haut (Ekzem) |
| • Toleranzinduktion | ev. durch orale Aufnahme | |
| • Test | Patch-, Epikutan-, Pflastertest | |
| • Allergene | - Pentadecacatechol (Giftsumach)
- kleine Metallionen
- Azofarbstoffe, Duftstoffe, Konservierungsstoffe u. v. a. | |

blasenförmige Hautläsionen durch Kontakt mit Urushiol



Figure 12-28 Immunobiology, 6/e, © Garland Science 2005

Typ-IV Allergie: Phase Sensibilisierung

Mechanismen der Sensibilisierung:

1. Haptenisierung
2. Entzündungsmediatoren aus Keratinozyt
3. Reifung Dendritischer Zellen
4. Migration Dendritischer Zellen
5. Proliferation Allergen-spezifischer T-Zellen

Sensibilisierung ohne Symptome!

Typ-IV Allergie: Phase Auslösung (Elizitation)

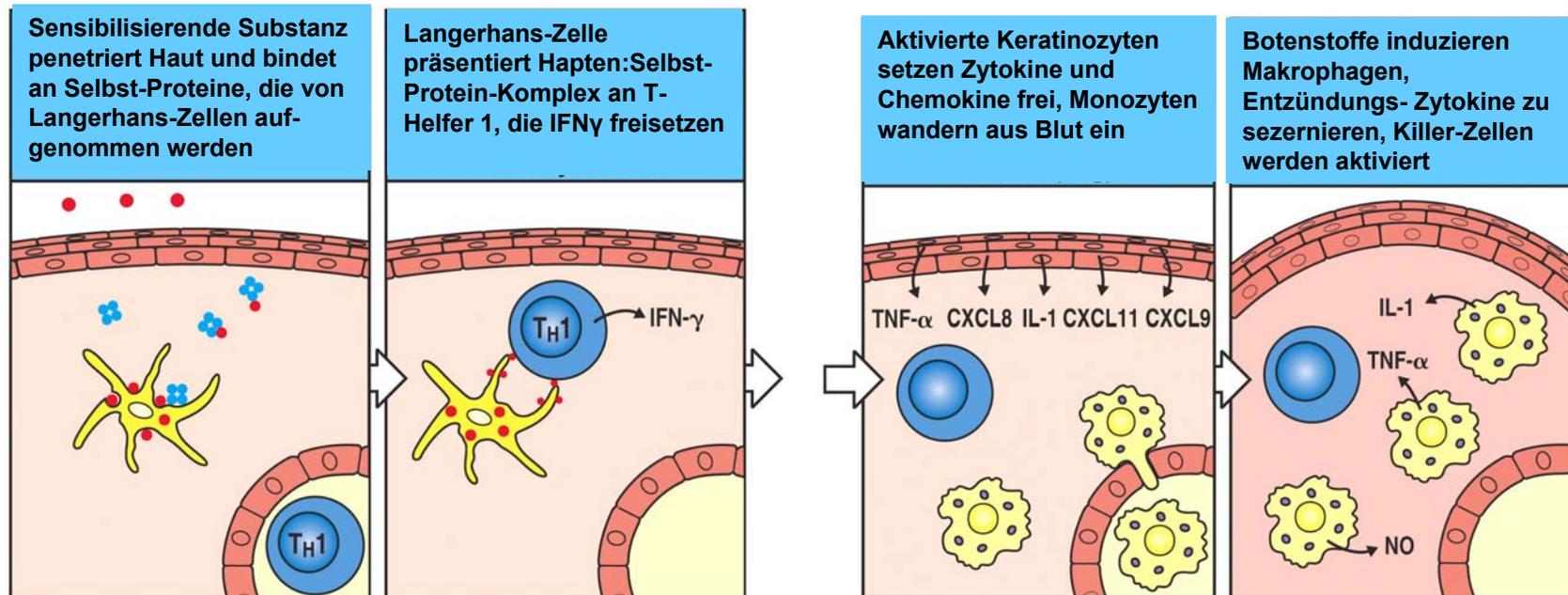


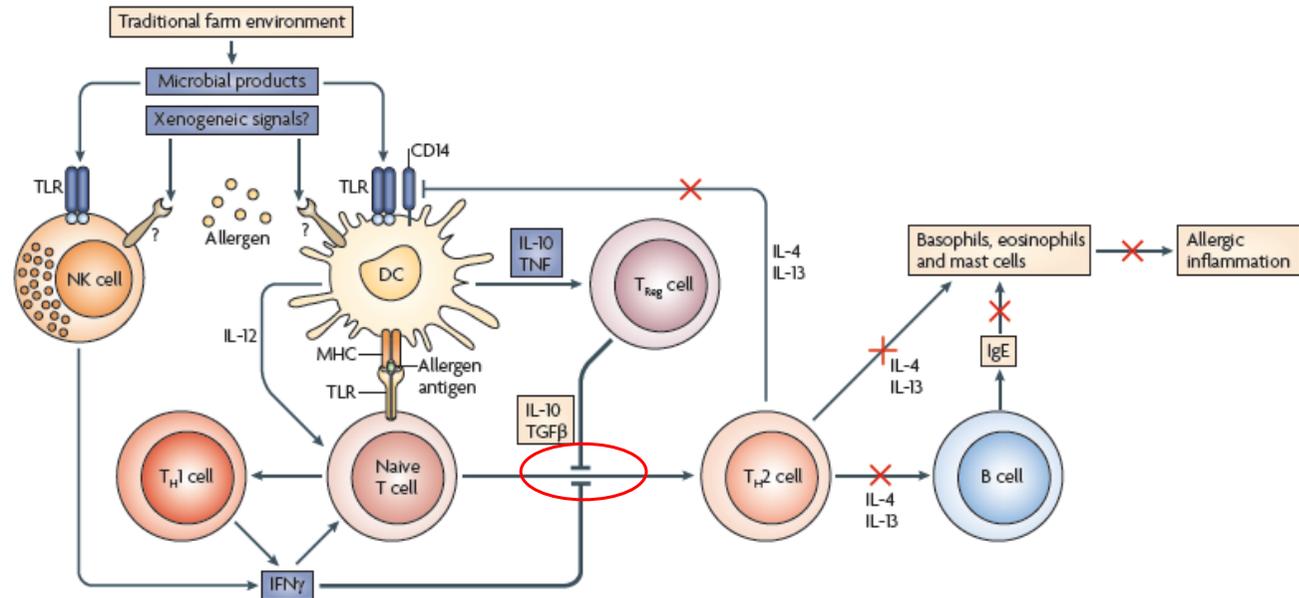
Figure 12-27 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Figure 12-27 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Aus der aktuellen Allergie-Forschung:

„Allergie ist Verlust der Kontrolle über Effektor-Zellen“?

„Kontakt mit Schmutz (Bakterien) schützt vor Allergien“?



Von Mutius, NRI (2010)

Gesundheit: Regulatorische T-Zellen kontrollieren Allergen-spezifische T-Helfer-Zellen
Allergie: Regulatorische T-Zellen können Allergen-spezifische T-Helfer-Zellen nicht mehr kontrollieren (auch bei ACD?)

Aus der aktuellen Allergie-Forschung:
„Wurmtherapie bei Allergie“?



Intestinaler Helminth *Heligmosomoides polygyrus* induziert **regulatorische T-Zellen**, die T-Helfer1/T-Helfer2 Antworten gegen inhalierte Allergene wie Der p1 unterdrücken

(Wilson et al., 2005, J. Exp. Med. 202:1199-1212)

II: Testverfahren für Endpunkt Sensibilisierung heute und morgen

Klinischer Test am Menschen

- **Test** Epikutantest, Test auf vorhandene Sensibilisierung, Auslösung
- **Indikation** Verdacht auf kontaktallergische Reaktion, Berufsdermatose
- **Anamnese** Alter, Geschlecht, Atopien, Beruf, Allergenexposition
- **Durchführung** Leitlinien der Deutschen Kontaktallergiegruppe (DKG)
 - Auswahl der Testallergene nach Anamnese (Standardreihen)
 - Applikation eines Hautpflasters mit Testsubstanzen für 24 oder 48 h, Kontrolle NLS
 - Ablesung der Ergebnisse an Tag 2, 3 oder 4
- **Dokumentation:**
 - negativ
 - fraglich
 - (+) bis (+++) = allergisch
 - irritativ

zentrale Datenerfassung D, A, CH: IVDK Göttingen

Nicht: Regulatorische Substanztestung (aus ethischen Gründen nicht zulässig, Gefahr der iatrogenen Sensibilisierung durch Epikutantest)

Erfassung eines allergenen Potentials für Typ IV:

Fragestellung

Prävalenz Allergie
Produktsicherheit

Untersuchung

Klinische epidemiol. Studien
Inhaltsstoffe im Tierversuch

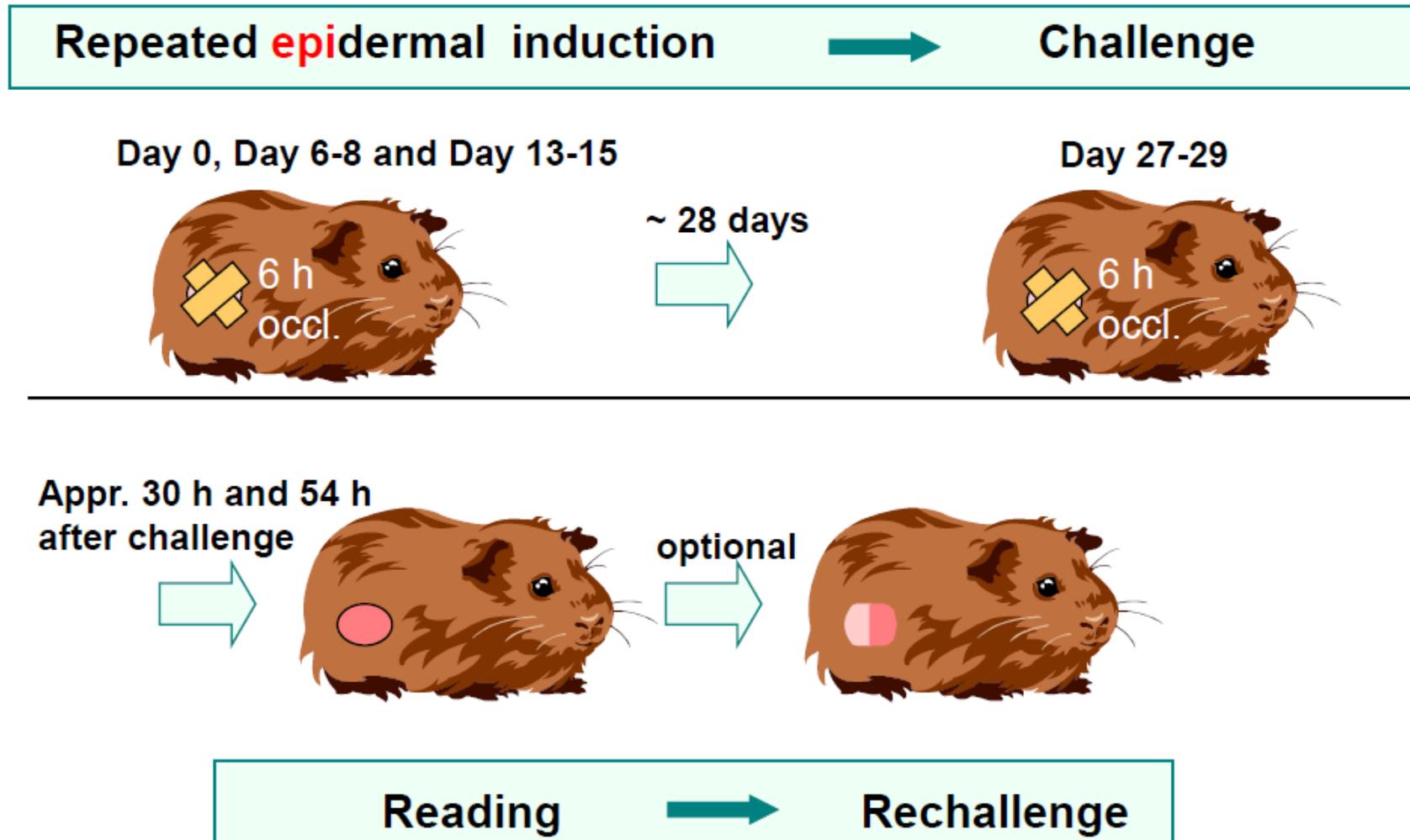
Test

Humaner Patch-Test
Lymphknotentest LLNA
Mausohr-Schwellungstest
Meerschweinchentests:

GPMT (Guinea Pig Maximization Test): Induktion intradermal, mit Adjuvans

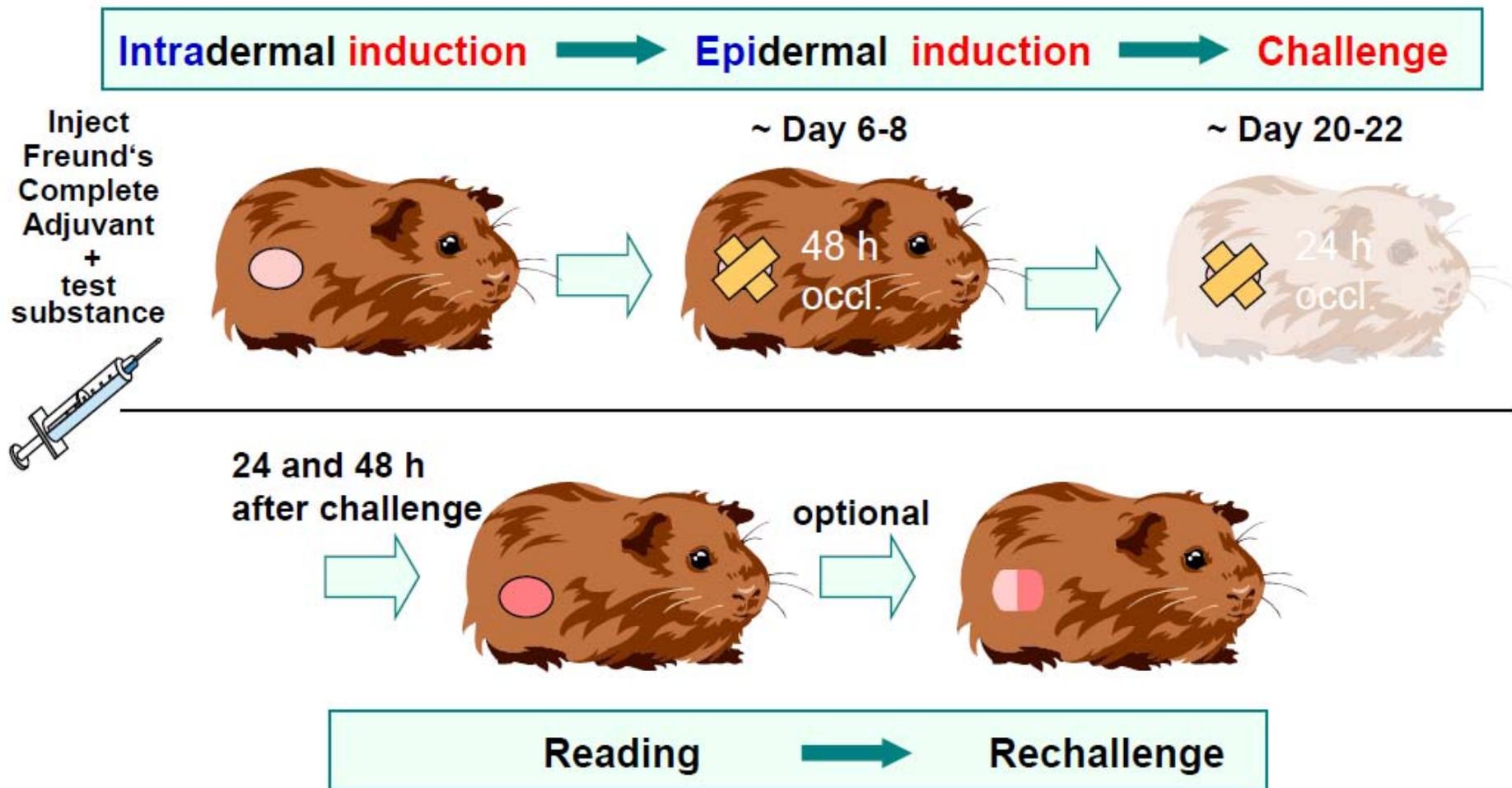
Buehler-Test: Induktion okklusiv, ohne Adjuvans

Meerschweinchentest: Buehler Test (OECD TG406)



1992 akzeptiert als Sensibilisierungstest, Primärer Test bis zum LLNA

Meerschweinchentest: Guinea Pig Maximation Test (OECD TG406) nach Magnusson und Kligman

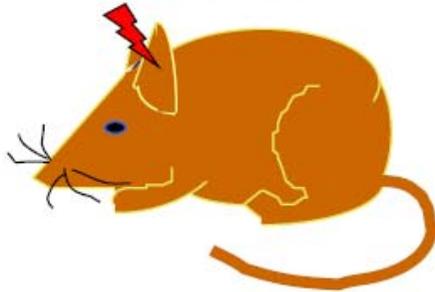


1992 akzeptiert als Sensibilisierungstest, Primärer Test bis zum LLNA

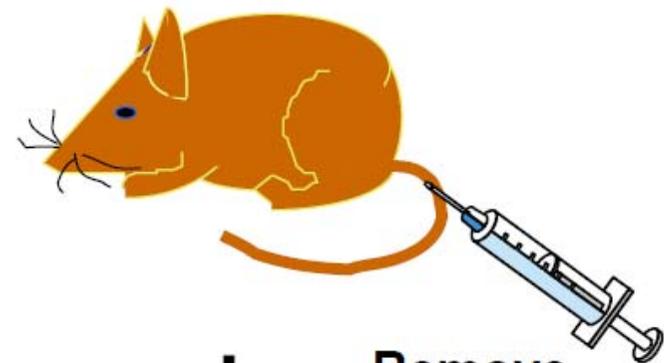
Maustest: Lokaler Lymphknotentest (LLNA, OECD TG429)

- zur Zeit bevorzugte Methode (EU, OECD)
- alternative Methode im Sinn von 3R, Tierversuch in der Maus

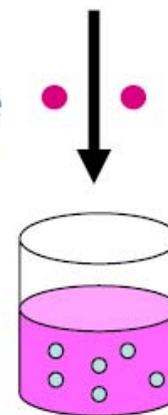
Epicutaneous induction: Application of the chemical on days 1, 2 and 3 (3 dose groups/1 vehicle group)



Inject ^3H -thymidine on Day 6



Remove lymph nodes 5 hours later; make a cell suspension

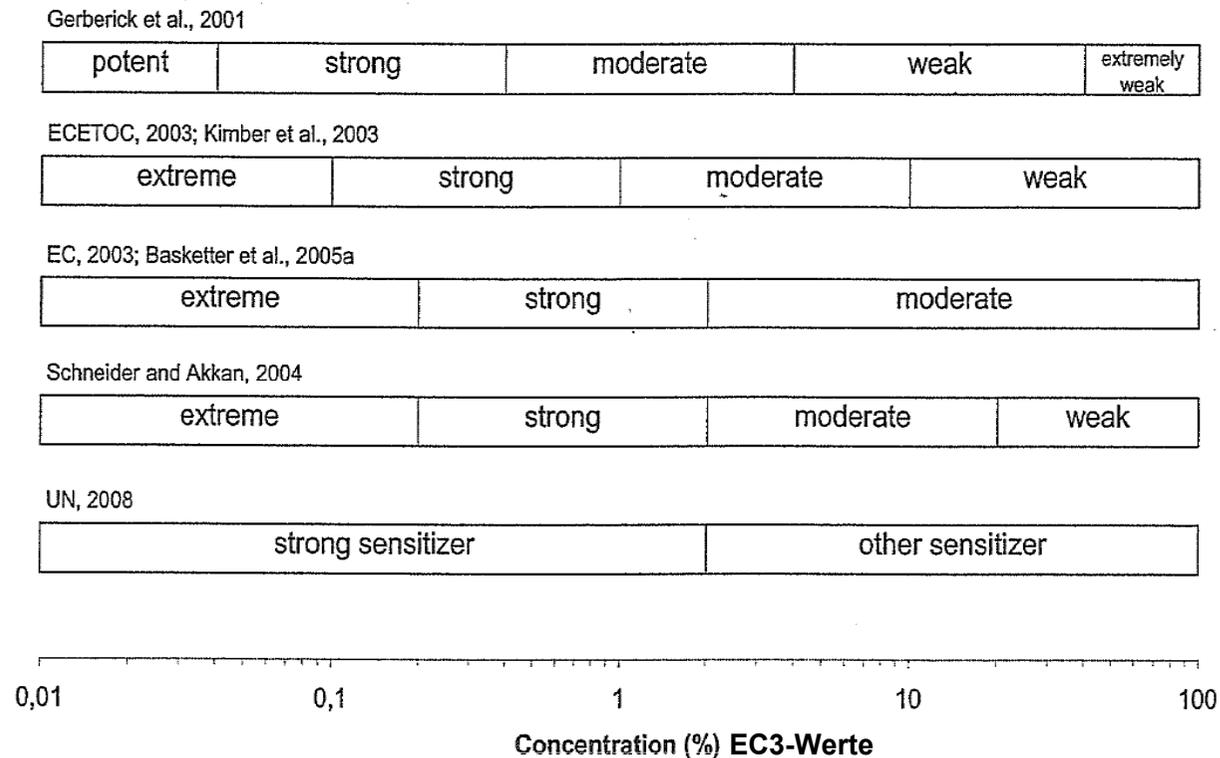


Determine ^3H -thymidine incorporation via liquid scintillation counting



Klassifizierung der sensibilisierenden Potenz im LLNA

- **EC3-Wert: Sensibilisierende Potenz; Effektive Konzentration einer Chemikalie, die im Vergleich zu nicht-exponierten Kontrollen eine dreifache Zunahme der Zellteilung in Lymphknoten-zellen induziert.**



Burg, Wijnhoven und Schuur (2010): RIVM Report 320015003/2010

Der LLNA auf seinem Weg zur OECD Testguideline

18 Jahre bis zur regulatorischen Akzeptanz



1984	LLNA Konzept entwickelt
1986	1. Veröffentlichung
1987-1990	Inter-Labor Entwicklung
1992	Publikation d. Standard Protokolls
1989-1997	Inter-Labor Validation
1990-1996	Vergleich mit Meerschweinchen Daten
1992-1996	Vergleich mit Human-Daten
1997-1998	Regulatorische Begutachtung
2002	Angenommen als OECD TG 429

Vergleich Sensibilisierungstests *in vivo*-Tierversuche

Meerschweinchentests

- Vorteile:
- Information über Sensibilisierung und Auslösung
 - seit 1992 benutzt, große historische Datenbasis
 - lange Erfahrung mit getesteten Produkten auf dem Markt
- Nachteile:
- Tierversuch
 - zeitintensiv
 - keine objektive Messung der Reaktion
 - keine Information über „Dose-Response“

LLNA

- Vorteile:
- minimiert Stress und Verletzung (3R-Prinzip)
 - Information über „Dose-Response“
 - Formal validiert
- Nachteile:
- Tierversuch
 - nur Information über Sensibilisierung
 - begrenzte historische Datenbasis

Toolbox für die Risikobewertung von Hautsensibilisierung

Alternativen zum Tierversuch

Mechanistischer Schritt	Tierversuchsfreie Testmethode	Geschätzter Zeitrahmen für Beginn Prävalidierung
1	<i>In silico</i> -Chemie	keine Validierung
2	Peptid-Reaktivität	2009-2011
1+2	Keratinocyten-Kulturen	2010-2012
2+3	Keratinocyten:DC-Kulturen	2011-2012
2	3-D Hautmodelle	2010-2011
2+3	3-D Hautmodelle+DC	2012-2015
3	Aktivierung DC	2009-2012
4	Migration DC	2012-2015
3+5	Teilung T-Zellen	2015-2017

Mechanistischer Schritt 1: Haptenisierung

- ***In silico* Tools - OECD (Q)SAR Application Toolbox**

Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehung: Vorhersage eines sensibilisierenden Potentials von strukturverwandten Chemikaliengruppen; Voraussetzung: Messdaten von Chemikalien zu Toxikokinetik und Toxikodynamik liegen vor

- **Peptid-Reaktivitäts-Tests**

Vorhersage eines sensibilisierenden Potentials *in chemico*, d.h. auf der Basis von Daten zur chemischen Reaktivität und über Bindungsraten an nukleophile Ziele. Direkter Peptid-Reaktivitäts-Test DPRA in Prävalidierung

Mechanistischer Schritt 3: Tests mit Keratinozyten und Dendritischen Zellen

Keratinocyten

- aktivieren Kontaktallergene metabolisch
- haptensieren Chemikalien
- detektieren Gefahrensignale von Pathogenen, Toxine, Allergene über den Inflammasom-Komplex
- setzen Entzündungs-Zytokine frei: IL-1 α / β , IL-6, IL-18, TNF- α

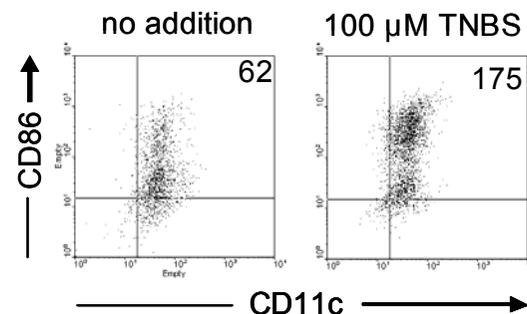
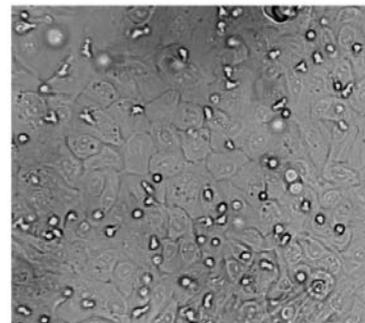
Test LCSA

(loose-fit coculture-based sensitization assay)

Endpunkte - CD86

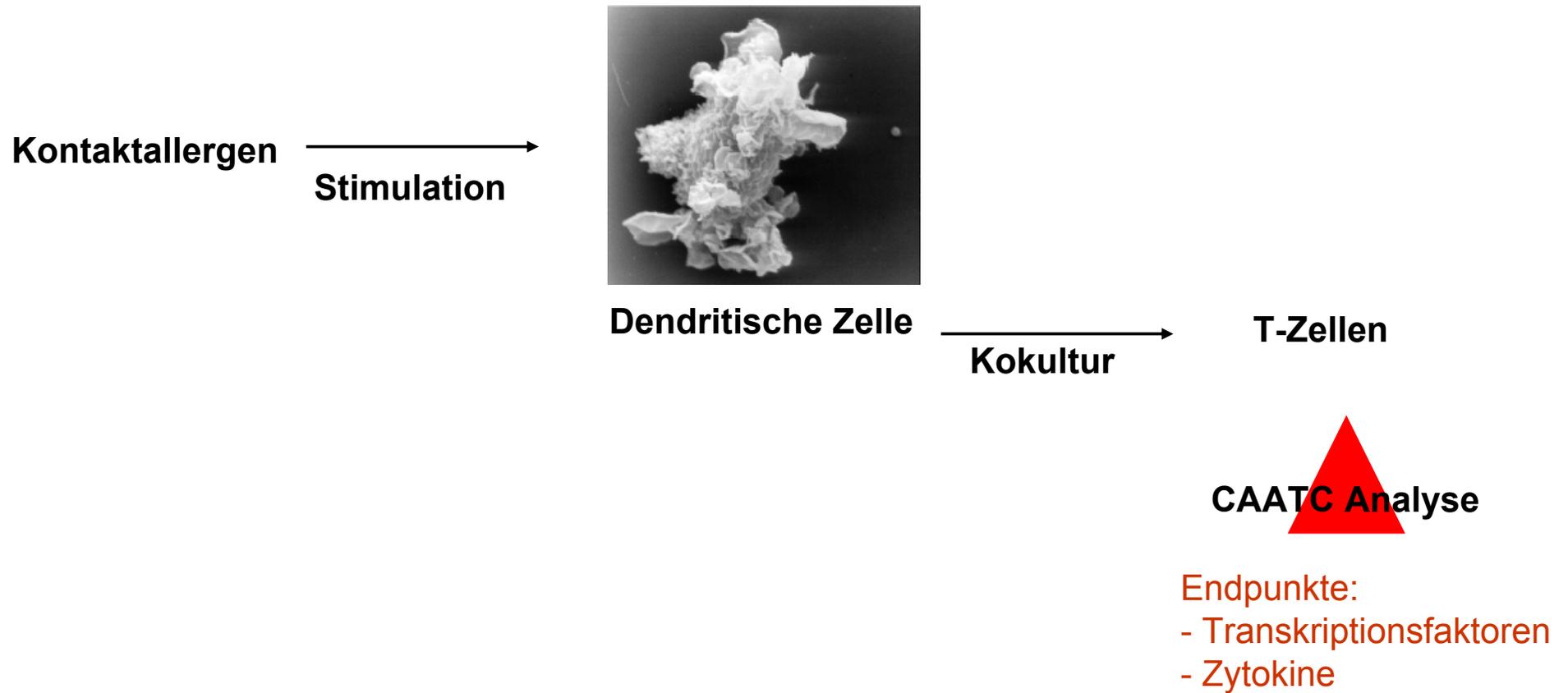
- IL-6

- MIP-1 β



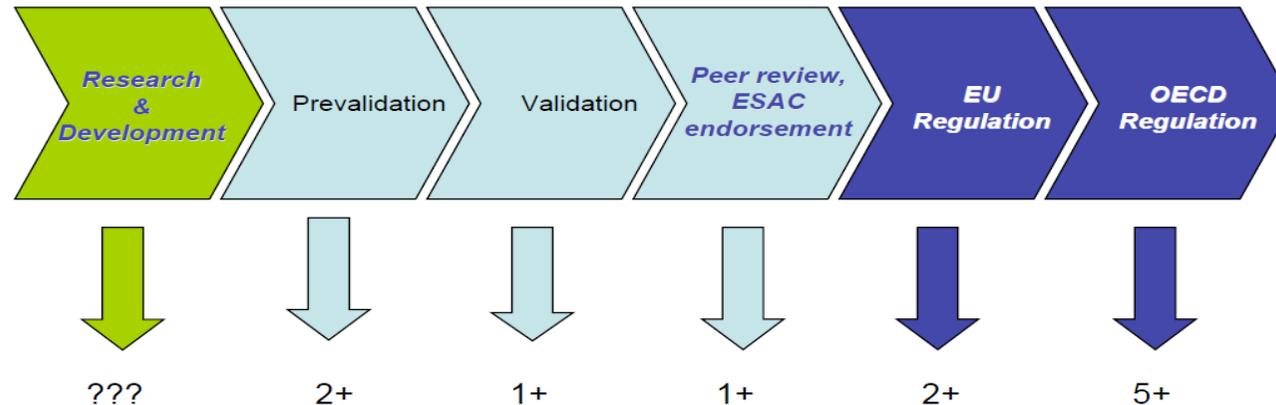
Wanner, R. et al. (2010): *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 245: 211-218.

Mechanistische Schritte 3+4+5: Tests mit Dendritischen Zellen und T-Zellen



BMBF-Projekt CAATC-Assay, BfR

Zusammenfassung und Zeitplan Alternativmethoden für Endpunkt Sensibilisierung



Manou, I. et al. (2005). Safety data requirements for the purpose of the Cosmetics Directive. *Altern. Lab: Anim.* 33, Suppl. 1: 21-26.

- Fortschritte in Forschung und Entwicklung
- 3 Testmethoden in der Prävalidierung für Gefährdungsidentifizierung
- Sensibilisierungspotential kann z. Z. noch nicht alternativ, ohne Tierversuch bestimmt werden
- Neuer Zeitplan:

- **2013** kein vollständiger Ersatz von *in-vivo* Methoden verfügbar
- **2017-19** Risikobewertung für Hautsensibilisierung durch eine "Toolbox" verschiedener, sich ergänzender Methoden möglich: Nachweis, dass Test robust, relevant und erkennt ein Sensibilisierungspotential
- Vollständige Akzeptanz durch Regulation möglich

III: Regulation des sensibilisierenden Potentials von Inhaltsstoffen aus Kosmetika in der EU

Regulation bei kosmetischen Mitteln

LFGB *Kosmetische Mittel dürfen nicht geeignet sein, die Gesundheit zu schädigen*

- Täuschungsverbot
- Produktregister beim BVL
- Vergiftungsmeldungen
- Produktdossier
- Kennzeichnung
- NEU: Tattoos werden kosmetischen Mitteln gleichgestellt

Kosmetik-Verordnung in Deutschland

1. *Positivlisten*
2. *Negativlisten*
3. *Deklaration*
4. *Produktdossier*
5. *Inventarliste*

Risikobewertung von kosmetischen Produkten

- Informationen über die Bestandteile
- Exposition gegenüber dem Produkt
- In-vitro-Tests der Formulierung
- Test an Probanden
- Risikobewertung in einem Dossier durch qualifizierte Personen

Aufgabe der Hersteller und der Länder !

Elemente der Risikobewertung der Inhaltsstoffe

1. Gefährdungspotential
2. Dosis-Wirkungsbeziehung
3. Exposition
4. Risikocharakterisierung

Grundlage: Dossier der Industrie

- Spezifikation (inklusive Kontamination und Stabilität)
- Toxikologische Daten
- Erfahrungen beim Menschen

Formale Anforderungen:

OECD-Guideline

GLP

Notes of Guidance SCCP

Risikobewertung der Ingredienzien: Toxikologische Daten (*Notes of Guidance SCCP/1005/06*)

1. Toxikokinetik

- Hautresorption
- (Verteilung, Metabolismus)

2. Systemische Toxizität

- Akute Toxizität
- Subchronische Toxizität
- (chronische Toxizität)
- Reprotox: Entwicklung + (Reproduktion)

3. Mutagenität / Kanzerogenität

- Genotoxizität
- (Kanzerogenität)

4. Dermatotoxizität

- Haut- und Schleimhautirritation
- Hautsensibilisierung
- Phototoxizität bei UV-Filtern (Irritation, Mutagenität, Sensibilisierung)

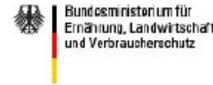
Verbot von Tierversuchen, Richtlinie 2003/15/EG

- Vermarktungsverbot für Kosmetika, die als solche in Tierversuchen getestet wurden, wenn eine validierte Alternativmethode in der EU angenommen wurde.
- Vermarktungsverbot für Kosmetika, deren Bestandteile in Tierversuchen getestet wurden, wenn
- Frist 2009, Ausnahme Toxizität nach Mehrfachgabe, Reprotox, Kinetik 2013
- Anhang IX 76/768/EWG bzw. Anhang VIII 2009/1223/EU Verzeichnis der Methoden, noch leer
- Draft report der EU Kommission 2010, public consultation: 2011 Bericht an EP und den Rat:

Fortschritte sind erkennbar bei Tests auf sensibilisierende Eigenschaften, 2017-19 Risikobewertung mit Toolbox erreichbar

Maßnahmen Kontaktallergie

Allergieportal BMELV als Bestandteil des Aktionsplans Allergien



Sie sind hier: [Startseite](#)

Muss, wer schön sein will, leiden? Zu Risiken und Nebenwirkungen von Tätowierungen

Editorial



Schmuck-Tätowierungen erfreuen sich seit vielen Jahren in weiten Teilen der Bevölkerung zunehmender Beliebtheit. Nicht zuletzt die Medienpräsenz tätowierter Stars aus Rock- und Popmusik, tätowierter Sportler und Schauspieler hat zur Popularität und Akzeptanz der Kunst am Körper beigetragen. Tattoos sind salonfähig geworden.

Doch bei aller Beliebtheit – die Entscheidung für oder gegen eine Tätowierung sollte nicht zu leichtfertig getroffen werden. Zunächst ist zu bedenken, dass Tätowierungen nur schwer

wieder entfernt werden können. Schließlich werden beim Tätowieren körperfremde Farbstoffe nicht wie bei Kosmetika oberflächlich auf die Haut aufgetragen, sondern dauerhaft in die mittlere Hautschicht (Dermis) eingebracht. Dazu werden die Farbstoffe üblicherweise in Tattoostudios mit einer Tätowiermaschine in die Haut "gestochen". Eine Entfernung der Tätowierung ist daher nur mit erheblichem Aufwand möglich und mitunter schmerzhaft, zeit- und kostenintensiv. Auch können nach der Tattoo-Entfernung Pigmentstörungen, Hautreizungen und Narben zurückbleiben.

Durch Inhaltsstoffe der verwendeten Farben können allergische Reaktionen oder andere Hautbeschwerden hervorgerufen werden. Bei Verwendung von in Deutschland zugelassenen Pigmenten in permanenten Schmucktätowierungen treten jedoch allergische Reaktionen so gut wie nicht auf. Denn durch die in Deutschland seit dem 1.5.2009 geltende Tätowiermittelverordnung wird die Verwendung von Inhaltsstoffen in Tätowiermitteln eingeschränkt. Stoffe, die aus gesundheitlichen Gründen nicht in kosmetischen Mitteln verwendet werden dürfen, dürfen auch nicht in Tätowierfarben verwendet werden. Schutz bietet eine Negativliste, in der die betreffenden Stoffe genannt werden. Zu bedenken ist jedoch, dass Tätowiermittel in einigen Ländern nicht bzw., anders als in Deutschland reguliert sind. Auch bei vorübergehenden Henna-Tattoos ist Zurückhaltung angebracht, insbesondere wenn schwarze Pigmente enthalten sind. Nähere Informationen dazu finden Sie [hier](#).

Doch auch der Tätowiervorgang an sich birgt gesundheitliche Risiken: Bei unsteriler Arbeitsweise während des Tätowierens kann es z.B. zu schmerzhaften Entzündungen kommen. Auch können mitunter schwerwiegende Infektionskrankheiten durch Bakterien, Pilze und Viren (z.B. Hepatitis B, Hepatitis C, HIV) übertragen werden. Daher sollten Interessierte die hygienischen Bedingungen im Tätowierstudio genau unter die Lupe nehmen und auf einen sauberen Arbeitsplatz und sterile Arbeitsbedingungen (z.B. Verwendung steriler Einmalhandschuhe und von Einmal-Tätowier-Besteck oder alternativ Tätowier-Besteck, das im Sterilisator sterilisiert wurde) achten. Weitere Informationen dazu, was bei der Wahl des Tätowierstudios zu beachten ist, finden Sie [hier](#).

Ob im In- oder im Ausland – die Entscheidung für eine Tätowierung will wohl überlegt sein.

Dr. rer. nat. Matthias Peiser
Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

Allergieportal Editorial 1/2011: Tätowierungen

Vielen Dank für Ihre
Aufmerksamkeit!

Dr. Matthias Peiser

Bundesinstitut für Risikobewertung
Experimentelle Forschung
Abteilung Sicherheit von verbrauchernahen Produkten

Thielallee 88-92 • 14195 Berlin • Germany
Tel. +49-30-8412-3414 • Fax +49-30-8412-3763
Matthias.peiser@bfr.bund.de • www.bfr.bund.de