

DOI 10.17590/20211014-085829

## **Tätowiermittel: Mindestanforderungen und Prüfmethode**

Stellungnahme Nr. 031/2021 des BfR vom 14. Oktober 2021

Tätowiermittel enthalten Farbpigmente und Hilfsstoffe. Nach den Vorgaben des Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuches (LFGB) dürfen Tätowiermittel, an deren gesundheitlicher Unbedenklichkeit Zweifel bestehen, nicht verwendet werden. Stoffe bzw. Gemische zu Tätowierzwecken sind in der REACH-Verordnung [Eintrag 75 des Anhangs XVII der REACH-Verordnung (Verordnung (EG) Nr. 1907/2006)] geregelt. Allerdings gibt es bislang keine verbindlichen Kriterien, nach denen eine Sicherheitsbewertung von Tätowiermitteln erfolgen soll. Auch fehlen für eine gesundheitliche Risikobewertung geeignete Prüfmethode und Daten. So ist beispielsweise kaum etwas über unerwünschte Folgen bekannt, die mit der Injektion von Tätowiermitteln in die Haut verbunden sein können, oder über mögliche Effekte, die in anderen Organen ausgelöst werden könnten. Daher hat das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) Mindestanforderungen an Tätowiermittel sowie Prüfmethode für Hersteller und Inverkehrbringer erarbeitet, die primär für die Sicherheit ihrer Produkte verantwortlich sind.

Für die vorgestellten toxikologischen und analytischen Mindestanforderungen liegen bereits Testmethoden vor, so dass sie sofort angewendet werden können. Darüber hinaus zeigt das BfR Anforderungen auf, für die zunächst weitere Forschung notwendig ist oder Methoden entwickelt werden müssten, d. h., die derzeit also noch nicht operabel sind.

Die im Folgenden dargestellten BfR-Mindestanforderungen sollen die Grundlage für eine künftige gesundheitliche Risikobewertung von Tätowiermitteln und den Beginn eines umfassenden Konsultationsprozesses mit allen Beteiligten aus Wissenschaft, Wirtschaft, Politik und Öffentlichkeit markieren. Da Pigmente den Hauptbestandteil von Tätowiermitteln bilden, sind diese für die gesundheitliche Risikobewertung zum Schutz von Verbraucherinnen und Verbrauchern besonders wichtig. Daher hat das BfR in dieser Stellungnahme insbesondere die Pigmente betrachtet. Das Institut erwartet, dass sich bereits durch die Anwendung der hier beschriebenen operablen Mindestanforderungen das Schutzniveau von Tätowierten gegenüber der jetzigen Situation wesentlich erhöhen kann.

Die Mindestanforderungen sollen zum einen dazu beitragen, Tätowierpigmente zu identifizieren, die für Tattoos nicht geeignet sind. Zum anderen werden durch die Verwendung von Pigmenten, die die toxikologischen Mindestanforderungen erfüllen, mögliche Gesundheitsrisiken nach dem aktuellen Stand von Wissenschaft und Technik gesenkt. Das BfR spricht jedoch aufgrund fehlender Daten derzeit noch keine Verwendungsempfehlungen aus.

### **Inhaltsverzeichnis**

1	Einleitung .....	2
2	Operable Mindestanforderungen und Untersuchungsmethode.....	6
2.1	Notwendige Spezifikationen zu Inhaltsstoffen von Tätowiermitteln .....	6
2.1.1	Chemische Identität .....	8
2.1.2	Funktion und Verwendungen.....	8
2.1.3	Physikalische Eigenschaften .....	8

2.1.4	Charakterisierung und Reinheit der Chemikalie.....	12
2.1.5	Charakterisierung von Kontaminanten und freisetzbaren Stoffen .....	12
2.1.6	Homogenität und Stabilität .....	15
2.2	Operable toxikologische Mindestanforderungen.....	16
2.2.1	Endpunkt Augenreizung/-schädigung.....	22
2.2.2	Endpunkt Hautreizung/-ätzung.....	24
2.2.3	Endpunkt Phototoxizität.....	25
2.2.4	Endpunkt Hautsensibilisierung .....	27
2.2.5	Genotoxizität .....	30
2.2.6	Photogenotoxizität.....	33
3	Zu entwickelnde toxikologische Prüfanforderungen und Einschätzung der Exposition .	34
3.1	Zu entwickelnde toxikologische Prüfanforderungen - noch nicht operabel.....	34
3.1.1	Identifizierung aus Pigmenten freisetzbarer Bestandteile und Anwendung eines Schwellenwertkonzeptes für lösliche Substanzen.....	34
3.1.2	Toxikokinetik von Tätowierpigmenten.....	35
3.1.3	<i>In-vivo</i> -Testung ausgewählter Pigmente .....	36
3.2	Exposition .....	38

## 1 Einleitung

Unter Tätowieren versteht man das Einbringen von Formulierungen farbgebender Stoffe in die Haut oder die Schleimhäute zur Beeinflussung des Aussehens. Zum Schutz der Verbraucherinnen und Verbraucher sind Tätowiermittel reguliert. Neben den Bestimmungen der deutschen Tätowiermittelverordnung<sup>1</sup> gilt für Stoffe in Tätowiermitteln und Permanent Make-up seit dem 14. Dezember 2020 auf europäischer Ebene die REACH-Verordnung [Eintrag 75 des Anhangs XVII der REACH-Verordnung (Verordnung (EG) Nr. 1907/2006)], abgekürzt REACH-VO<sup>2</sup>. Diese Verordnung beschränkt die Verwendung von Stoffen mit bekannten und vermuteten gesundheitsschädlichen Wirkungen. Sie legt Höchstkonzentrationen für diese Stoffe in Tätowiermitteln fest.

<sup>1</sup> Verordnung über Mittel zum Tätowieren einschließlich bestimmter vergleichbarer Stoffe und Zubereitungen aus Stoffen (Tätowiermittel-Verordnung), [https://www.gesetze-im-internet.de/t\\_tov/BJNR221500008.html](https://www.gesetze-im-internet.de/t_tov/BJNR221500008.html)

<sup>2</sup> VERORDNUNG (EU) 2020/2081 DER KOMMISSION vom 14. Dezember 2020 zur Änderung des Anhangs XVII der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) betreffend Stoffe in Tätowierfarben oder Permanent Make-up.

Zum Verständnis der Stellungnahme hat das BfR folgende Begriffe definiert:

### **Begriffe und Erläuterungen**

- **Tätowiermittel** sind in § 4 Absatz 1 Nummer 3 des Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuches definiert.
- **Tätowierpigmente** sind die farbgebenden Komponenten im Tätowiermittel.
- Die Spezifikationen sind für **Tätowiermittel** ausgelegt und gelten entsprechend für darin enthaltene Pigmente und alle Hilfsstoffe.
- Die **toxikologischen Mindestanforderungen** beziehen sich derzeit nur auf die **Tätowierpigmente**.
- Tätowierpigmente, die den toxikologischen Mindestanforderungen entsprechen, reduzieren mögliche Gesundheitsrisiken entsprechend dem **aktuellen Stand von Wissenschaft und Technik**. Es können jedoch gegenwärtig noch keine Verwendungsempfehlungen ausgesprochen werden.

Generell ist nur wenig über unerwünschte Folgen bekannt, die mit der Injektion von Tätowiermitteln in die menschliche Haut (dermale Schicht) verbunden sein können. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass Effekte auch an anderen Organen als der Haut zu einem späteren Zeitpunkt als Folge der Exposition gegenüber den Inhaltsstoffen von Tätowiermitteln auftreten. Verantwortlich für die Sicherheit von Tätowiermitteln sind Hersteller und Inverkehrbringer. Definierte Kriterien, nach denen eine Sicherheitsbewertung erfolgen soll, gibt es derzeit nicht. Basis einer künftigen Risikobewertung von Tätowiermitteln sollte die analytische und toxikologische Charakterisierung sein. Hierfür hat das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) im Folgenden Anforderungen erarbeitet. Es ist dabei zu unterscheiden zwischen:

- 1) Mindestanforderungen, für die Testmethoden existieren und die bereits heute operabel sind.
- 2) Anforderungen, die weitere Forschung oder Methodenentwicklung benötigen; diese sind noch nicht operabel.

Durch die Einführung von Mindestanforderungen (1) können Risiken, die mit einer Tätowierung einhergehen, so weit wie nach dem gegenwärtigen Stand von Wissenschaft und Technik möglich, reduziert werden. Eine vollständige Risikobewertung von Tätowiermitteln erfordert einen umfassenden Datensatz. Sie kann erst nach weiterer Forschung, einem umfassenden Abstimmungsprozess mit allen Beteiligten aus Wissenschaft, Wirtschaft, Politik und Öffentlichkeit, und der Etablierung geeigneter Methoden (2) erfolgen und ist aus Sicht des BfR zum gegenwärtigen Zeitpunkt daher noch nicht möglich.

Pigmente bilden den Hauptbestandteil von Tätowiermitteln, ihre Risikobewertung wird als besonders vordringlich für den gesundheitlichen Verbraucherschutz betrachtet. Daher werden in dieser Stellungnahme insbesondere die Pigmente betrachtet. Die im Folgenden aufgeführten Reinheitsanforderungen werden jedoch sowohl für Tätowierpigmente als auch für andere Inhaltsstoffe von Tätowiermitteln vorgeschlagen (Kapitel 2.1). Die toxikologischen *In-vitro*-Prüfungen sind für Tätowierpigmente ausgelegt (Kapitel 2.2).

Eine besondere Herausforderung stellt die Analyse von Pigmenten sowie ihrer toxikologisch relevanten Inhaltsstoffe und Verunreinigungen dar. Derzeit existieren hierfür keine etablierten Routinemethoden und generell nur sehr wenige Labore, die diese Analyse durchführen können. Diese Substanzen sollten jedoch künftig sowohl in der Formulierung nachgewiesen als

auch hinsichtlich potentiell im Körper entstehender Abbauprodukte untersucht werden. Die bereits heute praktikablen Anforderungen umfassen u. a. eine Fünf-Chargen-Analyse einiger Inhaltsstoffe hinsichtlich primärer aromatischer Amine (PAAs), Metalle und polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAKs) sowie eine Angabe der Partikelgrößenverteilung der Pigmente. Tätowierpigmente können gemäß der EU-Definition Nanomaterialien (NM) sein, was eine entsprechende Betrachtung erfordert<sup>3</sup>. Für registrierungspflichtige Pigmente gelten die Informationsanforderungen unter REACH Anhang VI, 2.4.2- 2.4.5<sup>4</sup>. Nach Anpassungen weiterer Prüfrichtlinien sind diese zukünftig zu beachten.

Toxikologische *In-vitro*-Tests können für die Endpunkte Augenreizung/-schädigung, Hautreizung/-ätzung, Phototoxizität, Hautsensibilisierung, Genotoxizität und Photogenotoxizität gefordert werden. Hierfür werden etablierte OECD-Prüfrichtlinien vorgeschlagen. Diese sind bereits seit langem auch für die Risikobewertung kosmetischer Mittel im Einsatz. Die hier beschriebenen Informationsforderungen sind in einer Teststrategie schrittweise zu erfüllen. Gefährliche Stoffeigenschaften, die einer Verwendung in Tätowiermitteln entgegenstehen (z. B. weil sie den Kriterien der Beschränkung gefährlicher Stoffe für die Verwendung in Tätowiermitteln unter REACH entsprechen), beenden die Durchführung der weiteren Tests und würden abschließend eine Nicht-Verwendung in Tätowiermitteln begründen. Es ist zu erwarten, dass sich bereits durch die Anwendung der hier beschriebenen operablen Mindestanforderungen das Schutzniveau gegenüber der jetzigen Situation wesentlich erhöht.

Eine vollumfängliche Bewertung aller gesundheitlichen Risiken mit *In-vitro*-Tests ist derzeit nicht möglich. So ist z. B. eine Bewertung chronisch-toxischer Wirkungen sowie von Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität nicht möglich (ausgenommen, es sind Daten vorhanden, die z. B. eine chronische Toxizität belegen). Für diese Endpunkte liegen aktuell keine validierten *In-vitro*-Testmethoden vor. Die Eignung etablierter Testmethoden mit *In-vivo*-Studiendesign (z. B. des OECD-Prüfrichtlinienprogrammes), wie sie im Rahmen anderer Regelungsbereiche (z. B. in der REACH-VO) verankert sind, ist wissenschaftlich derzeit noch nicht ausreichend belegt. Um den Vorgang des Tätowierens, d. h. das intradermale Applizieren von Pigmenten, abzubilden, hält das BfR eine Weiterentwicklung und Anpassung der vorhandenen *In-vivo*-Testmethoden zu den drei genannten Endpunkten für erforderlich. Aktuell können daher keine operablen Informationsanforderungen zu den Endpunkten chronische Toxizität, Reproduktionstoxizität und Kanzerogenität vorgeschlagen werden.

Bei Pigmenten handelt es sich um größtenteils schwer lösliche partikuläre Substanzen. Über ihren Verbleib und ihre Wirkung im menschlichen Körper ist nur sehr wenig bekannt<sup>5</sup>. Zahlreiche Aspekte wie die Verteilung der Pigmentpartikel im Körper, ihre Persistenz in Organen in Form von Nano- oder Mikropartikeln, der Abbau der injizierten Substanzen bei enzymatischer Verdauung oder ihre Photostabilität bei Exposition gegenüber Sonnenlicht sind nur unzureichend geklärt. Hierfür ist die Nutzung von Humandaten und gezielten epidemiologischen Studien unerlässlich, da nur diese die potentiellen Effekte einer lebenslangen Exposition des Menschen abbilden können.

Das BfR arbeitet bereits an der Gewinnung von Humandaten. Zum Beispiel ist die Analyse von Blut- und Urinproben von Personen kurz nach dem Tätowiervorgang geplant. Darüber hinaus wird an der Nutzung vorhandener epidemiologischer Datenbanken, z. B. der LIFE-

<sup>3</sup> [https://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition\\_en.htm](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition_en.htm)

<sup>4</sup> <https://euon.echa.europa.eu/reach-test-methods-for-nanomaterials>

<sup>5</sup> Giubudagian M et al., (2020) Safety of tattoos and permanent make-up: a regulatory view. Arch Toxicol 94:357–369. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02655s>

Studie<sup>6</sup> und der NAKO<sup>7</sup>, gearbeitet. Eine Kurzzeitbioverfügbarkeitsstudie zur Ermittlung der pro Hautfläche (pro cm<sup>2</sup> Haut) eingebrachten Menge Tätowiermittel wird derzeit vorbereitet. Das Konzept der *In-vivo*-Testung ausgewählter Pigmente in Form einer repräsentativen Studie mit intradermaler Exposition wird im Rahmen dieser Stellungnahme beschrieben (Kapitel 3.1). Hier sollen grundlegende Informationen zur Toxikokinetik gewonnen werden; diese Studie ist allerdings nicht als Standardanforderung für alle Pigmente zu sehen. Alle experimentell gewonnenen Daten sollen für den Einsatz in *In-silico*-Ansätzen (wie z. B. mathematischen Modellierungen) in Betracht gezogen werden.

Im Folgenden sind die Aspekte, die zur Entwicklung einer vollständigen Risikobewertung notwendig erscheinen, aufgeführt:

Kurzfristig	Mittelfristig	Langfristig
<p>1. Herstellung von repräsentativen Testmaterialien und Entwicklung von Methoden für den Nachweis und die Quantifizierung von Pigmenten.</p> <p>2. Definition des Extraktions- und Analysenverfahrens für PAKs aus Tätowiermitteln. Harmonisierung der Methode. Etablierung einer reproduzierbaren und robusten Methode für die reduktive Spaltung von Azopigmenten.</p>	<p>1. Durchführung und Auswertung von Human-Biomonitoring-Studien, Erfassung und Dokumentation von Humandaten.</p> <p>2. Planung und Durchführung von repräsentativen toxikokinetischen Studien zur Analyse der Organbelastung und der systemischen Effekte. Entwicklung von analytischen Methoden zur Quantifizierung von Pigmenten und ihren Abbauprodukten in Organen und Geweben.</p> <p>3. Entwicklung von Gruppierungsansätzen für Test- und Bewertungsstrategien.</p>	<p>1. Etablierung von geeigneten <i>In-vitro/Ex-vivo</i>-Methoden und/oder <i>In-silico</i> Modellen zur Prüfung/Ab-schätzung des Verhaltens unlöslicher Pigmente nach intradermaler Applikation.</p>

PAKs: Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, PBPK: Physiologically based pharmacokinetic (modelling), QSAR: Quantitative structure-activity relationship

Bei Inhaltsstoffen von Kosmetika hat die Abwägung von Tierschutz und Verbraucherinteressen zu einem seit dem Jahr 2013 bestehenden europaweiten Tierversuchsverbot für diese Verwendungsart geführt<sup>8</sup>. Obwohl Tätowiermittel und kosmetische Mittel im Hinblick auf ihre Applikation grundsätzlich nicht gleichzusetzen sind verzichtet das hier vorgelegte Konzept weitgehend auf den Vorschlag des Einsatzes von Tierversuchen. Eine diesbezügliche Klärung zu weiteren Endpunkten steht noch aus.

Die grundsätzliche Entscheidung über den Einsatz von *In-vivo*-Methoden zur Sicherheitsprüfung von Tätowiermitteln im Tiermodell liegt außerhalb der Zuständigkeit des BfR.

Abschließend wird auch auf den Arbeitsschutz der Tätowierer als ein weiterer wichtiger Aspekt hingewiesen. Dieser wird allerdings hier nicht behandelt und wäre ggf. unter Einbeziehung der zuständigen behördlichen Stellen separat zu adressieren. Darüber hinaus werden Risiken, die sich aus der nachträglichen Entfernung der Tätowierung aus der Haut ergeben könnten, in diesem Rahmen nicht behandelt, ebenso wie medizinische Anwendungen des Tätowierens.

<sup>6</sup> Loeffler M et al., (2015) The LIFE-Adult-Study: objectives and design of a population-based cohort study with 10,000 deeply phenotyped adults in Germany. BMC Public Health 15(1):691

<sup>7</sup> <https://nako.de/>

<sup>8</sup> Siehe Verordnung 1223/2009/EU über kosmetische Mittel.

## 2 Operable Mindestanforderungen und Untersuchungsmethoden

### 2.1 Notwendige Spezifikationen zu Inhaltsstoffen von Tätowiermitteln

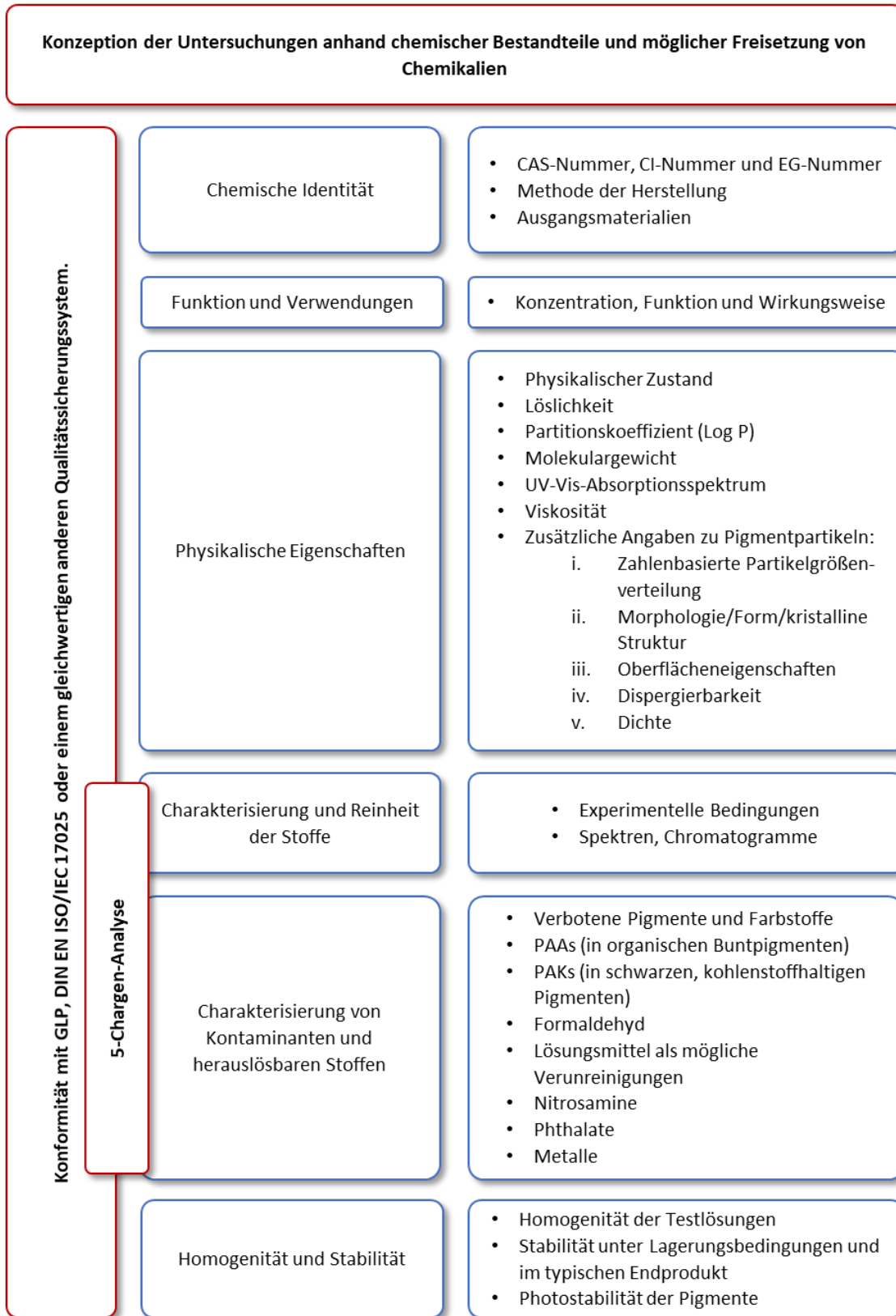
Die Spezifikationen der Inhaltsstoffe von Tätowiermitteln sowie die Identifizierung der vorhandenen Verunreinigungen sind für die Risikobewertung unerlässlich. Diese Daten werden auch für die Planung toxikologischer Studien und deren Auswertung benötigt. Die Analytik muss geeignet sein, um Substanzen in den unter der REACH-Beschränkung von Stoffen in Tätowiermitteln und Permanent Make-up vorgegebenen Konzentrationsgrenzen reproduzierbar bestimmen zu können. Die Analyse muss in Konformität mit der Guten Laborpraxis (GLP), DIN EN ISO/IEC 17025<sup>9</sup> oder einem gleichwertigen anderen Qualitätssicherungssystem durchgeführt werden. Sie muss absichtlich hinzugefügte Inhaltsstoffe und die vorhandenen Verunreinigungen umfassen. Der Einsatz von akkreditierten Methoden ist erwünscht. Wenn die jeweilige Methode nicht nachweislich akkreditiert ist, nicht durch einen Ringversuch validiert wurde oder keinem spezifischen, harmonisierten Verfahren (z. B. OECD, ISO-Norm) entspricht, können unter bestimmten Voraussetzungen auch laboreigene Methoden verwendet werden. Die Eignung der verwendeten Methoden soll durch die Bereitstellung der Validierungsunterlagen und der detaillierten Validierungsparameter demonstriert werden.

Die Spezifikationen der getesteten Inhaltsstoffe oder Tätowiermittel bzw. die technische Äquivalenz eines Inhaltsstoffes/Tätowiermittels sollten durch eine Fünf-Chargen-Analyse abgeleitet und bestätigt werden. Dies betrifft die chemische Zusammensetzung der absichtlich zugesetzten Stoffe und die vorhandenen Verunreinigungen. Die Fünf-Chargen-Analyse ist im Bericht zusammen mit der jeweiligen Messunsicherheit darzustellen. Hier wird auf die Spezifikation von technischen Wirkstoffen im Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel verwiesen<sup>10</sup>. Kleine Änderungen in der Zusammensetzung einiger Verunreinigungen können die Gesamttoxizität des Produkts verändern. Im Allgemeinen sind die Ergebnisse von Toxizitätsstudien mit einem bestimmten Stoff nur dann relevant, wenn sie sich auf ein spezifisches Reinheits- und Verunreinigungsprofil beziehen. Die wissenschaftliche Validität und Übertragbarkeit von toxikologischen Studien, die an Chargen der Substanz mit abweichendem Verunreinigungsprofil durchgeführt wurden, bedürfen sorgfältiger Prüfung. Es muss daher sichergestellt werden, dass im repräsentativen Produkt weder andere Verunreinigungen noch ein erhöhter Gehalt an Verunreinigungen vorhanden sind. Hierfür ist die Reproduzierbarkeit des Syntheseprozesses einschließlich eventueller Aufreinigungsschritte wichtig. Der Syntheseprozess der Pigmente und die hier verwendeten Stoffe und Bedingungen sind anzugeben. Eine Änderung dieses Prozesses erfordert eine sorgfältige Neubewertung der Verunreinigungen, auch wenn die Reinheit unverändert bleibt. Die Standardanforderungen für die chemische Charakterisierung von Tätowiermitteln sind in Abbildung 1 zusammengefasst.

<sup>9</sup> Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2017).

<sup>10</sup> Spezifikation von technischen Wirkstoffen im Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel, [https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04\\_Pflanzenschutzmittel/zul\\_dok\\_wirkstoffspezifikation.html](https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04_Pflanzenschutzmittel/zul_dok_wirkstoffspezifikation.html)

Abbildung 1: Standardanforderungen für die chemische Charakterisierung von Tätowiermitteln



PAAs: Primäre aromatische Amine, PAKs: Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, CAS-Nummer: Chemical Abstracts Service Nummer, CI-Nummer: Colour Index Nummer, EG-Nummer: Europäische Gemeinschaftsnummer

Die geforderten Spezifikationen für Inhaltsstoffe von Tätowiermitteln sind nachfolgend aufgeführt. Eine Abweichung von diesen Anforderungen erfordert eine wissenschaftlich basierte Begründung.

#### 2.1.1 Chemische Identität

Präzise Angaben zu den Strukturformeln und den chemischen Eigenschaften aller Inhaltsstoffe, die während der Formulierung intentionell hinzugefügt wurden, und, sofern möglich, auch der Spaltprodukte. CAS-Nummer (Chemical Abstracts Service Nummer) und CI-Nummer (Colour Index Nummer) – soweit vorhanden – und EG-Nummer (Europäische Gemeinschaftsnummer) sind mitzuteilen. Kann ein Stoff anhand seiner Strukturformel nicht eindeutig identifiziert werden, sollten ausreichende Informationen zur Methode der Herstellung und zum Ausgangsmaterial bereitgestellt werden, um einen Rückschluss auf die wahrscheinliche Struktur und Aktivität zuzulassen. Die Sicherheitsdatenblätter aller Inhaltsstoffe sind beizufügen.

Für die Sicherheitsbewertung komplexer Gemische (z. B. Extrakte oder Naturstoffe) als Bestandteile von Tätowiermitteln sollten vollständige Informationen über die Herkunft des Ausgangsmaterials, die verfügbaren Extraktionsmethoden und alle zusätzlichen Verfahren und/oder Reinigungsschritte bereitgestellt werden, um ein standardisiertes Material als repräsentativ für das in kommerziellen Produkten vorhandene Gemisch anzuerkennen.

Angabe der Herstellungsprozesse der Pigmente und ihre Formulierung in den Tätowiermitteln:

Es ist wichtig, die Auswirkung der Herstellungsbedingungen auf Pigmente sowie das Vorhandensein von Verunreinigungen zu berücksichtigen. Sofern Unterschiede in den Verunreinigungen aufgrund einer Änderung der Herstellungsbedingungen/des Herstellungsortes auftreten, ist eine wissenschaftliche Stellungnahme erforderlich, warum die chemischen Unterschiede für die Sicherheit des Pigmentes nicht relevant sind. Informationen, die angegeben werden sollten, umfassen:

1. Non-intentionally added substances (NIAS) (z. B. Prozessrückstände oder Verunreinigungen)
2. Intentionell zugefügte Zusatzstoffe inkl. Hilfsmittel für die Verarbeitung
3. Mögliche Abbauprodukte

#### 2.1.2 Funktion und Verwendungen

Angabe von Konzentration, Funktion und Wirkungsweise der zu bewertenden Substanz im vermarkteten Endprodukt.

#### 2.1.3 Physikalische Eigenschaften

a. Beschreibung des physikalischen Zustands (fest oder flüssig) und der Form (Pulver, Gel etc.).



## b. Löslichkeit und Auflösung

Angabe der Löslichkeit [EC A.6]<sup>11</sup> der Substanz in Wasser und/oder anderen relevanten organischen Lösungsmitteln (in g/l bei °C). Manche Stoffe (z. B. Pigmente) sind im wässrigem Medium schwer löslich oder unlöslich. Dennoch ist es essentiell, ihre Löslichkeit und Auflösung abzuschätzen sowie die herauslösbaren Substanzen zu identifizieren. Dies kann in Wasser, aber auch in physiologischen Medien, entsprechenden Simulanzien (Schweiß, Blut, Lymphe) oder Hauthomogenaten erfolgen, um die Umgebung des Pigments nach dem Tätowieren zu simulieren. Da unlösliche und teilweise lösliche Pigmente in den Lösungsmitteln wahrscheinlich Suspensionen bilden, ist es wichtig, dass alle suspendierten Partikel durch Ultrazentrifugation und/oder Ultrafiltration vollständig aus der Suspension entfernt werden, bevor die chemischen Analysen durchgeführt werden, um eine Überschätzung der tatsächlich gelösten Mengen der Substanz zu vermeiden. Hierfür kann das für Umweltmedien entwickelte „Guidance document 318 for the testing of dissolution and dispersion stability of nanomaterials, and the use of the data for further environmental testing and assessment“<sup>12</sup> verwendet werden. Zusätzlich kann der ISO-Standard TR19057:2017 „Nanotechnologies — Use and application of acellular *in vitro* tests and methodologies to assess nanomaterial biodegradability“ herangezogen werden<sup>13</sup>. Weitere Guidance-Dokumente mit Relevanz für die gesundheitliche Risikobewertung befinden sich derzeit in Entwicklung.

## c. Partitionskoeffizient (Log P)

Soweit zutreffend, Angabe des n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten [EC A.8]<sup>14</sup> mit Spezifikation von pH-Wert und Temperatur. Im Falle einer Berechnung des Koeffizienten; Spezifikation der Methode.

## d. Weitere relevante physikalische und chemische Spezifikationen, soweit zutreffend:

- Molekulargewicht: Angabe in Dalton; bei Mischungen Angabe für jeden Einzelstoff. Für Polymer-Inhaltsstoffe sollte die Molekulargewichtsverteilung angegeben werden.
- Organoleptische Eigenschaften (Farbe, Geruch (sofern relevant)).
- Physikalische Eigenschaften in Abhängigkeit vom Aggregatzustand:

Flüssigkeiten: Siedepunkt [EC A.2]<sup>15</sup>, Flammpunkt [EC A.9]<sup>16</sup>, relative Dichte [EC A.3]<sup>17</sup> (bei ..°C) und die Schüttdichte (DIN 66133/ISO 15901-1), pKa

<sup>11</sup> Water solubility Council Regulation (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). Official Journal L 142, 31/05/2008, p.57.

<sup>12</sup> Guidance Document for the Testing of Dissolution and Dispersion Stability of Nanomaterials and the Use of the Data for further Environmental Testing and Assessment Strategies, No. 318.

<sup>13</sup> <https://www.iso.org/standard/63836.html>

<sup>14</sup> Partition coefficient Council Regulation (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). Official Journal L 142, 31/05/2008, p.67.

<sup>15</sup> Boiling temperature Council Regulation (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). Official Journal L 142, 31/05/2008, p.14.

<sup>16</sup> Flash-point Council Regulation (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). Official Journal L 142, 31/05/2008, p.80.

<sup>17</sup> Relative density Council Regulation (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). Official Journal L 142, 31/05/2008, p.21.

(bei ..°C), Viskosität (bei ..°C), Dampfdruck [EC A.4]<sup>18</sup> (bei ..°C).

Feststoffe: Kristallinität (kristallförmig - Nennung der Kristallstruktur, nicht kristallförmig, amorph), Schmelztemperatur [EC A.1]<sup>19</sup>, Dichte, pKa (bei ..°C), bei UV-Vis-absorbierenden Inhaltsstoffen: UV-Vis-Absorptionsspektrum.

Endprodukt: Viskosität (bei ..°C) (OECD-Prüfrichtlinie 114), UV-Vis-Absorptionsspektrum, pH (bei ..°C) - grundsätzlich sollte der pH-Wert des Endprodukts nicht unter 5 und nicht über 8 liegen.

Einige Angaben zu den Rohstoffen sind gegebenenfalls in den Sicherheitsdatenblättern oder in der Literatur verfügbar. Diese sollten zur Dokumentation und zur Bewertung der Sicherheit der Tätowiermittel verwendet werden.

e. Zusätzliche Angaben zu Pigmentpartikeln:

Aufgrund möglicher Veränderungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften sollte der Zustand der Pigmente im Endprodukt in verschiedenen Stadien bestimmt werden. Die Charakterisierung der eingesetzten Pigmente soll sowohl im pristinen (ursprünglichen) Zustand sowie nach Zugabe zur endgültigen Formulierung durchgeführt werden. Die Angaben zu den pristinen Materialien können hierbei auch vom Hersteller angefordert werden. Die geforderten bzw. zu bestimmenden Parameter sind zusammengefasst in Tabelle 1 aufgeführt und orientieren sich an den Anforderungen der Kosmetik-VO<sup>20</sup> (Verordnung (EG) Nr. 1223/2009). Je nach Pigment oder Zustand (ursprünglich oder suspendiert in der Formulierung) sind nicht immer alle Parameter relevant. Hier können im Einzelfall unter Angabe einer Begründung Parameter ausgelassen werden. Weitere Informationen können der „Guidance on the safety assessment of NMs in cosmetics“<sup>21</sup> entnommen werden.

Jede verwendete Analysenmethode sollte zweckmäßig und zuverlässig sein. Idealerweise sollte die Methode in Bezug auf Leistungsparameter (z. B. Spezifität, Selektivität, Robustheit, Wiederfindung, Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit) validiert worden sein und Nachweis-/Quantifizierungsgrenzen und Messunsicherheiten ausweisen. Die Ergebnisse sollen unter Angabe der gewählten Prüfmethode und des prüfenden Labors tabellarisch aufgeführt werden. Alternativ sind die vom Hersteller deklarierten Parameter unter Beifügung des Testzertifikates anzugeben. Diese können je nach verwendeter Methode zahlenbasiert, grafisch oder bildgebend sein.

---

<sup>18</sup> Vapour pressure Council Regulation (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). Official Journal L 142, 31/05/2008, p.26.

<sup>19</sup> Melting / freezing temperature Council Regulation (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). Official Journal L 142, 31/05/2008, p.4.

<sup>20</sup> VERORDNUNG (EG) Nr. 1223/2009 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 30. November 2009 über kosmetische Mittel.

<sup>21</sup> Guidance on the Safety Assessment of Nanomaterials in Cosmetics des SCCS (SCCS/1611/19).

**Tabelle 1. Parameter und Methoden zur Charakterisierung der Partikeleigenschaften von Pigmenten zur Verwendung in Tätowiermitteln, in Anlehnung an SCCS/1602/18 bzw. SCCS/1611/19.**

Parameter	Beschreibung	Vorgeschlagene Methoden (andere Methoden bei gleicher Eignung möglich)
Zahlenbasierte Partikelgrößenverteilung	a) Mittlere und mediane Größe [nm] sowie grafische Diagramme der Größenverteilung zur primären und sekundären (Agglomerate und Aggregate) Partikelgröße (anzahl- und massenbasiert). b) Angabe des zahlenmäßigen Anteils der Partikel im Größenbereich von 1-100 nm.	FFF, HDC, HPLC, Analytische Ultrazentrifugation, CLS, disc centrifugation, TEM, REM, AFM, DMA, PTA/NTA  Die Eignung der Messtechnik für das jeweilige Pigment kann mit Hilfe des im Rahmen von NanoDefine erstellten Methodenmanuals beurteilt werden <sup>22</sup> .  OECD WNT Project 1.4: New test guideline on particle size and size distribution of manufactured nanomaterials – under Development
Morphologie/Form/kristalline Struktur	a) Bildgebender und grafischer Nachweis über die physikalische Form und Gestalt (Partikel-, Rohr-, Stab- oder Faserform, Porosität). Aggregations-/Agglomerationszustand (Primärpartikel oder Agglomerate/Aggregate), kristalline Struktur. b) Angabe über die Zubereitung (Pulver, Lösung, Suspension oder Dispersion).	a) TEM, REM, AFM NMR, XRD  b) beschreibend
Oberfläche	Grafische und zahlenbasierte (in m <sup>2</sup> /g) Angabe zur spezifischen Oberfläche der Pigmente.	BET  OECD WNT Project 1.3: New test guideline on determination of the (volume) specific surface area of manufactured nanomaterials ongoing, under finalization, s. a. ISO/TR 14187
Oberflächeneigenschaften	a) Qualitative, wenn möglich quantitative Angabe über die an die Oberfläche gebundenen Komponenten, Vorhandensein beliebiger funktioneller Gruppen (z. B. Carboxy-, Amino-, Hydroxy-). b) Angabe der Oberflächenladung (Zeta-Potential in mV)	a) XPS, MS, RS, SERS, FTIR, NMR, GE, NanoSIMS b) Phase Analysis Light Scattering, DLS
Reaktivität und Photoreaktivität	Informationen über die chemische Reaktivität des (ggf. nanoskaligen) Pigments oder der Oberflächenbeschichtung. Informationen über die photokatalytische Aktivität und das Radikalbildungspotenzial der relevanten Materialien.	ESR, FRAS, azellulärer DCFDA
Dispergierbarkeit	Für unlösliche dispergierbare Partikel: Informationen über die Dispergierbarkeit im Sinne von einer relativen Menge der Partikel, die in einem suspendierenden Medium dispergiert werden kann.	OECD-Prüfrichtlinie 318: Dispersion Stability of Nanomaterials in Simulated Environmental Media
Dichte und Schüttdichte	Angaben zur Dichte (z. B. mg/g bzw. g/cm <sup>3</sup> )	Methoden beschrieben in ISO 697:1981, EN ISO 60:1977, DIN 66133/ISO 15901-1

<sup>22</sup> Part 2: Mech et al., The NanoDefine Methods Manual. Part 2: Evaluation of methods, EUR 29876 EN, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2019, ISBN 978-92-76-11953-1, doi:10.2760/071877, JRC117501

AFM: Rasterkraftmikroskop, BET: Brunauer-, Emmett-, und Teller-Methode, CLS: Confocal Laser Scanning Microscopy, DCFDA: 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate, DLS: Dynamische Lichtstreuung, DMA: Differentieller Mobilitätsanalysator, ESR: Elektronen Spin Resonanz, FFF: Feld-Fluss-Fraktionierung, FRAS: Free Radical Analytical System, FTIR: Fourier-Transform-Infrarotspektrometrie, GE: Gelelektrophorese, HDC: Hydrodynamische Chromatographie, HPLC: High-Performance Liquid Chromatography, MS: Massenspektrometrie, NanoSIMS: Nano-Sekundärionen-Massenspektrometrie, NMR: Kernspinresonanz, PTA/NTA: Particle Tracking Analysis/Nanoparticle Tracking Analysis, REM: Rasterelektronenmikroskop, RS: Raman Spektroskopie, SERS: Oberflächenverstärkte Raman Spektroskopie, SPM: Rastersondenmikroskopie, TEM: Transmissionselektronenmikroskopie, WNT: Working Group of National Coordinators of the Test Guidelines programme, XAS: Röntgenabsorptionsspektroskopie, XPS: Röntgenphotoelektronenspektroskopie, XRD: Röntgendiffraktometrie.

#### 2.1.4 Charakterisierung und Reinheit der Chemikalie

Beschreibung der experimentellen Bedingungen der Techniken, die für die Charakterisierung des Stoffes verwendet wurden (UV-Vis-Spektroskopie (Ultraviolett), IR-Spektroskopie (Infrarot), NMR-Spektroskopie (Nuclear Magnetic Resonance), MS (Massenspektrometrie), Elementaranalyse, etc.) sowie der resultierenden Spektren und Chromatogramme, Angabe des Reinheitsgrades, Demonstration der Validität der verwendeten Methode. Die für die Testung verwendete Substanz muss der im kommerziellen Produkt verwendeten entsprechen. Die Identität der verwendeten Pigmente und Farbstoffe sollte mit Hilfe der entsprechenden Spektren und Chromatogramme dargestellt werden.

#### 2.1.5 Charakterisierung von Kontaminanten und freisetzbaren Stoffen

Die unter die REACH-VO oder weitere Gesetzgebungen fallenden Substanzen dürfen nicht über den erlaubten Konzentrationen im Tätowiermittel vorhanden sein. Daher sind alle relevanten Verunreinigungen zu identifizieren und zu quantifizieren. Für die in Tabelle 2 aufgelisteten häufigen Verunreinigungen müssen entsprechende Daten zur Einhaltung der Grenzwerte vorgelegt werden.

Tätowierpigmente können sich in biologischer Umgebung oder während der Lagerung zersetzen, wobei Abbauprodukte entstehen. Diese können im Vergleich zum Ausgangsmaterial unterschiedliche Eigenschaften aufweisen. Darüber hinaus sind Stoffe, die als Verunreinigungen vorkommen, und Abbauprodukte, die durch Zersetzung von Stoffen unter Einwirkung von Licht, enzymatischer Aktivität usw. entstehen, zu berücksichtigen. So werden z. B. Fragen der Photostabilität in Kapitel 2.1.6 behandelt.

Ferner dient ISO 10993-12<sup>23</sup> als Leitfaden zur Extraktion von freisetzbaren Bestandteilen und ISO 10993-18<sup>24</sup> als Leitfaden zur chemischen Charakterisierung von Materialien und deren freisetzbaren Bestandteilen. Die Konzeption der analytischen Untersuchung zum Nachweis möglicher Verunreinigungen, die über die in Tabelle 2 aufgeführten Stoffe hinausgehen, könnte in Anlehnung an diese Normen durchgeführt werden.

<sup>23</sup> Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 12: Probenvorbereitung und Referenzmaterialien (ISO 10993-12:2012); Deutsche Fassung EN ISO 10993-12:2012

<sup>24</sup> Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 18: Chemische Charakterisierung von Werkstoffen für Medizinprodukte im Rahmen eines Risikomanagementsystems (ISO/DIS 10993-18:2018); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 10993-18:2018

**Tabelle 2. Inhaltsstoffe und Verunreinigungen, die unter Berücksichtigung der aufgeführten empfohlenen Verfahren vollständig charakterisiert werden müssen.**

Stoff	Konzentrationsgrenzen für das finale Produkt gemäß der Beschränkung unter REACH <sup>25</sup>	Anmerkungen zur Probenvorbereitung und -analyse
Aktuell operabel		
PAAs (in organischen Buntpigmenten)	Tätowiermittel dürfen keine Azopigmente enthalten, die eines oder mehrere der in Anlage 13 der Beschränkung aufgeführten PAAs freisetzen können. Der Grenzwert für die freien PAAs liegt bei 0,0005 % (5 ppm).	Freie PAAs müssen nach dem Stand der Technik mit LC-MS/MS analysiert werden. LC-DAD ist weniger sensitiv und selektiv. Nach aktuellem Stand gibt es für PAAs in Tätowiermitteln keine standardisierte Normmethode. Entsprechend den Auskünften der Landesuntersuchungsämter lieferten jedoch die meist auf Normmethoden aus anderen Bereichen basierenden Hausmethoden bei freien PAAs sehr gut übereinstimmende Ergebnisse (in Anlehnung an DIN EN ISO 14362-1 oder DIN EN 71-7).
PAKs (in schwarzen, kohlenstoffhaltigen Pigmenten, Rohstoff)	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs), in Anhang VI Teil 3 der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 <sup>26</sup> als karzinogene oder mutagene Stoffe der Kategorie 1A, 1B oder 2 eingestuft: 0,00005 % (0,5 ppm) (Einzelkonzentrationen): (a) Benzo[ <i>a</i> ]pyren (BaP) CAS No 50-32-8. 0,0000005 % (5 ppb) (b) Benzo[ <i>e</i> ]pyren (BeP) CAS No 192-97-2 (c) Benzo[ <i>a</i> ]anthracen (BaA) CAS No 56-55-3 (d) Chrysen (CHR) CAS No 218-01-9 (e) Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthen (BbFA) CAS No 205-99-2 (f) Benzo[ <i>j</i> ]fluoranthen (BjFA) CAS No 205-82-3 (g) Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthen (BkFA) CAS No 207-08-9 (h) Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracen (DBaHA) CAS No 53-70-3	In kohlenstoffhaltigen Pigmenten müssen PAKs vor ihrer Formulierung in Tätowiermitteln analytisch bestimmt werden. Zusammen mit dem Gehalt in der Formulierung des Tätowiermittels kann so auf eine Einhaltung der Grenzwerte geschlossen werden. Hierzu kann z. B. "ASTM D8143 – 17 - Standard Test Method for Determination of the EU-8 List of PAH Compounds in Carbon Black" verwendet werden.  Für die Analyse der gesamten Formulierung gibt es bisher keine harmonisierten Methoden – die Ausbeute hängt stark von den Extraktionsbedingungen ab. Eine Extraktion des homogenisierten Probenmaterials mit Toluol im Ultraschallbad bei 80 °C wird als geeignet angesehen. Die Entwicklung einer Standardmethode ist notwendig. Bei Angabe von PAK-Gehalten im Endprodukt muss ein Nachweis der Anwendbarkeit der Methode erbracht werden (siehe oben).
Lösungsmittel als mögliche Verunreinigungen aus der Produktionsphase	Benzol (Carc 1A): 0,00005 % Toluol (Repr. 2): 0,001 % Ethylbenzen: nicht beschränkt Xylen (Skin Irrit. 2): 0,001 % Weitere verbleibende Lösungsmittel aus der Produktion	Headspace-Gaschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion (HS-GC-MS). Keine Harmonisierung notwendig.
Nitrosodipropylamin	0,00005 % (0,5 ppm)	HPLC-MS/MS
Nitrosodimethylamin	0,00005 % (0,5 ppm)	

<sup>25</sup> VERORDNUNG (EU) 2020/2081 DER KOMMISSION vom 14. Dezember 2020 zur Änderung des Anhangs XVII der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) betreffend Stoffe in Tätowierfarben oder Permanent-Make-up.

<sup>26</sup> VERORDNUNG (EG) Nr. 1272/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006.

N-Nitrosodiethanolamin (NDELA)	0,00005 % (0,5 ppm)	
Quecksilber	0,00005 % (0,5 ppm)	Druckaufschluss nach K 84.00-29 und Analyse nach K 84.00-33 Untersuchung von kosmetischen Mitteln - Bestimmung von Quecksilber in kosmetischen Mitteln und Tätowiermitteln mit Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) - Kaltdampftechnik nach Druckaufschluss.
Nickel	0,0005 % (5 ppm)	Messung nach oder in Anlehnung an: Druckaufschluss nach K 84.00-29 und K 84.00-31 Untersuchung von kosmetischen Mitteln - Bestimmung von Antimon, Arsen, Barium, Blei, Cadmium und Nickel in kosmetischen Mitteln und Tätowiermitteln mit der Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) nach Druckaufschluss oder DIN 11699:2020-10/K 84.00-32 Untersuchung von kosmetischen Mitteln - Bestimmung von Barium, Nickel und anderen Elementen in kosmetischen - Mitteln und Tätowiermitteln mit der optischen Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) nach Druckaufschluss.
Metallorganisches Zinn	0,00005 % (0,5 ppm)	
Antimon	0,00005 % (0,5 ppm)	
Arsen	0,00005 % (0,5 ppm)	
Cadmium	0,00005 % (0,5 ppm)	
Kobalt	0,00005 % (0,5 ppm)	
Blei	0,00007 % (0,7 ppm)	
Selen	0,0002 % (5 ppm)	
Chrom VI	0,00005 % (0,5 ppm)	
<b>Nicht operabel, Methodenetablierung/-harmonisierung notwendig</b>		
Verbotene Pigmente und Farbstoffe	Der Gehalt der 44 Pigmente, die in Anlage 13 der Beschränkung aufgeführt sind, darf 0,1 % (1000 ppm) nicht überschreiten.	<p>Identifizierung und Semi-Quantifizierung der Pigmente: MALDI-MS, Pyrolyse-GC-MS, oder bei anteilig löslichen Farbstoffen mit LC-DAD/MS.</p> <p>Identifizierung von „reinen“ Pigmenten auch über Infrarot-/Raman-Spektroskopie und Datenbankabgleich möglich.</p> <p>Quantitatives Analysenverfahren zur Gehaltsbestimmung von Pigmenten ist derzeit noch nicht vorhanden.</p> <p>Über den Umweg der Azospaltung könnten verbotene Azopigmente ggf. auch über die Spaltprodukte (PAAs) identifiziert werden. Bisherige Methoden zur reduktiven Spaltung bei Pigmenten in Tätowiermitteln sind jedoch schlecht reproduzierbar.</p>
PAKs (in Farbmitteln mit schwarzen, kohlenstoffhaltigen Pigmenten)	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs), in Anhang VI Teil 3 der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 <sup>27</sup> als karzinogene oder mutagene Stoffe der Kategorie 1A, 1B	Für die Analyse der gesamten Formulierung gibt es bisher keine harmonisierten Methoden – die Ausbeute hängt stark von den Extraktionsbedingungen ab. Eine Extraktion des homogenisierten Probenmaterials mit Toluol im Ultraschallbad

<sup>27</sup> VERORDNUNG (EG) Nr. 1272/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006.

	oder 2 eingestuft: 0,00005 % (0,5 ppm) (Einzelkonzentrationen): (a) Benzo[ <i>a</i> ]pyrene (BaP) CAS No 50-32-8. 0,0000005 % (5 ppb) (b) Benzo[ <i>e</i> ]pyrene (BeP) CAS No 192-97-2 (c) Benzo[ <i>a</i> ]anthracene (BaA) CAS No 56-55-3 (d) Chrysen (CHR) CAS No 218-01-9 (e) Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthene (BbFA) CAS No 205-99-2 (f) Benzo[ <i>j</i> ]fluoranthene (BjFA) CAS No 205-82-3 (g) Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthene (BkFA) CAS No 207-08-9 (h) Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracene (DBahA) CAS No 53-70-3	bei 80 °C wird als operabel angesehen. Die Entwicklung einer Standardmethode ist notwendig. Bei Angabe von PAK-Gehalten im Endprodukt muss ein Nachweis der Anwendbarkeit der Methode erbracht werden (siehe oben).
Formaldehyd	0,00005 % (0,5 ppm)	HPLC-FLD mit Nachsäulenderivatisierung, Erreichung des Grenzwertes aktuell noch unsicher.
Dibutylphthalat (DBP)	0,00005 % (0,5 ppm)	GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS/MS, Erreichung des Grenzwertes aktuell noch unsicher.
Bis(2-ethylhexyl)-phthalat (DEHP)	0,00005 % (0,5 ppm)	
Barium (löslich)	0,05 % (500 ppm)	Aktuell nicht operabel, Definition der Extraktionsparameter notwendig.
Kupfer (löslich)	0,025 % (250 ppm)	Aktuell nicht operabel, Definition der Extraktionsparameter notwendig.
Zink (löslich)	0,2 % (2000 ppm)	Aktuell nicht operabel, Definition der Extraktionsparameter notwendig.

GC-MS: Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung, ICP-MS: Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma, ICP-OES: Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma, LC-DAD: Flüssigchromatographie - Diodenarray-Detektor, LC-MS/MS: Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie, MALDI-MS: Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation Massenspektrometrie, PAAs: Primäre aromatische Amine, PAKs: Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe

### 2.1.6 Homogenität und Stabilität

Die Homogenität der Testlösungen in Hinblick auf die Verteilung der Testsubstanz sollte sichergestellt sein. Die Stabilität der Testsubstanz unter unterschiedlichen experimentellen Bedingungen sollte angegeben werden, ebenso die Stabilität unter Lagerungsbedingungen und im typischen Endprodukt. Allgemeine Aspekte zur Bestimmung von Abbauprodukten sind in Teil 9 der ISO-Norm 10993: „Rahmen zur Identifizierung und Quantifizierung von möglichen Abbauprodukten“<sup>28</sup> aufgeführt.

Es sollten keine Pigmente verwendet werden, deren Zersetzung in toxische Produkte in schädlichen Konzentrationen über den Stoffwechsel oder eine photoinduzierte Spaltung möglich ist. Pigmente, die auf den folgenden chemischen Strukturen basieren, sollten nicht in Tätowiermitteln verwendet werden: Benzidin (EG-Index-Nummer 611-024-00-1), *o*-Dianisidin (EG-Index-Nummer 611-029-00-9) und *o*-Toluidin (EG-Index-Nummer 611-030-00-4).

Die Stabilität der Testsubstanzen gegenüber UV-Licht sollte angegeben werden. Sollte ein molarer Extinktionskoeffizient nach OECD-Prüfrichtlinie 101<sup>29</sup> unter 1000 L mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> festgestellt werden, kann auf die Prüfung der Photostabilität verzichtet werden. Für Pigmente gilt

<sup>28</sup> DIN EN ISO 10993-9:2010-04 Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 9: Rahmen zur Identifizierung und Quantifizierung von möglichen Abbauprodukten (ISO 10993-9:2009); Deutsche Fassung EN ISO 10993-9:2009

<sup>29</sup> OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 101: UV-VIS Absorption Spectra (Spectrophotometric Method).

diese Annahme aufgrund ihrer hohen Lichtabsorptionseigenschaften in einem breiten Spektralbereich nicht. Die Photostabilitätstests sollen die Stabilität der Pigmente und die Bildung von Abbauprodukten sowohl bei der Lagerung als auch im menschlichen Körper berücksichtigen.

Die Photostabilität ist nach der „Note for Guidance on the Photostability Testing of New Active Substances and Medical Products“ (CPMP/ICH/279/95<sup>30</sup>) zu prüfen. Diese Richtlinie ist für die Analyse von Wirkstoffen in Medizinprodukten konzipiert und für Tätowierpigmente anwendbar. Für die systematische Testung ist das Pigment vor der Formulierung im Tätowiermittel zu betrachten. Wenn möglich, sollten die Pigmente in einer wässrigen Suspension und nicht in ihrem trockenen Zustand getestet werden. Dabei sollte eine Vollspektrumlampe verwendet werden, die sowohl UV-A als auch sichtbare Strahlung liefert, um ein Tageslichtspektrum der Normlichtart D65 (Tageslicht im Freien) zu erzeugen. Die Lichtdosis sollte in Einheiten  $W\ h/m^2$ , mit Angabe der Wellenlänge, angegeben werden. Die Dosis sollte dabei mindestens  $200\ W\ h/m^2$  betragen. Am Ende der Expositionszeit sollten die Proben auf Veränderungen der physikalischen Eigenschaften (z. B. Aussehen, Klarheit oder Farbe der Lösung) und auf Abbauprodukte mit einer geeigneten Methode untersucht werden (vgl. Punkt 2.1.5 Charakterisierung von Kontaminanten und freisetzbaren Stoffen). Spaltprodukte müssen nach den gleichen Maßgaben und mit den gleichen Methoden wie Verunreinigungen analysiert werden. Idealerweise sollten die Massenbilanzen und prozentuale Bilanzen der Abbauprodukte bezogen auf die ursprüngliche Testsubstanz berechnet werden. Die Konzentration der entstehenden Abbauprodukte sollte die in Tabelle 2 angegebenen Grenzwerte nicht überschreiten.

Ist der quantitative Nachweis der Abbauprodukte nicht möglich, sollte die Lichtechtheit nach DIN ISO 12040:1998-01<sup>31</sup> bestimmt werden. Die Lichtechtheit ist mit Hilfe des Graumaßstabs zur Bewertung der Änderung der Farbe entsprechend ISO 105-A02:1993-09<sup>32</sup> zu bestimmen. Ein Pigment mit einer Lichtechtheit unter 6 ist nicht für die Anwendung in Tätowiermitteln geeignet.

## 2.2 Operable toxikologische Mindestanforderungen

In diesem Kapitel sind operable Mindestanforderungen zusammengestellt, die für eine toxikologische Bewertung von Tätowierpigmenten gemäß gegenwärtigem Stand von Wissenschaft und Technik als notwendig und realisierbar erachtet werden. Die hier beschriebenen Prüfanforderungen und Bewertungskriterien stellen eine Aktualisierung der Stellungnahme des BfR (Nr. 013/2013) von 2012 dar<sup>33</sup>. Sie orientieren sich an dem EDQM-Dokument ‚Safer Tattooing‘ vom Jahr 2017<sup>34</sup> und an der REACH- und CLP-Verordnung. In diesem Zusam-

<sup>30</sup> Note for Guidance on the Photostability Testing of New Active Substances and Medicinal Products (CPMP/ICH/279/95).

<sup>31</sup> DIN ISO 12040:1998-01 Druck- und Reproduktionstechnik - Drucke und Druckfarben - Bestimmung der Lichtechtheit mit gefiltertem Xenon-Bogenlicht (ISO 12040:1997).

<sup>32</sup> ISO 105-A02:1993-09 Textilien - Farbechtheitsprüfungen - Teil A02: Graumaßstab zur Bewertung der Änderung der Farbe.

<sup>33</sup> <https://www.bfr.bund.de/cm/343/anforderungen-an-taetowiermittel.pdf>

<sup>34</sup> Safer Tattooing, Overview of current knowledge and challenges of toxicological assessment, Consumer Health Protection Committee, EDQM 1st Edition, 2017



menhang wird auf die für diese Verordnungen verfügbaren ausführlichen Leitfäden zu Informationsanforderungen, zur Stoffsicherheitsbeurteilung<sup>35</sup> und zu Bewertungskriterien hingewiesen. Wenngleich die in Abhängigkeit von der Produktionsmenge gestuften Informationsanforderungen unter REACH nicht direkt für Prüfforderungen für Tätowierpigmente anwendbar sind, können dennoch wesentliche Elemente, wie z. B. die Bewertung aller vorhandenen Daten zu inhärenten Stoffeigenschaften, Anwendung von *In-vitro/In-silico*-Teststrategien unter weitgehender Anwendung von aktuellen harmonisierten OECD-Prüfrichtlinien sowie die Bewertung der Stoffeigenschaften in Anlehnung an die CLP-Verordnung Anwendung finden. Ferner können Tätowierpigmente gemäß EU-Definition als Nanomaterialien gelten. Somit sind nanospezifische Anpassungen zu berücksichtigen.

Bei Erwägungen zur Durchführung neuer Untersuchungen zu einem Pigment sind vorhandene Daten zu berücksichtigen. Wie andere Stoffe unterliegen (Tätowier-)Pigmente in der EU, wenn sie in einer Menge von mehr als einer Tonne pro Jahr hergestellt oder importiert werden, auch den Registrierungspflichten (einschließlich der Informationspflichten) nach der REACH-VO<sup>36</sup>. Des Weiteren gilt für Pigmente die CLP-Verordnung (Verordnung (EG) Nr. 1272/2008)<sup>37</sup>, und sie müssen in Gefahrenklassen (selbst und ggf. harmonisiert) entsprechend der CLP-Verordnung eingestuft werden, wenn sie Gefahrenmerkmale aufweisen und die Einstufungskriterien nach der CLP-Verordnung erfüllt sind.

Sollten Pigmente für bestimmte Stoffeigenschaften (sogenannte „Endpunkte“) harmonisiert eingestuft sein, dann dürfen sie entsprechend der REACH-Beschränkung für Tätowiermittel und Permanent Make-up<sup>38</sup> ab bestimmten Konzentrationsgrenzen nicht in Tätowiermitteln verwendet werden. Konzentrationsgrenzen gelten hierbei nach Eintrag 75 des Anhangs XVII der REACH-VO für Substanzen mit folgenden harmonisierten Einstufungen: Carc./Muta./Repr. (jeweils 1A/B und 2), Skin Sens. (1, 1A/B), Skin Corr./Irrit. (1, 1A/B/C, 2) und Eye Dam./Irrit. (1, 2). Auch wenn die Pigmente Stoffeigenschaften besitzen, die die Kriterien für Einstufung für die genannten Endpunkte erfüllen und eine Selbsteinstufung oder harmonisierte Einstufung (noch) nicht vorliegt, sollten sie aus Sicht des Verbraucherschutzes oberhalb der angegebenen Konzentrationsgrenzen nicht in Tätowiermitteln verwendet werden<sup>39</sup>. Es ist anzumerken, dass die in der REACH-Beschränkung angegebenen Konzentrationsgrenzen unter 0,1 Gewichtsprozent liegen. Da Tätowierpigmente in der Regel in Tätowiermitteln in höheren Gewichtsprozenten eingesetzt werden, wird davon ausgegangen, dass die in der Beschränkung angegebenen Konzentrationsgrenzen für Pigmente mit den

<sup>35</sup> Zusammengefasst auf: <https://echa.europa.eu/> und <https://echa.europa.eu/de/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>

<sup>36</sup> Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Chemikalienagentur, zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates, der Verordnung (EG) Nr. 1488/94 der Kommission, der Richtlinie 76/769/EWG des Rates sowie der Richtlinien 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/EG und 2000/21/EG der Kommission (Text von Bedeutung für den EWR)

<sup>37</sup> Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (Text von Bedeutung für den EWR)

<sup>38</sup> VERORDNUNG (EU) 2020/2081 DER KOMMISSION vom 14. Dezember 2020 zur Änderung des Anhangs XVII der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) betreffend Stoffe in Tätowierfarben oder Permanent Make-up

<sup>39</sup> Der Eintrag 75 des Anhangs XVII der REACH-VO bezieht sich nur auf harmonisiert eingestufte Substanzen. Das hier vorgeschlagene erweiterte Verwendungsverbot für Tätowiermittel ist derzeit in Europa nicht rechtlich bindend.

oben genannten harmonisierten Einstufungen ein praktisches Verbot für ihren Einsatz als Tätowierpigment bedeuten.

Für Tätowierpigmente sind für folgende Endpunkte Prüfungen vorzunehmen:

- Augenreizung/Augenätzung
- Hautreizung/Hautätzung
- Phototoxizität
- Hautsensibilisierung
- Genotoxizität
- Photogenotoxizität

Für diese Endpunkte wurden jeweils Mindestanforderungen definiert und tabellarisch zusammengefasst. Hierbei sind in Spalte 1 der ab Kapitel 2.2.1 aufgeführten Tabellen die benötigten Standardprüfanforderungen gelistet. Spalte 2 beschreibt Regeln, nach denen von den Anforderungen in Spalte 1 abgewichen werden kann oder sollte. Bei Abweichungen von den Anforderungen in Spalte 1 entsprechend der Regeln aus Spalte 2 sollte eine ausführliche Begründung vorgelegt werden.

Für jeden Endpunkt bietet die dazugehörige Tabelle auch ein Feld mit entsprechenden Bewertungskriterien. Die Bewertung der Endpunkte soll sich generell an den CLP-Einstufungskriterien orientieren. Stoffeigenschaften, die entsprechend der CLP-Kriterien für eine Einstufung als gefährlicher Stoff (Carc./Muta./Repr. (jeweils 1A/B und 2), Skin Sens. (1,1A/B), Skin Corr./Irrit. und Eye Dam./Irrit. (jeweils 1, 1A/B/C, 2)) hinreichend sind, führen zu einem praktischen Verwendungsverbot unter Berücksichtigung der im Anhang XVII Eintrag 75 (REACH-VO) ausgewiesenen Konzentrationsgrenzen.

### *Prüfstrategie*

Untersuchungen sind für jedes Tätowierpigment unter Beachtung der im Folgenden ausgewiesenen Prüfstrategie durchzuführen. Diese Prüfstrategie folgt dem allgemeinen Ansatz, vorerst bereits vorhandene Daten zu sammeln und zu bewerten und anschließend fehlende Informationen durch *In-vitro*-Untersuchungen bereitzustellen. Sollten vorhandene Daten oder Ergebnisse aus *In-vitro*-Untersuchungen zeigen, dass relevante Einstufungskriterien als gefährlicher Stoff gemäß der CLP-Verordnung erfüllt sind, stellen diese, wie oben bereits erwähnt, ein Ausschlusskriterium zur Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln dar.

Vor der toxikologischen Bewertung ist eine Charakterisierung der Pigmente, vorhandener Verunreinigungen und möglicher Abbauprodukte durchzuführen (siehe Kapitel 2.1) und in die Versuchsplanung zu integrieren. Die physikochemischen Parameter des in den toxikologischen Prüfungen untersuchten Stoffes müssen mit den festgelegten Spezifikationen übereinstimmen bzw. innerhalb definierter Grenzen liegen. Die umfassende Analyse hinsichtlich Partikelgröße und -verteilung, Morphologie und Oberflächenchemie der Pigmente muss für die Beurteilung der einzusetzenden Dosis und der zu erwartenden Wirkung berücksichtigt werden. Bei der Konzeption der Analyse ist zu berücksichtigen, dass die Eigenschaften und der toxikologische Mechanismus der Pigmente nicht allein von ihrer molekularen Struktur abhängen, sondern von den Eigenschaften der Pigmentpartikel, die teilweise in Tabelle 1 dieses Dokuments aufgeführt sind.

## Das folgende schrittweise Vorgehen ist bei der gesundheitlichen Bewertung von Tätowierpigmenten zu beachten (Abbildung 2A):

### Schritt 1: Sammlung aller verfügbaren Daten

Der Antragsteller<sup>40</sup> ist angehalten, alle für das Pigment verfügbaren Informationen zu berücksichtigen. Dies schließt u. a. ein:

- Literaturrecherche nach allen relevanten Informationen über das Pigment
- Prüfung der aufgrund von anderen Verordnungen erstellten Daten (z. B. REACH-VO)
- Prüfung der Anwendbarkeit von *In-silico*-Methoden (z. B. QSARs (Quantitative structure-activity relationship) und Analogie-/Gruppierungsansätzen, „Read-across“) von anderen ähnlichen Pigmenten
- Humandaten inkl. epidemiologischer Daten (v. a. das Tätowieren betreffend, medizinische Fallberichte etc.).

Verfügbare Informationen sollten ausführlich dokumentiert werden.

Bezüglich Read-across ist eine Fall-zu-Fall-Betrachtung nötig, die sich an den Vorgaben des sog. „Read-across Assessment Frameworks“<sup>41</sup> der Europäischen Chemikalienagentur (ECHA) orientiert. Es wird angemerkt, dass eine rein strukturelle Ähnlichkeit alleine nicht ausreichend ist, um einen validen Read-across zu begründen. Hier soll die Anwendung des Konzepts "Set of Similar Nanoforms" geprüft werden, um ggf. Gefährdungsbeurteilung, die Expositionsabschätzung und Risikobewertung dieser Pigmente gemeinsam durchführen zu können<sup>42</sup>.

Bezüglich der *In-silico*-Methoden ist zu beachten, dass in den letzten Jahren große Fortschritte für einzelne Endpunkte erzielt wurden. Informationen zu Modellierungsmöglichkeiten der einzelnen Endpunkte finden sich in den endpunktspezifischen Leitlinien (REACH) zu Informationsanforderungen und zur Stoffsicherheitsbeurteilung (Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment)<sup>43</sup>, die einer fortlaufenden, wenn auch zeitverzögerten Aktualisierung unterliegen.<sup>44</sup>

### Schritt 2: Prüfung der vorhandenen Daten

Der Antragsteller ist angehalten zu überprüfen, ob anhand aller vorhandenen Informationen für das Pigment die Forderungen der Spalte 1 (Kapitel 2.2.1-Kapitel 2.2.6), ggf. unter Beachtung der in Spalte 2 vorgeschlagenen Abweichungen, erfüllt sind. Dann kann für den be-

---

<sup>40</sup> ‚Antragsteller‘ umfasst Hersteller, Importeure oder Inverkehrbringer, die eine Prüfung und/oder Zulassung eines Pigments für die Verwendung in Tätowiermitteln beabsichtigen. Die vorgesehenen Prüfungen und später ggf. die vorgesehenen Zulassungen in einem Rechtsraum sollen für Hersteller im Rechtsraum gelten, dieselben Anforderungen haben Importeure oder Inverkehrbringer von Tätowierpigmenten oder Tätowiermitteln mit diesen Pigmenten zu erfüllen.

<sup>41</sup> ECHA (2017): Read-Across Assessment Framework (RAAF). No. ECHA-17-R-01-EN, ISBN 978-92-9495-758-0. European Chemicals Agency, Helsinki. DOI: 10.2823/619212; [https://echa.europa.eu/documents/10162/13628/raaf\\_en.pdf](https://echa.europa.eu/documents/10162/13628/raaf_en.pdf)

<sup>42</sup> Appendix for nanoforms applicable to the Guidance on Registration and substance identification, [https://echa.europa.eu/documents/10162/23047722/appendix\\_nanoforms\\_draft\\_to\\_peg\\_en.pdf/bb84f0ca-7688-5293-604e-fb43982c7afd](https://echa.europa.eu/documents/10162/23047722/appendix_nanoforms_draft_to_peg_en.pdf/bb84f0ca-7688-5293-604e-fb43982c7afd)

<sup>43</sup> ECHA: Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment, Chapter R.7a: Endpoint specific guidance; [https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information\\_requirements\\_r7a\\_en.pdf/e4a2a18fa2bd-4a04-ac6d-0ea425b2e1e567f](https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r7a_en.pdf/e4a2a18fa2bd-4a04-ac6d-0ea425b2e1e567f)

<sup>44</sup> EURL ECVAM Database on Alternative Methods to Animal Experimentation (DB-ALM)

troffenen Endpunkt eine weitere Testung ggf. entfallen. Bei Abweichungen von den Anforderungen in Spalte 1 sollte entsprechend den Regeln aus Spalte 2 eine ausführliche Begründung vorgelegt werden. Es ist wichtig, dass nur relevante, verlässliche und adäquate Daten von guter Qualität die Standarddatenanforderungen erfüllen können.

Es ist zu prüfen, ob aus den vorhandenen Daten geschlussfolgert werden kann, dass die in Box 1 zusammengefassten Ausschlusskriterien<sup>45</sup> erfüllt sind, die eine Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln ausschließen und somit eine Beendigung der Prüfung bedingen.

**BOX 1: Ausschlusskriterien für die Verwendung als Tätowierpigment:**

I. Erfüllung der CLP-Kriterien oder bereits vorhandene harmonisierte Einstufung als:

CMR 1A, 1B, 2  
Skin Sens. 1, 1A, 1B  
Skin Corr. 1, 1A, 1B, 1C, Skin Irrit. 2  
Eye Dam. 1, Eye Irrit. 2  
oder  
STOT RE 1, 2  
Akut Tox. 1, 2



entspricht VO 2020/2081  
Restriktion von Stoffen in  
Tätowierfarben und PMU

II. Positive Ergebnisse in einem der im 3. Schritt aufgeführten OECD-Prüfrichtlinien für die Endpunkte: Hautreizung/-ätzung, Augenreizung/-schädigung, Hautsensibilisierung, Phototoxizität und Genotoxizität (Inkl. Photogenotoxizität).

### Schritt 3: Durchführung und Bewertung von *In-vitro*-Tests

Wenn der Antragsteller nach Sichtung aller verfügbaren Daten Informationslücken für einzelne Endpunkte identifiziert, muss geprüft werden, ob weitere *In-vitro*-Tests erforderlich sind und ggf. ein oder mehrere neue *In-vitro*-Tests durchgeführt werden. Hierbei ist besonders zu beachten, dass die ausgewählten *In-vitro*-Tests mit den Tätowierpigmenten unter Berücksichtigung ihrer physikochemischen Eigenschaften durchführbar sein müssen. *In-vitro*-Tests werden u. a. für die Endpunkte Augenreizung, Hautreizung, Hautsensibilisierung, Phototoxizität und Genotoxizität gefordert (Abbildung 2B). Für die Durchführung dieser Tests liegen teilweise keine ausreichenden Erfahrungen für die hier vorgesehene Testung von Pigmenten vor. Für die Aussagekraft hinsichtlich einer intradermalen Applikation bestehen noch Unsicherheiten und ggf. Entwicklungsbedarf bei den Epidermismodellen.

Neu durchzuführende Tests sollten entsprechend der jeweiligen OECD-Prüfrichtlinien und nach GLP durchgeführt werden. Entsprechende Abweichungen sind in den Tabellen in Spalte 2 hinterlegt.

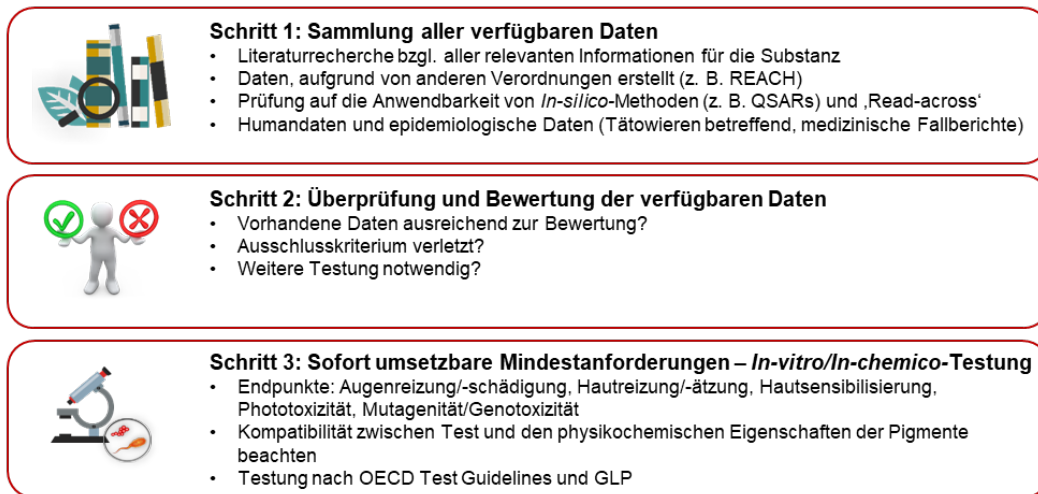
Nach Durchführung der *In-vitro*-Tests ist eine erneute Bewertung aller vorliegenden Daten erforderlich. Liegen für einen der Endpunkte Erkenntnisse vor, dass die (Einstufungs-)Kriterien der CLP-Verordnung erfüllt sind, so sind tierexperimentelle Studien mit dem Pigment für

<sup>45</sup> Der Eintrag 75 des Anhangs XVII der REACH-VO bezieht sich nur auf harmonisiert eingestufte Substanzen als CMR (1A/B und 2), Skin Sens. (1, 1A/B) und Skin & Eye Irrit. (1, 1A/B/C, 2)). Das hier vorgeschlagene erweiterte Verwendungsverbot für Tätowiermittel ist derzeit in der EU nicht rechtlich bindend.

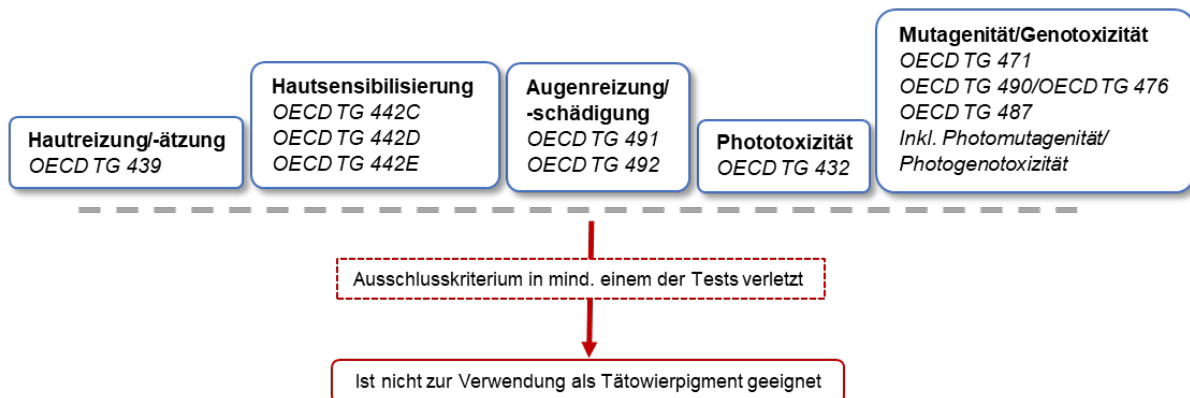
diese Endpunkte im Rahmen der Bewertung zur Verwendung als Tätowierpigment nicht zulässig und die Verwendung des Pigments in Tätowiermitteln entsprechend der Ausschlusskriterien (s. BOX 1) ausgeschlossen.

**Abbildung 2: Sequenzielles Vorgehen bei einer Prüfung von Tätowierpigmenten; ggf. nach erforderlicher Anpassung an (nano)partikuläre Eigenschaften.**

**A) Sequenzielles Prüfschemata für Tätowierpigmente**



**B) Sofort umsetzbare Mindestanforderungen – *In-vitro/In-chemico*-Testung**



GLP: Gute Laborpraxis, QSARs: Quantitative structure-activity relationship, Bilder: cleanpng.org

## Detaillierte Beschreibung der Informationsanforderungen zu den gesundheitsbezogenen Endpunkten

### 2.2.1 Endpunkt Augenreizung/-schädigung

#### 2.2.1.1 Prüfanforderung

2.2.1 Endpunkt Augenreizung/-schädigung	
Spalte 1 Standardprüfanforderung	Spalte 2 Regeln zur Abweichung von Spalte 1
2.2.1.a OECD-Prüfrichtlinie 491 „Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage“ <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Pigmente können in PBS, 5 % DMSO oder Mineralöl suspendiert werden (für 5 min)</li> <li>➤ Messung der Vitalität über MTT-Formazanbildung nur über HPLC/UPLC Analysen</li> </ul>	2.2.1.a und 2.2.1.b müssen nicht durchgeführt werden, wenn für die Substanz <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ die CLP-Kriterien zur Einstufung als CMR (1A/B und 2), Skin Sens (1, 1A/B), Skin Corr./Irrit. (1, 1A/B/C, 2, 3 (nur GHS)), Eye Dam./Irrit. (1, 2, 2B (nur GHS)), STOT RE (1, 2), Akut Tox. (1, 2) erfüllt sind und/oder die Substanz in diesen Endpunkten harmonisiert eingestuft ist.</li> <li>➤ bereits Daten vorliegen, die zeigen, dass die Substanz nach Richtlinien der OECD phototoxische Eigenschaften aufweist.</li> </ul>
2.2.1.b OECD-Prüfrichtlinie 492 „Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage“ <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Messung der Vitalität über MTT-Formazanbildung nur über HPLC-/UPLC-Analysen</li> </ul>	
<b>Bewertungskriterien:</b> Beide Tests erlauben eine Einstufung (nach CLP-Verordnung) als „augenschädigend“ oder „nicht augenreizend“, jedoch keine Kategorisierung als „augenreizend“. Bei positiven Resultaten sollte generell von der Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln abgesehen werden.	

PBS: Phosphatgepufferte Kochsalzlösung, DMSO: Dimethylsulfoxid, MTT: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid, HPLC: High Performance Liquid Chromatography, UPLC: Ultra Performance Liquid Chromatography, CMR: Carcinogenic, mutagenic and reprotoxic, Skin Sens: Sensibilisierung der Haut, Skin Corr./Irrit.: Ätzwirkung auf die Haut/Hautreizung, Eye Dam./Irrit.: Schwere Augenschädigung/Augenreizung, STOT RE: Spezifische Zielorgan-Toxizität (wiederholte Exposition), Akut Tox: Akute Toxizität

#### 2.2.1.2 Standardprüfanforderungen

Gemäß der REACH-VO dürfen augenreizende oder -schädigende Substanzen über einem bestimmten Konzentrationsgrenzwert nicht in Tätowiermitteln verwendet werden. Es wird davon ausgegangen, dass augenreizende oder -schädigende Substanzen diese Wirkung auch nach intradermaler Anwendung entfalten könnten. Folglich muss eine Bewertung des augenreizenden oder -schädigende Potenzials eines Pigments vor Anwendung als Tätowierpigment erfolgen.

Diese Bewertung ist außerdem unerlässlich für Tätowierpigmente, die zur möglichen episkleralen Tätowierung am Auge verwendet werden.

Um das augenreizende oder -schädigende Potenzial von Pigmenten experimentell zu untersuchen, müssen *In-vitro*-Prüfungen nach OECD-Prüfrichtlinie 491 (2.2.1.a) und OECD-Prüfrichtlinie 492 (2.2.1.b) durchgeführt werden. Die für lösliche Substanzen konzipierte Methode (OECD-Prüfrichtlinie 460) wird für die Pigmentanalyse als ungeeignet angesehen. Die

OECD-Prüfrichtlinie 437 „Bovine Corneal Opacity And Permeability Test Method“ und die OECD-Prüfrichtlinie 438 „Isolated Chicken Eye Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage“ wurden nicht in die Prüfanforderungen aufgenommen, da bereits ein humanes Testsystem zur Verfügung steht und der Informationsgewinn eines zweiten nicht-humanen Testsystems fraglich ist.

#### 2.2.1.3 Prüfstrategie

Sollten Daten vorliegen, die den Kriterien einer Einstufung nach CLP-Verordnung<sup>46</sup> entsprechen bzw. auf andere unerwünschte Eigenschaften hinweisen (siehe 2.2.1.1, Spalte 2), müssen die geforderten Standardprüfanforderungen nach 2.2.1.1 Spalte 1 nicht durchgeführt werden und das entsprechende Pigment darf nicht als Tätowierpigment verwendet werden. Sollten keine entsprechenden Daten vorliegen, können die *In-vitro*-Prüfungen auf augenreizende Effekte durchgeführt werden. Es empfiehlt sich, die Prüfungen mit dem weniger komplexen Testsystem zu beginnen, d. h., zuerst die OECD-Prüfrichtlinie 491 (2.2.1.a) (Testsystem Zellkultur) und, sofern die Ergebnisse nicht den Kriterien entsprechend einstuferrelevant sind, nachfolgend die OECD-Prüfrichtlinie 492 (2.2.1.b) (Testsystem rekonstruierte Kornea) durchzuführen. Hier wird auch auf das OECD GD 263 (IATA - Serious eye damage and eye irritation)<sup>47</sup> verwiesen, das Methoden und deren Kombination in Teststrategien beschreibt.

#### 2.2.1.4 Bewertungskriterien/Bewertungsstrategie

Sollten die Ergebnisse der Untersuchungen nach OECD-Prüfrichtlinie 491 oder OECD-Prüfrichtlinie 492 einen einstuferrelevanten augenreizenden oder -schädigenden Effekt des Pigments zeigen, ist das Ausschlusskriterium (s. Box 1) zur Verwendung als Tätowierpigment erfüllt.

<sup>46</sup> ECHA (2017) Guidance on the Application of the CLP Criteria, [https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/clp\\_en.pdf](https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/clp_en.pdf)

<sup>47</sup> Guidance Document no 263 on Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) for Serious Eye Damage and Eye Irritation

## 2.2.2 Endpunkt Hautreizung/-ätzung

### 2.2.2.1 Prüfanforderung

2.2.2 Endpunkt Hautreizung/-ätzung	
Spalte 1 Standardprüfanforderung	Spalte 2 Regeln zur Abweichung von Spalte 1
2.2.2.a OECD-Prüfrichtlinie 439 "In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method" <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Einstufung als "hautreizend/hautätzend" (Kategorie 1 oder 2) oder "nicht hautreizend"</li> </ul>	2.2.2.a muss nicht durchgeführt werden, wenn für die Substanz <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ die CLP-Kriterien zur Einstufung als CMR (1A/B und 2), Skin Sens (1, 1A/B), Skin Corr./Irrit. (1, 1A/B/C, 2, 3 (nur GHS)), Eye Dam./Irrit. (1, 2, 2B (nur GHS)), STOT RE (1, 2), Akut Tox (1, 2) erfüllt sind und/oder die Substanz in diesen Endpunkten harmonisiert eingestuft ist.</li> <li>➤ bereits Daten vorliegen, die zeigen, dass die Substanz nach Richtlinien der OECD phototoxische Eigenschaften aufweist.</li> </ul>
<p><b>Bewertungskriterien:</b>                  Die OECD-Prüfrichtlinie 439 erlaubt die Einstufung als „hautreizend/hautätzend“ (Kategorie 1 oder 2) oder „nicht hautreizend“. Bei positiven Resultaten sollte generell von der Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln abgesehen werden.</p>	

CMR: Carcinogenic, mutagenic and reprotoxic, Skin Sens: Sensibilisierung der Haut, Skin Corr./Irrit.: Ätzwirkung auf die Haut/Hautreizung, Eye Dam./Irrit.: Schwere Augenschädigung/Augenreizung, STOT RE: Spezifische Zielorgan-Toxizität (wiederholte Exposition), Akut Tox: Akute Toxizität

#### 2.2.2.2 Standardprüfanforderungen

Gemäß der REACH-Beschränkung (Eintrag 75) dürfen hautreizende und -ätzende Substanzen über einem bestimmten Konzentrationsgrenzwert nicht in Tätowiermitteln verwendet werden, da davon ausgegangen wird, dass diese Substanzen auch intradermal eine ätzende oder reizende Wirkung besitzen können. Daher ist ein hautreizendes oder -ätzendes Potenzial für Tätowierpigmente unbedingt auszuschließen. Hierfür wird ein Ansatz vorgeschlagen, der die Durchführung von nur einem Test nach OECD-Prüfrichtlinie 439 erfordert – und somit eine Einstufung in mindestens Kategorie 2 ermöglicht. Eine Differenzierung von Kat. 1 und Kat. 2 ist nicht notwendig. Die Prüfrichtlinien 431 (In Vitro Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (RhE)Test Method) und 430 (Transcutaneous Electrical Resistance Test Method) erlauben nur die Identifizierung von Kat. 1-Substanzen, negative Ergebnisse würden zusätzliche Prüfungen nach OECD-Prüfrichtlinie 439 erfordern. Alternativ kann auch ein im OECD GD 203 für Hautreizung/-ätzung beschriebener „Bottom-up-Ansatz“ verfolgt werden<sup>48</sup>.

Mittels OECD-Prüfrichtlinie 439 (2.2.2.a) können die hautätzenden Eigenschaften der Pigmente beurteilt werden. Ein eindeutiges Testergebnis nach den entsprechenden OECD-Prüfrichtlinien Anforderungen (mit den entsprechend gelisteten Abweichungen) ist vorzulegen, damit eine Bewertung entsprechend der Einstufungskriterien als „hautschädigend“ (ätzend oder reizend) oder „nicht hautreizend“ möglich ist. Eine weitere Unterscheidung der Unterkategorien der Kategorie 1 ist nicht erforderlich (siehe Bewertungskriterien).

<sup>48</sup> OECD (2017), Guidance Document on an Integrated Approach on Testing and Assessment (IATA) for Skin Corrosion and Irritation, OECD Series on Testing and Assessment, No. 203, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264274693-en>.



### 2.2.2.3 Prüfstrategie

Sollten Daten vorliegen, die zu einer Einstufung nach CLP führen (siehe 2.2.2.1, Spalte 2), müssen die geforderten Standardprüfanforderungen nach 2.2.2.1, Spalte 1 nicht durchgeführt werden, und das entsprechende Pigment sollte nicht als Tätowierpigment verwendet werden (cf. BOX 1). Sollten keine entsprechenden Daten vorliegen, sollen die Prüfungen auf hautreizende bzw. -ätzende Effekte durchgeführt werden. Gibt es begründete Zweifel, dass die OECD-Prüfrichtlinie 439 angewendet werden kann bzw. die negativen Ergebnisse nicht vertrauenswürdig sind, ist das entsprechende Pigment von der Verwendung in Tätowiermitteln auszuschließen, weiterführende Informationen können der „Guidance on the Application of the CLP Criteria entnommen werden“<sup>49</sup>.

### 2.2.2.4 Bewertungskriterien/Bewertungsstrategie

Sollte die OECD-Prüfrichtlinie 439 (2.2.2.a) einen einstufigsrelevanten hautschädigenden Effekt der Pigmente zeigen, ist das betreffende Pigment nicht für die Tätowierung zu verwenden, da dann ein Ausschlusskriterium für die Verwendung als Tätowierpigment erfüllt ist (siehe Box 1).

## 2.2.3 Endpunkt Phototoxizität

### 2.2.3.1 Prüfanforderung

2.2.3 Endpunkt Phototoxizität	
Spalte 1 Standardprüfanforderung	Spalte 2 Regeln zur Abweichung von Spalte 1
2.2.3.a OECD-Prüfrichtlinie 432 „In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test“ <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Die Messung des Neutralrot kann nicht kolorimetrisch erfolgen. Entweder HPLC-/UPLC-Spektrometrie oder auch hier der Einsatz der MTT-Methode mit einer Formazanmessung über HPLC-/UPLC-Spektrometrie.</li> </ul>	2.2.3.a muss nicht durchgeführt werden, wenn für die Substanz <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ die CLP-Kriterien zur Einstufung als CMR (1A/B und 2), Skin Sens (1, 1A/B), Skin Corr./Irrit. (1, 1A/B/C, 2, 3 (nur GHS)), Eye Dam./Irrit. (1, 2, 2B (nur GHS), STOT RE (1, 2), Akut Tox (1, 2) erfüllt sind und/oder die Substanz in diesen Endpunkten harmonisiert eingestuft ist.</li> <li>➤ bereits Daten vorliegen, die zeigen, dass die Substanz nach Richtlinien der OECD phototoxische Eigenschaften aufweist.</li> </ul>
<b>Bewertungskriterien:</b> Der <i>In-vitro</i> -Test erlaubt die Beurteilung der phototoxischen Eigenschaften von Pigmenten. Sollte hier ein positives Testergebnis vorliegen, muss von der Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln abgesehen werden.	

HPLC: High Performance Liquid Chromatography, UPLC: Ultra Performance Liquid Chromatography, CMR: Carcinogenic, mutagenic and reprotoxic, Skin Sens: Sensibilisierung der Haut, Skin Corr./Irrit.: Ätzwirkung auf die Haut/Hautreizung, Eye Dam./Irrit.: Schwere Augenschädigung/Augenreizung, STOT RE: Spezifische Zielorgan-Toxizität (wiederholte Exposition), Akut Tox: Akute Toxizität

### 2.2.3.2 Standardprüfanforderungen

Die Exposition einer Tätowierung gegenüber Sonnenstrahlung kann schädliche Auswirkungen haben, wenn Inhaltsstoffe des Tätowiermittels photolabil sind und mögliche Spaltprodukte zu sofort oder verzögert auftretenden Effekten wie Genotoxizität (siehe Kapitel 2.2.6)

<sup>49</sup> ECHA (2017) Guidance on the Application of the CLP Criteria, [https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/clp\\_en.pdf](https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/clp_en.pdf)

oder Hautsensibilisierung (Photosensibilisierung) führen. Daher sind Tätowierpigmente auf ihre phototoxischen Eigenschaften zu untersuchen.

Über die Endpunkte der CLP-Verordnung hinaus erfolgt die Einschätzung des phototoxischen Potenzials eines Pigments gemäß der Note of Guidance on Photosafety Testing (CPMP/SWP/398/01) der Committee for Proprietary Medical Products. Dabei sollten die unterstützenden Informationen in den Fragen und Antworten zu diesem Leitfadens (EMA/CHMP/SWP/336670/2010) beachtet werden. Diese Untersuchung sollte an Stoffen durchgeführt werden, die Licht im Bereich von 290-700 nm absorbieren. Da die meisten Pigmente Licht in diesem Bereich absorbieren, ist der Phototoxizitätstest unabdingbar. Für Pigmente wird ein molarer Extinktionskoeffizient über  $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Schwellenwert für die Durchführung von Phototoxizitätstests) erwartet.

#### *Phototoxizität*

Der *In-vitro*-3T3-NRU-Phototoxizitätstest ist ein Zytotoxizitätstest, der in An- und Abwesenheit einer Lichtdosis durchgeführt wird. Die Auswertung der Ergebnisse soll mittels HPLC-/UPLC-Spektroskopie erfolgen. Die OECD-Prüfrichtlinie 495 „ROS (Reactive Oxygen Species) Assay for Photoreactivity“ bestimmt die ROS-Bildung von bestrahlten Chemikalien mit simuliertem Sonnenlicht. Jedoch ist der Anwendungsbereich des ROS-Assays derzeit nur auf die Chemikalien beschränkt, die die im Protokoll beschriebenen Löslichkeitskriterien erfüllen. Unlösliche Chemikalien eignen sich nicht für den Test, können aber unter Zugabe von Löslichkeitsverstärkern getestet werden. Im ROS-Assay wird die Singulett-Sauerstoff-Erzeugung durch die spektrophotometrische Messung des *p*-Nitrosodimethylanilin-(RNO)-Quenching, gefolgt von einer Messung der Abnahme der Absorption von RNO bei 440 nm, nachgewiesen. Aufgrund des breiten Absorptionsspektrums der Tätowierpigmente wird diese Messung als bedingt geeignet angesehen.

#### *Photosensibilisierung*

Der Endpunkt Photosensibilisierung ist für Tätowiermittel relevant. Jedoch sind zurzeit keine validierten Methoden hierfür verfügbar. Das SCCS (*Scientific Committee on Consumer Safety*) vermutet, dass mit Hilfe der OECD-Prüfrichtlinie 432 auch der Endpunkt der Photosensibilisierung abgedeckt werden könnte (SCCS/1602/18). Dennoch werden auch aktuell im SCCS verschiedene *In-vitro*-Methoden diskutiert, um den Endpunkt der Photosensibilisierung adäquat zu erfassen (wie z. B. der photo-h-CLAT, eine NCTC2455 Methode und ein photo-SH/NH<sub>2</sub>-Test).

#### *Photogenotoxizität* (siehe Kapitel 2.2.6)

Sobald weitere OECD-Prüfrichtlinien entwickelt und für die Verwendung von Pigmenten als Testsubstanzen validiert sind, können die Standardprüfanforderungen um diese Methoden erweitert werden.

2.2.3.3 Prüfstrategie

Der Testung auf Phototoxizität geht eine Literaturrecherche voraus. Sollten keine Anhaltspunkte für einen phototoxischen Effekte vorliegen, so soll die Testung entsprechend der OECD-Prüfrichtlinie 432 (2.2.3.a) erfolgen.

2.2.3.4 Bewertungskriterien/Bewertungsstrategie

Chemikalien, die nach OECD-Prüfrichtlinien phototoxische Eigenschaften aufweisen oder für die andere ausreichende Hinweise auf eine phototoxische Aktivität vorliegen, sind nicht für die Anwendung in Tätowiermitteln geeignet.

2.2.4 Endpunkt Hautsensibilisierung

2.2.4.1 Prüfanforderung

2.2.4 Endpunkt Hautsensibilisierung	
Spalte 1 Standardprüfanforderung	Spalte 2 Regeln zur Abweichung von Spalte 1
<p>2.2.4.a OECD-Prüfrichtlinie 442C „Key-event-based test guideline for In Chemico Skin Sensitisation assays addressing the Adverse Outcome Pathway Key Event on covalent binding to proteins“</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Einstufung (nach UN GHS) als „hautsensibilisierend“ oder „nicht hautsensibilisierend“, keine Unterkategorisierung (Abs. 7)</li> </ul>	<p>Zu 2.2.4.a Wie in der OECD-Prüfrichtlinie 442C (Anhang I, Abs. 3) beschrieben ist die Methode nicht anwendbar bei Pigmenten, die Metallionen beinhalten (z. B. Titandioxid).</p> <p><u>Zu 2.2.4.c a)</u> Nicht anwendbar bei fluoreszierenden Pigmenten, die im Wellenlängenbereich von Fluoresceinisothiocyanat (FITC) oder Propidiumiodid (PI) liegen. Hierfür müssen die Antikörper entsprechend mit anderen Fluorophoren gekoppelt werden, um eine Interferenz auszuschließen.</p> <p>b) Prüfsubstanzen mit einem Log P größer als 3,5 neigen dazu, falsch negative Ergebnisse zu erzeugen. Daher sollten negative Ergebnisse mit Prüfsubstanzen mit einem Log P größer als 3,5 nicht berücksichtigt werden.</p> <p>2.2.4.a, 2.2.4.b, und 2.2.4.c müssen nicht durchgeführt werden, wenn für die Substanz</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ die CLP-Kriterien zur Einstufung als CMR (1A/B und 2), Skin Sens (1, 1A/B), Skin Corr./Irrit. (1, 1A/B/C, 2, 3 (nur GHS)), Eye Dam./Irrit. (1, 2, 2B (nur GHS), STOT RE (1, 2), Akut Tox (1, 2) erfüllt sind und/oder die</li> </ul>
<p>2.2.4.b OECD-Prüfrichtlinie 442D „In Vitro Skin Sensitisation assays addressing the AOP key event on keratinocyte activation“</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Einstufung (nach UN GHS) als „hautsensibilisierend“ oder „nicht hautsensibilisierend“, keine Unterkategorisierung (Abs. 9)</li> </ul>	
<p>2.2.4.c OECD-Prüfrichtlinie 442E „In Vitro Skin Sensitisation assays addressing the Key Event on activation of dendritic cells on the Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation“</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Einstufung (nach UN GHS) als „hautsensibilisierend“ oder „nicht hautsensibilisierend“, keine Unterkategorisierung (Abs. 7)</li> </ul>	

2.2.4 Endpunkt Hautsensibilisierung	
Spalte 1 Standardprüfanforderung	Spalte 2 Regeln zur Abweichung von Spalte 1
	Substanz in diesen Endpunkten harmonisiert eingestuft ist. ➤ bereits Daten vorliegen, die zeigen, dass die Substanz nach Richtlinien der OECD photo-toxische Eigenschaften aufweist.
<u>Bewertungskriterien:</u> Die <i>In-chemico/In-vitro</i> -Tests erlauben eine Einstufung (nach CLP-Verordnung) als „hautsensibilisierend“ oder „nicht hautsensibilisierend“, jedoch keine Unterkategorisierung. Dabei sind 2 der 3 Tests ausreichend, um eine Aussage machen zu können, wie im Ansatz Defined Approach „2-out-of-3“ beschrieben. Bei positiven Resultaten in einem der geforderten <i>In-chemico-/In-vitro</i> -Tests sollte generell von der Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln abgesehen werden. Alternativ ist der Ansatz Defined Approach: “Integrated Testing Strategy (ITS)” in Betracht zu ziehen. Hier werden die Key Events 1 und 3 (442C und 442E) adressiert und beinhalten eine <i>In-silico</i> -Vorhersage der Hautsensibilisierung <sup>50</sup> . Beide „Defined Approach“ Ansätze sind als TG 497 von der OECD publiziert.	

CMR: Carcinogenic, mutagenic and reprotoxic, Skin Sens: Sensibilisierung der Haut, Skin Corr./Irrit.: Ätzwirkung auf die Haut/Hautreizung, Eye Dam./Irrit.: Schwere Augenschädigung/Augenreizung, STOT RE: Spezifische Zielorgan-Toxizität (wiederholte Exposition), Akut Tox: Akute Toxizität

#### 2.2.4.2 Standardprüfanforderungen

Gemäß der REACH-VO dürfen sensibilisierende Substanzen über einem bestimmten Konzentrationsgrenzwert nicht in Tätowiermitteln verwendet werden.

Hautsensibilisierende Substanzen können eine allergische Kontaktdermatitis verursachen, wenn sie auf der Epidermis angewendet oder in die Haut injiziert werden. Daher ist eine Prüfung auf Hautsensibilisierung für Tätowierpigmente erforderlich.

Für die Bewertung der hautsensibilisierenden Eigenschaften von Pigmenten sollen prioritär *In-chemico/In-vitro*-Testmethoden (OECD-Prüfrichtlinien 442C, 442D, und 442E) angewendet werden, wie sie auch für die Untersuchung von Chemikalien nach der REACH-VO beschrieben sind<sup>51</sup>. Bei der Untersuchung von Pigmenten sind die in der Tabelle 2.2.4.1 erwähnten Abweichungen zu berücksichtigen. Für Pigmente mit hohen Molekulargewichten können sich die hier aufgelisteten *In-vitro*-Methoden (siehe 2.2.4.1, Spalte 1) unter Beachtung der für Pigmente bestimmten Bedingungen vermutlich als geeigneter erweisen als entsprechende *In-vivo*-Methoden. Der Grund hierfür ist, dass die dermale Exposition in *In-vivo*-Versuchen für höhere Molmassen (500 g mol<sup>-1</sup>) als nicht geeignet beschrieben wird<sup>52</sup>. Bereits vorhandene negative *In-vivo*-Daten sind daher nicht aussagekräftig. Da einige Pigmente diese Molmassengrenze überschreiten, ist hier nicht von der erforderlichen Hautpenetration auszugehen. Bei einer intradermalen Applikation wird dieser Schritt umgangen. Daher kann ein *in vivo* dermal applizierter Stoff, der als nicht sensibilisierend eingestuft ist, bei intradermaler Applikation durchaus sensibilisierend wirken. Dadurch ist anzunehmen, dass validierte *In-vitro*-Methoden für Tätowierpigmente verlässlichere Daten liefern.

Der methodische Ansatz der OECD-Prüfrichtlinien beruht auf den Adverse Outcome Pathways (AOPs) for Skin Sensitisation der OECD<sup>53</sup>. Hierbei können unter anderem die Haptensierung (OECD-Prüfrichtlinie 442C (2.2.4.a)) sowie die Aktivierung von Keratinozyten

<sup>50</sup> Draft OECD Guideline Defined Approaches for Skin Sensitisation, [https://www.oecd.org/env/ehs/testing/GL%20DASS\\_22Sep2019v2.pdf](https://www.oecd.org/env/ehs/testing/GL%20DASS_22Sep2019v2.pdf)

<sup>51</sup> Table R.7.3–2 der Guidance on IR&CSA - Chapter R.7a

<sup>52</sup> Bos, J.D. and Meinardi, M.M.H.M. (2000), The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Experimental Dermatology*, 9: 165-169. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0625.2000.009003165.x>

<sup>53</sup> OECD (2014), The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins, OECD Series on Testing and Assessment, No. 168, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264221444-en>.

(OECD-Prüfrichtlinie 442D(2.2.4.b)) und dendritischen Zellen (OECD-Prüfrichtlinie 442E (2.2.4.c)) in Abhängigkeit von den Pigmenten untersucht werden.

#### 2.2.4.3 Prüfstrategie

Es sollen mindestens zwei der oben genannten Methoden (OECD-Prüfrichtlinien 442C, 442D und 442E) herangezogen werden. Bei positiven Resultaten in einem der geforderten *In-chemico/In-vitro*-Tests sollte generell von der Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln abgesehen werden. Alternativ ist der Ansatz Defined Approach: "Integrated Testing Strategy (ITS)" in Betracht zu ziehen. Hier werden die Key Events 1 und 3 (442C und 442D) adressiert und beinhalten eine *In-silico*-Vorhersage der Hautsensibilisierung<sup>54</sup>. Zukünftig können weitere Defined Approaches zum Einsatz kommen, sofern ihre Tauglichkeit durch die OECD bestätigt wurde. Die Eignung der Prüfrichtlinie zur Testung von Pigmenten ist zu überprüfen. Falls erforderlich, ist eine Anpassung mit wissenschaftlicher Begründung vorzunehmen.

Bereits vorhandene *In-vivo*-Daten nach OECD-Prüfrichtlinie 406 „Skin Sensitisation“ (Guinea Pig Maximisation Test (GPMT)) mit intradermaler Applikation können in die Bewertung einbezogen werden. Dieser *In-vivo*-Test hat den Vorteil, durch die intradermale Punktierung den Vorgang des Tätowierens am besten zu simulieren und dadurch verlässliche Daten zu erzeugen. Wohingegen nicht invasive, oft verwendete *In-vivo*-Methoden wie die OECD-Prüfrichtlinie 429 (LLNA), der laut den REACH-Standardanforderungen bevorzugten *In-vivo*-Methode, auch bei negativen Ergebnissen keine Sicherheit geben, dass ein Pigment für Tätowierzwecke nicht doch nach der Applikation sensibilisierend wirken kann.<sup>55</sup>

#### 2.2.4.4 Bewertungskriterien/Bewertungsstrategie

Sollten die durchgeführten Prüfungen ein hautsensibilisierendes Potenzial des Pigments zeigen, liegt damit ein Ausschlusskriterium vor. Das betreffende Pigment darf nicht als Tätowierpigment verwendet werden. Eine Unterscheidung in Unterkategorien nach CLP ist nicht nötig, da gemäß der REACH-VO sensibilisierende Substanzen über 0,001 Gewichtsprozent unabhängig von der Unterkategorie (1, 1A, und 1B) nicht in Tätowiermitteln eingesetzt werden dürfen.

<sup>54</sup> Draft OECD Guideline Defined Approaches for Skin Sensitisation, [https://www.oecd.org/env/ehs/testing/GL%20DASS\\_22Sep2019v2.pdf](https://www.oecd.org/env/ehs/testing/GL%20DASS_22Sep2019v2.pdf)

<sup>55</sup> European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), 2017, "Safer tattooing-Overview of current knowledge and challenges of toxicological assessment", 1<sup>st</sup> Edition

2.2.5 Genotoxizität

2.2.5.1 Prüfanforderungen

2.2.5 Mutagenität/Genotoxizität	
Spalte 1 Prüfanforderung	Spalte 2 Regeln zur Abweichung von Spalte 1
2.2.5.a OECD-Prüfrichtlinie 471 „In vitro Bacterial Reverse Mutation Test“	Zu 2.2.5.a, 2.2.5.b und 2.2.5.c: Eine Aufnahme der Substanz in die verwendeten Bakterien und Säugerzellen muss für jedes durchgeführte <i>In-vitro</i> -Testsystem individuell überprüft und gezeigt werden.
2.2.5.b OECD-Prüfrichtlinie 490 oder 476 „In vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test“	2.2.5.a und 2.2.5.b müssen nicht durchgeführt werden, <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ wenn ein entsprechender valider <i>In-vivo</i>-Genotoxizitätstest an Säugern (Prüfung auf Genmutationen, z. B. OECD TG 488 oder OECD TG 489) vorliegt.</li> </ul>
2.2.5.c OECD-Prüfrichtlinie 487 „In vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay with fluorescence in situ hybridisation or immunochemical labelling of kinetochores“ (CREST)	2.2.5.c muss nicht durchgeführt werden, <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ wenn ein valider <i>In-vitro</i>-OECD-Prüfrichtlinie 473 Test oder</li> <li>➤ wenn ein valider <i>In-vivo</i>-Genotoxizitätstest an Säugern (Prüfung auf Zytogenität, z. B. OECD TG 474, OECD TG 475 oder OECD TG 489) vorliegt.</li> </ul>
2.2.5.a, 2.2.5.b, und 2.2.5.c müssen nicht durchgeführt werden, wenn für die Substanz <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ die CLP-Kriterien zur Einstufung als CMR (1A/B und 2), Skin Sens (1, 1A/B), Skin Corr./Irrit. (1, 1A/B/C, 2, 3 (nur GHS)), Eye Dam./Irrit. (1, 2, 2B (nur GHS), STOT RE (1, 2), Akut Tox (1, 2) erfüllt sind und/oder die Substanz in diesen Endpunkten harmonisiert eingestuft ist.</li> <li>➤ bereits Daten vorliegen, die zeigen, dass die Substanz nach Richtlinien der OECD phototoxische Eigenschaften aufweist.</li> </ul>	
<b>Bewertungskriterien:</b> Bei positiven Resultaten in einem der drei geforderten <i>In-vitro</i> -Tests sollte generell von der Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln abgesehen werden, es sei denn, es liegt ein valider eindeutig negativer <i>In-vivo</i> -Comet-Assay (OECD-Prüfrichtlinie 489) vor.	

CMR: Carcinogenic, mutagenic and reproxic, Skin Sens: Sensibilisierung der Haut, Skin Corr./Irrit.: Ätzwirkung auf die Haut/Hautreizung, Eye Dam./Irrit.: Schwere Augenschädigung/Augenreizung, STOT RE: Spezifische Zielorgan-Toxizität (wiederholte Exposition), Akut Tox: Akute Toxizität

2.2.5.2 Standardprüfanforderungen

Für den Endpunkt Genotoxizität basiert die Teststrategie auf der Durchführung von drei ausgewählten *In-vitro*-Mutagenitätstests. Hierbei wird geprüft, ob das Tätowierpigment das Potenzial besitzt, *In-vitro*-Genmutationen oder Chromosomenaberrationen zu induzieren. Bei positiven Resultaten in einem dieser *In-vitro*-Tests sollte generell von der Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln abgesehen werden.

Alle drei in Tabelle 2.2.5.1 genannten *In-vitro*-Studien müssen mit dem Pigment durchgeführt werden. Dieses Vorgehen stellt sicher, dass gleichzeitig das Potenzial der Substanz auf Induktion von Genmutationen in Bakterien und Säugerzellkulturen sowie von strukturellen und numerischen Chromosomenaberrationen in Säugerzellkulturen untersucht wird. Da erwartet wird, dass es sich bei vielen Pigmenten um unlösliche Partikel handelt, ist es unabdingbar, dass der Antragsteller überprüft, ob die Substanz von den verwendeten Bakterien bzw. Säugerzellen aufgenommen wird.

gerzellen aufgenommen wird. Falls keine Aufnahme der Substanz in die Zellen gezeigt werden kann, muss die Validität des Testergebnisses angezweifelt und ggf. ein anderer Zelltyp wie z. B. Makrophagen verwendet werden.

Im Folgenden finden sich Informationen und spezielle Prüfforderungen zu den geforderten *In-vitro*-Tests:

*In vitro Bacterial Reverse Mutation Test (OECD-Prüfrichtlinie 471) (2.2.5.a)*

Mit dem „in vitro Bacterial Reverse Mutation Test“ (Ames-Test) lassen sich Genmutationen detektieren.

Der Test muss entsprechend OECD-Prüfrichtlinie 471 und daher mit und ohne metabolische Aktivierung mit folgenden fünf Bakterienstämmen durchgeführt werden: *S. typhimurium* TA98; TA100; TA1535; TA1537 (oder TA97a oder TA97); und einer der folgenden *S. typhimurium* Stämme TA102 or *E. coli* WP2 uvrA or *E. coli* WP2 uvrA (pKM101).

Falls das Tätowierpigment ein Azopigment ist, muss der Test mit und ohne metabolischer Aktivierung entsprechend der ‚Prival-Modifikation‘ durchgeführt werden (s. Sektion 16 in der OECD-Prüfrichtlinie 471).

*In vitro Mammalian Gene Mutation Test (OECD-Prüfrichtlinie 490 oder OECD-Prüfrichtlinie 476) (2.2.5.b)*

Dieser *In-vitro*-Test ist gefordert, um das Potenzial der Testsubstanz zur Induktion von Genmutationen in Säugerzellen zu untersuchen. Die beiden *In-vitro*-Tests: „in vitro mammalian cell gene mutation tests using the hprt and xprt genes“ (OECD-Prüfrichtlinie 476) und „in vitro mammalian cell gene mutation tests using the thymidine kinase gene“ (OECD-Prüfrichtlinie 490) werden als geeignet angesehen, um diese Standardprüfforderung zu erfüllen. Für die OECD-Prüfrichtlinien 490 und 476 sind generell Anpassungen für partikelförmige Substanzen nötig. So sollte z. B. Cytochalasin B, anders als in der Prüfrichtlinie angegeben, nicht gleichzeitig mit den Partikeln appliziert werden, da es die Partikelaufnahme inhibiert.

*In vitro Mammalian Cell Micronucleus Test with fluorescence in situ hybridization or immunochemical labelling of kinetochores (CREST) (OECD-Prüfrichtlinie 487) (2.2.5.c)*

Mit dem ‘in vitro Mammalian Cell Micronucleus Test with fluorescence in situ hybridization or immunochemical labelling of kinetochores (CREST)’ lassen sich *in vitro* strukturelle und numerische Chromosomenaberrationen detektieren.

Alternativ gibt es den ‘in vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test’ (OECD-Prüfrichtlinie 473), mit welchem ebenfalls Chromosomen-Aberrationen nachgewiesen werden können. Dieser Test ist allerdings nicht optimal geeignet zum Nachweis von numerischen Chromosomenaberrationen und wird routinemäßig nicht dafür verwendet. Wenn ein valider Test nach Prüfrichtlinie 473 vorliegt, ist eine Testung nach Prüfrichtlinie 487 nicht erforderlich. Darüber hinaus ist die Nanomaterial-spezifische Prüfrichtlinie “Guidance Document on the Adaptation of In Vitro Mammalian Cell Based Genotoxicity TGs for Testing of Manufactured Nanomaterials” in der Entwicklung und soll in Zukunft berücksichtigt werden.

### 2.2.5.3 Prüfstrategie

Die vorgeschlagene Prüfstrategie sieht zunächst die Auswertung von *In-vitro*-Befunden vor. Die geforderten *In-vitro*-Tests entsprechen hier weitestgehend den unter der REACH-VO als Standarddatenforderung geforderten *In-vitro*-Mutagenitätstests. Diese könnten daher bei registrierten Tätowierpigmenten in Abhängigkeit von der Tonnage auch schon durch REACH gefordert sein bzw. vorliegen (s. ECHA Dissemination Website). Eine Ausnahme bildet hier die zusätzliche Forderung nach ‚Kinetochoren-Labeling‘ im *In-vitro*-Mikronukleus-Test. Diese wird als wichtig erachtet, da sie die Möglichkeit bietet, numerische Chromosomenaberrationen (Aneugenität) zu identifizieren.

Die Verwendung als Tätowierpigment aufgrund positiver *In-vitro*-Genotoxizitätsbefunde zu verbieten, kann als konservatives Vorgehen gesehen werden, da bei vielen Substanzen, die *in vitro* positiv sind, keine genotoxische Wirkung *in vivo* nachzuweisen ist.

### **Vorhandene *In-vivo*-Genotoxizitätstests und Abweichungen von Spalte 1:**

Sofern valide *In-vivo*-Genotoxizitätstests in Säugern vorhanden sind, kann von der Prüfforderung in Spalte 1 abgesehen werden. Zu diesen Testsystemen können u. a. gehören:

- *In vivo* Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test (*In-vivo*-CA-Test, OECD-Prüfrichtlinie 475)
- *In vivo* Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test (*In-vivo*-MN-Test, OECD-Prüfrichtlinie 474)
- Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells *in vivo* (UDS, OECD-Prüfrichtlinie 486)
- Transgenic Rodent (TGR) Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays (OECD-Prüfrichtlinie 488)
- *In vivo* Mammalian Alkaline Comet Assay (OECD TG 489)

Hierbei gilt zu beachten:

- Nur valide, entsprechend der jeweiligen OECD-Prüfrichtlinie durchgeführte Tests werden für eine Abweichung akzeptiert. Zu wichtigen Validitätskriterien gehört hier z. B. für den *In-vivo*-CA-Test und den *In-vivo*-MN-Test, dass eine Exposition des Knochenmarks mit der Substanz nachgewiesen ist.
- Der *In-vivo*-MN-Test und *In-vivo*-CA-Test werden nur als Abweichung von den in Spalte 1 geforderten *In-vitro*-Zytogenitätstests (Detektion von Chromosomenaberrationen), jedoch nicht als Genmutationstests akzeptiert.
- Ein vorliegender valider TGR-Test wird nur als Abweichung von den in Spalte 1 geforderten *In-vitro*-Genmutationstests akzeptiert.
- Ein negativer UDS-Test wird nicht als relevant angesehen, da ein negativer Test allein nicht als ausreichende Evidenz gesehen wird, dass die Substanz keine Genmutationen induziert (s. ECHA Guidance IR & CSR, Chapter R.7a: Endpoint specific guidance, Version 6.0- July 2017).

Genotoxizitätstests müssen nicht für Tätowierpigmente durchgeführt werden, wenn die in der CLP-Verordnung festgelegten Kriterien für eine Einstufung als CMR erfüllt sind, da in diesem Fall Eintrag 75 des Anhangs XVII der REACH-VO gilt und diese Pigmente nicht oberhalb der genannten Konzentrationsgrenzen für den Zweck einer Tätowierung verwendet werden dürfen.



2.2.5.4 Bewertungskriterien/Bewertungsstrategie

Bei positiven Resultaten in einem der drei geforderten *In-vitro*-Tests sollte generell von der Verwendung der Pigmente in Tätowiermitteln abgesehen werden, es sei denn, es liegt ein entsprechender valider eindeutig negativer Test vor, der den jeweiligen positiven Befund (z. B. für die Induktion von Genmutationen oder Chromosomenaberrationen) entkräftet (z. B. ein eindeutig negativer *In-vivo*-Comet-Assay (OECD-Prüfrichtlinie 489).

2.2.6 Photogenotoxizität

2.2.6.1 Prüfanforderungen

2.2.6 Photomutagenität/Photogenotoxizität	
Spalte 1 Prüfanforderung	Spalte 2 Regeln zur Abweichung von Spalte 1
2.2.6.a Nachfolgend sind <i>In-vitro</i> -Mutationsstudien gelistet, die mit bestrahlten (nach CPMP/SWP/398/01) Pigmenten durchzuführen sind  Nach OECD-Prüfrichtlinie 471 „Photo-In vitro Bacterial Reverse Mutation Test“	Zu 2.2.6.a, 2.2.6.b und 2.2.6.c: Eine Aufnahme der Substanz in die verwendeten Bakterien und Säugerkzellen muss für jedes durchgeführte <i>In-vitro</i> -Testsystem individuell überprüft und gezeigt werden.
2.2.6.b Nach OECD-Prüfrichtlinie 490 oder 476 „Photo-In vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test“	2.2.6.a und 2.2.6.b müssen nicht durchgeführt werden, ➤ wenn ein entsprechender valider <i>In-vivo</i> -Genotoxizitätstest an Säugern (Prüfung auf Genmutationen) vorliegt.
2.2.6.c Nach OECD-Prüfrichtlinie 487 „Photo-In vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay with fluorescence in situ hybridisation or immunochemical labelling of kinetochores“ (CREST)	2.2.6.c muss nicht durchgeführt werden, ➤ wenn ein valider <i>In-vitro</i> -Test nach OECD-Prüfrichtlinie 473 oder ➤ wenn ein valider <i>In-vivo</i> -Genotoxizitätstest an Säugern (Prüfung auf Zytogenität) vorliegt.
	2.2.6.a, 2.2.6.b, und 2.2.6.c müssen nicht durchgeführt werden, wenn für die Substanz ➤ die CLP-Kriterien zur Einstufung als CMR (1A/B und 2), Skin Sens (1, 1A/B), Skin Corr./Irrit. (1, 1A/B/C, 2, 3 (nur GHS)), Eye Dam./Irrit. (1, 2, 2B (nur GHS), STOT RE (1, 2), Akut Tox (1, 2) erfüllt sind und/oder die Substanz in diesen Endpunkten harmonisiert eingestuft ist. ➤ bereits Daten vorliegen, die zeigen, dass die Substanz nach den Richtlinien der OECD phototoxische Eigenschaften aufweist.

CMR: Carcinogenic, mutagenic and reprotoxic, Skin Sens: Sensibilisierung der Haut, Skin Corr./Irrit.: Ätzwirkung auf die Haut/Hautreizung, Eye Dam./Irrit.: Schwere Augenschädigung/Augenreizung, STOT RE: Spezifische Zielorgan-Toxizität (wiederholte Exposition), Akut Tox: Akute Toxizität

Für die Prüfung von Tätowierpigmenten wird die Phototoxizität als relevant angesehen. Daher muss der Antragsteller auch Prüfungen zur Photogenotoxizität durchführen.

Zu den von der Arbeitsgruppe der Gesellschaft für Umweltmutationsforschung (GUM) beschriebenen Methoden gehören auch der Photo-Ames-Test, der Photo-HPRT/Photo-Mouse-Lymphoma-Test, der Photo-Mikrokern-Test und der Photo-Chromosomenaberrationstest. In vielen Fällen führt die gleichzeitige Anwendung von Bestrahlung bei der Durchführung einer

Standard-Mutagenitäts-/Genotoxizitätsstudie nicht zu erheblichen Änderungen des bestehenden OECD-Protokolls ohne Bestrahlung. Daher wird die Mehrzahl der beschriebenen Photomutagenitäts-/Photogenotoxizitätstests als gültig angesehen (SCCS, 2019).

Allgemein sollte ein UV-Vis-Spektrum der Substanz zusammen mit einem molaren Extinktionskoeffizienten (MEC) zur Verfügung gestellt werden, die nach einer validierten Methode ermittelt wurden.

Photomutagenität muss nicht untersucht werden, wenn ein valider negativer Phototoxizitätstest vorliegt oder wenn die Substanz einen molaren Extinktionskoeffizienten  $< 1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  aufweist.

Die Teststrategie für Photogenotoxizität ist identisch mit der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Teststrategie für Genotoxizität und wird hier nicht noch einmal beschrieben. Die Tests sind analog der OECD-Prüfrichtlinien durchzuführen, bei gleichzeitiger Anwendung von Bestrahlung. Empfehlungen zur Bestrahlung finden sich in der „Note for Guidance on Photosafety testing“, CPMP/SWP/398/01.

### **3 Zu entwickelnde toxikologische Prüfanforderungen und Einschätzung der Exposition**

#### **3.1 Zu entwickelnde toxikologische Prüfanforderungen - noch nicht operabel**

Der intradermale Applikationsweg wird für die Bewertung der Sicherheit von Chemikalien unter REACH (und CLP) und von kosmetischen Produkten nicht berücksichtigt. Über die im Kapitel 2 aufgeführten Anforderungen hinaus ist es daher erforderlich, Prüfanforderungen zu entwickeln, die die Vorhersage einer systemischen Exposition durch Tätowierpigmente und deren Toxizität nach intradermaler Applikation berücksichtigen. Die partikuläre Form und unlösliche Natur (bzw. geringe Löslichkeit) von Pigmenten spielen für die zu entwickelnden Prüfrichtlinien eine wichtige Rolle.

##### **3.1.1 Identifizierung aus Pigmenten freisetzbarer Bestandteile und Anwendung eines Schwellenwertkonzeptes für lösliche Substanzen**

Über die im Kapitel 2 aufgeführten Anforderungen hinaus, und zusätzlich zu den derzeitigen Höchstkonzentrationen der Beschränkung unter REACH, soll zukünftig die Bestimmung aus Pigmenten freisetzbarer Bestandteile erfolgen. Für lösliche Substanzen kann ein Schwellenwertkonzept in Betracht gezogen werden.

Geeignete *In-vitro*-Versuche, z. B. an Geweben, Homogenaten oder Zellen, können verwendet werden, um aus Pigmenten freisetzbare Bestandteile zu analysieren (DIN EN ISO 10993-16:2018-02). Entstehende Partikel und Metaboliten sollten identifiziert und quantifiziert werden. Ein solcher Ansatz wird auch für Medizinprodukte wie z. B. Implantate verfolgt, da hier ähnliche Fragestellungen existieren. Um das charakteristische Milieu von Haut, Lymphflüssigkeit und Blut zu simulieren, ist die gezielte Anpassung der Analyse der freigesetzten Bestandteile für Tätowierpigmente im Rahmen eines Projektes geplant. Sofern keine toxikologischen Daten vorliegen, soll die Anwendung des „Threshold of Toxicological Concern“ (TTC)-Konzeptes geprüft werden, um die gesundheitsschädliche Wirkung dieser Stoffe abzuschätzen. Die Anwendbarkeit von TTC wurde bereits für kosmetische Mittel vom SCCS

bewertet und wird für Stoffe innerhalb des Anwendungsbereichs für geeignet gehalten<sup>56</sup>. Die bzgl. der freigesetzten Stoffe erhaltenen Daten sollen in *In-silico*-Methoden wie z. B. QSAR- und PBPK-Modelle zur Vorhersage toxikokinetischer Eigenschaften sowie in Gruppierungsansätze einfließen. Für lösliche Stoffe können bestehende toxikologisch abgeleitete No Observed Adverse Effect Levels (NOAELs) aus Studien mit oraler oder intravenöser Applikation extrapoliert werden. Anschließend kann der Sicherheitsabstand, der sogenannte „Margin of Safety“ (MoS), d. h. das Verhältnis zwischen dem NOAEL und der geschätzten Exposition, berechnet werden. Pigmente sollten von der weiteren Verwendung in Tätowiermitteln ausgenommen werden, wenn sie im Rahmen dieser Analyse eine Freisetzung gesundheitsschädlicher Stoffe über relevanten toxikologischen Schwellenwerten zeigen. Eine chemische Identifizierung aus Pigmenten freisetzbarer Substanzen muss *In-vivo*-Versuchen zur Toxikokinetik vorangestellt werden.

### 3.1.2 Toxikokinetik von Tätowierpigmenten

Unter Toxikokinetik subsumiert man Aufnahme, Verteilung, Verstoffwechselung (Metabolisierung) und Ausscheidung eines Stoffes. Während Toxikokinetikstudien nach oraler und dermaler Aufnahme bzw. Inhalation bereits fest etabliert sind, ist die für die Bewertung von Tätowierpigmenten relevante intradermale Applikation bisher weniger gut untersucht. Es fehlen derzeit Informationen zum Verbleib von Pigmenten im Organismus und zu deren Vorkommen in möglichen Zielorganen. Auf der Basis toxikokinetischer Studien wird es möglich, sinnvolle Dosierungen für *In-vivo*-Studien auszuwählen und die in *In-vitro*-Systemen gewonnenen Ergebnisse auf die Ganzkörpersituation zu übertragen sowie *In-silico*-Modelle (z. B. PBPK-Modelle) zu parametrisieren.

Pigmente lagern sich nach der Tätowierung in der Haut ab und können lokale Anhäufungen (Aggregate) bilden. In der Folge wird eine Translokation beobachtet, also das „Auswandern“ der Pigmente aus dem Tattoo. Diese kann sofort nach dem Tätowieren beginnen und über eine längere Zeit danach erfolgen. Nach einer Studie von Engel et al. (2010)<sup>57</sup> wurde eine Verminderung von 32 % eines eingebrachten Pigmentes über eine Zeit von 42 Tagen beobachtet. Diese Vorgänge sind wahrscheinlich stoff- und partikelformspezifisch und könnten zu systemischer Toxizität führen, wenn die Substanzen ins Blut und in Zielorgane gelangen. Dies betrifft insbesondere die Phase unmittelbar nach der Tätowierung, in der eine erheblich höhere Umverteilung zu erwarten ist als nach Heilung des tätowierten Hautareals. Zurzeit sind Daten zur Migration und Metabolisierung nicht in ausreichendem Maße vorhanden. Daher müssen gegenwärtig für eine Expositionsschätzung mehrere Szenarien herangezogen werden.

Eine Voraussetzung für ein validiertes *In-silico*-Modell ist das Vorhandensein von unterstützenden *In-vivo*-Daten. Das Design der toxikokinetischen Untersuchungen kann auf der Basis der OECD-Prüfrichtlinie 417:2010 „Toxicokinetics“ entwickelt werden. Da diese jedoch nicht spezifisch für die Prüfung von Pigmentpartikeln ausgelegt ist, sollten weitere Aspekte berücksichtigt werden, die in verschiedenen Leitfäden beschrieben werden. Es sollten validierte Extraktions- und Analysenmethoden verwendet werden. Für das Design einer toxikokinetischen

<sup>56</sup> [https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs\\_o\\_250.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_250.pdf)

<sup>57</sup> Engel E et al., (2010) Tattooing of skin results in transportation and light-induced decomposition of tattoo pigments—a first quantification in vivo using a mouse model. *Exp Dermatol* 19(1):54–60. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2009.00925.x>

Studie sind Aspekte der ISO/TR 22019:2019 "Nanotechnologies — Considerations for performing toxicokinetic studies with nanomaterials" zu berücksichtigen. Darüber hinaus sind Leitfäden zur Toxikokinetik von Nanomaterialien sowie zu deren Nachweis im Gewebe auf OECD-Ebene in Entwicklung. Diese sind in Zukunft zu berücksichtigen. Zudem wird im Rahmen der Arbeitsgruppe für hergestellte Nanomaterialien (Working Party on Manufactured Nanomaterials, WPMN) eine spezifische Richtlinie für Nanopartikel erarbeitet<sup>58</sup>.

Ergebnisse zur Toxikokinetik könnten dabei helfen, die mit Pigmenten erzielten toxikologischen Befunde zu erklären, z. B. könnte das Auftreten bestimmter toxischer Effekte mit der Bildung eines oder mehrerer Metaboliten oder der Ansammlung bestimmter Pigmente oder deren Abbauprodukten in einem bestimmten Zielorgan in Zusammenhang gebracht werden. Daneben besteht die Möglichkeit, auf Basis toxikokinetischer Informationen zu einem intradermal verabreichten Pigment einen Zusammenhang zu möglicherweise vorhandenen Studien mit anderen Applikationsformen herzustellen.

### 3.1.3 *In-vivo*-Testung ausgewählter Pigmente

In Bezug auf Tierversuche existieren europaweit geltende Rechtsvorschriften. Die Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere setzt hier den rechtlichen Rahmen, der zu beachten ist. Sollten über die im Kapitel 2 dargestellten Daten für Pigmente in Tätowiermitteln hinaus *In-vivo*-Studien für eine belastbare Bewertung als notwendig angesehen werden, ist daher die Bewertung der Europäischen Kommission im Hinblick auf die Frage der (ethischen) Zulässigkeit und Unerlässlichkeit von Tierversuchen für die Sicherheitsbewertung der betreffenden Substanzen entscheidend. Da Tätowiermittel nicht nur in Deutschland eingesetzt werden, sollte eine Abstimmung auf EU-Ebene über den einheitlichen Umgang mit Tierversuchen im Zusammenhang mit Sicherheitsprüfungen von Tätowiermitteln erfolgen.

Aus wissenschaftlicher Sicht können derzeit die meisten chronischen Endpunkte ohne *In-vivo*-Versuche am Tiermodell nicht angemessen bewertet werden. Beispielsweise ist eine Bewertung chronisch-toxischer Wirkungen auf die Organe sowie von Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität nicht möglich. Es wird angemerkt, dass Tests an Wirbeltieren nur durchgeführt werden dürfen, wenn alle anderen Datenquellen „erschöpft“ sind bzw. diese nicht als adäquat für die gesundheitliche Bewertung des Tätowierpigments angesehen werden.

Nach Möglichkeit sollte eine Kombination von *In-vivo*-Tests erfolgen, um die Versuchstierzahl so gering wie möglich zu halten. Erforderliche *In-vivo*-Tests sind in Anlehnung an die jeweiligen OECD-Prüfrichtlinien und nach GLP durchzuführen.

Für *In-vivo*-Studien muss eine geeignete Applikation von Tätowierpigmenten gewählt werden. Diese muss den Tätowiervorgang realistisch darstellen. Derartige Studien müssen andererseits Aspekte wie Anwendbarkeit und Bioverfügbarkeit beachten und eine Minimierung von Tierleid sicherstellen. Da für die meisten Pigmente von einer geringen oralen Bioverfügbarkeit der Partikel ausgegangen werden muss, kann man deren Ergebnisse nur auf die Situation nach einer Tätowierung übertragen, wenn eine systemische Verteilung im Körper durch den Blutkreislauf gezeigt wurde.

---

<sup>58</sup> Projekt 4.146: Development of new Test Guideline on toxicokinetics to accommodate testing of nano-particles (UK/NL)

Die Endpunkte Augenreizung/-schädigung, Hautreizung/-ätzung, Phototoxizität, Hautsensibilisierung, Genotoxizität und Photogenotoxizität können durch geeignete *In-vitro-/In-chemico*-Methoden bewertet werden. Einige andere toxikologische Wirkungen (wie z. B. chronische Toxizität und Kanzerogenität) können jedoch zu diesem Zeitpunkt nicht ausgeschlossen werden, da für die Anwendung zwar OECD-Prüfrichtlinien vorliegen, diese jedoch bisher nicht für die intradermale Applikation etabliert sind. Betrachtet man die subkutane oder intravenöse Verabreichung im Tierversuch als alternative Verabreichungswege, so sind mögliche unerwünschte Wirkungen zu berücksichtigen. Abweichend von löslichen Substanzen können partikuläre Pigmente neben einer möglichen substanzspezifischen Toxizität auch durch Bolusapplikation verursachte Effekte verursachen, die z. B. zu einem Gefäßverschluss führen können.

Nach der grundsätzlichen Klärung über den Umgang mit Tierversuchen im Zusammenhang mit Sicherheitsprüfungen von Tätowiermitteln könnten offene Fragestellungen zu den o. g. möglichen toxikologischen Wirkungen ggf. in einem Tiermodell am Schwein exemplarisch an ausgewählten Pigmenten untersucht werden. Die Studie könnte in Anlehnung an TG 417 erfolgen. Im Rahmen der Studie sollen auch Daten zur Toxikokinetik gewonnen werden (s. 4.2).

Sofern eine *In-vivo*-Testung erforderlich wird und rechtlich zulässig wäre, sollte ein Tiermodell gewählt werden, das eine Beobachtungszeit von mindestens zwei Jahren ermöglicht und dessen Hautbeschaffenheit der des Menschen ähnelt. Die beste Vergleichbarkeit zur späteren Verwendung von Tätowierpigmenten hat die intradermale Applikation. Die bei Nagern vergleichsweise dünne Haut stellt für die intradermale Applikation eine Herausforderung dar, die unter Versuchsbedingungen möglicherweise nicht praktikabel ist. Aus diesem Grund wird eine intradermale Applikation bei Nagern als nicht operabel betrachtet. Intradermale Untersuchungen an Schweinen, deren Haut der Haut des Menschen eher vergleichbar ist als die Nagerhaut, sind vorstellbar und kommen bereits für andere dermal applizierte Produkte zum Einsatz. Das Schwein könnte im Rahmen einer repräsentativen Studie genutzt werden, um Fragen der systemischen Verteilung, der metabolischen Prozesse und der internen Exposition zu adressieren. Eine solche repräsentative Studie sollte die Grundlage für die Entscheidung über die Eignung von Pigmenten für die Tätowierung und über die Notwendigkeit weiterer Studien bieten. Insbesondere Aspekte wie Organakkumulation und Langzeitwirkung können am Schwein realitätsnäher untersucht werden und erlauben eine bessere Extrapolation auf den Menschen. Eine derartige Studie kann die *In-vivo*-Bioverfügbarkeit von Pigmenten und ihren Metaboliten klären. Es kann ferner beurteilt werden, ob sich verschiedene Pigmente hinsichtlich dieser Parameter unterscheiden. Die Pigment- und Metabolitkonzentrationen in inneren Organen wie Leber, Milz, Nieren, Lymphknoten, Herz, Gehirn und Keimdrüsen geben Hinweise zur Verteilung und Akkumulation. Sie können ferner mit denen aus anderen Studien verglichen werden, um so zu einer quantitativen Einschätzung der Pigmentverteilung nach intradermaler Applikation im Verhältnis zu anderen Aufnahmewegen zu kommen.

Neben den überwachten klinischen Parametern stellt die Wiederfindung der Testsubstanz einen wichtigen Bestandteil zur Bestimmung der Pigmentverteilung, deren Anreicherung und Ausscheidung dar. Darüber hinaus könnte der Nachweis der Pigmente und ihrer Abbauprodukte im Gewebe Hinweise zu den Mechanismen der beobachteten Effekte geben. Die für den Versuch ausgewählten Pigmente könnten mit einer geeigneten Markierung für ihren späteren Nachweis und ihre Quantifizierung in den Tierorganen hergestellt werden. Die Eigen-

schaften der verwendeten Pigmente müssen den auf dem Markt befindlichen Pigmenten entsprechen. Die erhaltenen Daten sollen für die Entwicklung eines QSAR-Modells der intradermalen Exposition von Pigmenten verwendet werden.

### 3.2 Exposition

Für die Bestimmung der Exposition als Teil der Risikobewertung werden verschiedene Informationen bezüglich des Produktes (Tätowiermittel), der Applikation durch die tätowierende Person und der Verbraucherinnen und Verbraucher herangezogen. Bezogen auf die im Tätowiermittel enthaltenen Pigmente werden für die Expositionsschätzung (siehe Beschreibung unten) als Minimum die Pigmentkonzentrationen benötigt. Verfeinerte Bewertungen erfordern darüber hinaus Informationen zur Zusammensetzung, inklusive möglicher Verunreinigungen, und zu den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Pigmente, besser jedoch auch zu den entsprechenden Tätowiermitteln. Die dafür notwendigen Erhebungsmethoden wurden oben bereits dargestellt.

*Beschreibung der derzeit vorhandenen Informationen für die Expositionsbewertung mit ihren Unsicherheiten:*

Im Rahmen des Beschränkungsvorschlags der ECHA für Stoffe in Tätowiermitteln und Permanent Make-up<sup>59</sup> wurde unter Mitwirkung des BfR eine Abschätzung der menschlichen Exposition durchgeführt. Grundlage des Expositionsszenarios sind einzelne Tätowiersitzungen, bei denen jeweils eine maximale Hautfläche von 300 cm<sup>2</sup> pro Sitzung und Tag tätowiert wird. Die tätowierte Hautfläche wurde im Rahmen einer Umfrage unter dänischen Tätowiererinnen und Tätowierern ermittelt, die zum Zwecke des Beschränkungsvorhabens durchgeführt wurde. Hierbei wurde im Beschränkungsdossier von einem Abstand zwischen Tätowiersitzungen von etwa vier Wochen ausgegangen. Als Grundlage für die Menge an Tätowiermittel, die pro cm<sup>2</sup> appliziert wird, diente eine Studie von Engel et al.<sup>60</sup>, in welcher die Menge an „Pigment Red 22“ quantifiziert wurde, die sowohl durch professionelle Tätowierende als auch durch Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler in Schweinehaut bzw. menschliche Haut *ex vivo* eingebracht worden ist. Für ein Tätowiermittel mit einem Massenanteil von 25 % Pigment Red 22 lag die Pigmentmenge pro Hautfläche im Bereich von 0,60-9,42 mg/cm<sup>2</sup>. Basierend auf dem 75. Perzentil dieser Werte, entsprechend einer Menge von 3,59 mg Pigment je cm<sup>2</sup> Hautfläche für eine Tinte mit einem Massenanteil von 25 %, wurde im Beschränkungsdossier eine injizierte Gesamtmenge an Tätowiermittel von 14,36 mg/cm<sup>2</sup> für die Expositionsschätzung und die quantitative Risikobewertung verwendet. Diesem Vorschlag ist der Ausschuss für Risikobewertung der ECHA gefolgt.

Neuere Studien, die sich mit der Pigmentmenge pro tätowierter Hautfläche befassen, gibt es seit dem Jahr 2016 nur wenige. In den meisten Publikationen nach dem Jahr 2016 wird die o. g. Studie von Engel et al. aus dem Jahr 2008 zitiert und der darin beschriebene Mittelwert von 2,53 mg/cm<sup>2</sup> für die Pigmentmenge pro Hautfläche genannt oder für weitere Betrachtungen verwendet<sup>61</sup>. Dieser Mittelwert ergibt sich aus allen Versuchen in der genannten Studie

<sup>59</sup> ECHA (2017) ANNEX XV Restriktion Report, Proposal for a Restriction: Substances in tattoo inks and permanent make up <https://echa.europa.eu/documents/10162/6f739150-39db-7e2c-d07d-caf8fb81d153>

<sup>60</sup> Engel E et al., (2008). "Modern tattoos cause high concentrations of hazardous pigments in skin." *Contact Dermatitis* 58(4): 228-233.

<sup>61</sup> Bäumler, W. (2016). "The possible health consequences of tattoos." *Deutsches Ärzteblatt International* 113(40): 663-665,

Laux, P. et al., (2016). "A medical-toxicological view of tattooing." *The Lancet* 387(10016): 395-402,

(mit 10 bzw. 25 % Pigment) und wurde für das o. g. Beschränkungsossier zugunsten des konservativeren Wertes von 3,59 mg/cm<sup>2</sup> nicht herangezogen, bewegt sich jedoch im vergleichbaren Bereich.

Arbache et al. 2019 untersuchten, welche Menge an Arzneimittel mittels einer Tätowiermaschine in menschliche Haut *ex vivo* verabreicht werden kann. Dazu wurden u. a. 10 Hautbiopsien von Bauchdeckenstraffungs-Operationen mit schwarzer Tätowiertinte der Marke „Electric Ink“ (Dichte = 1,272 g/ml) tätowiert und anschließend die in der Haut verbliebene Tintenmenge quantifiziert<sup>62</sup>. Die Tintenmenge lag im Bereich von 0,291-2,371 mg/cm<sup>2</sup> (Standardabweichung = 0,601 mg/cm<sup>2</sup>), der Mittelwert entsprach 1,175 mg Tinte/cm<sup>2</sup> Hautfläche. Der Pigmentanteil der Tinte wurde in der Studie nicht angegeben. Geht man aber von einer typischen Pigmentkonzentration zwischen 20 % und 45 %<sup>63</sup> aus, so ergibt sich bezogen auf den Mittelwert von 1,175 mg Tinte/cm<sup>2</sup> Hautfläche ein Bereich von 0,235-0,529 mg Pigment/cm<sup>2</sup> Hautfläche und für eine Tinte mit 25% Pigmentanteil ein Wert von 0,294 mg/cm<sup>2</sup>.

Butterfield et al. untersuchten die Funktionalität von intradermal applizierten UV-Nanosensoren in Form von Tattoos sowohl in Schweinehaut *ex vivo* als auch *in vivo* in menschlicher Haut. Dazu wurde u. a. eine 10%ige photochrome Tätowiertinte mit nanoverkapselten UV-Sensoren hergestellt und als „solare Sommersprosse“ tätowiert<sup>64</sup>. Basierend auf Cu et al.<sup>65</sup> wird angenommen, dass während des Tätowierens 3 % der von der Tätowiermaschine aufgenommenen Menge an Tinte<sup>66</sup> injiziert wird. Somit ergibt sich eine maximale Menge von 3 mg Tinte oder 0,3 mg Nanokapseln, in einer „solaren Sommersprosse“ mit einem Radius von 1 mm bzw. 3,14 mm<sup>2</sup> Hautfläche. Dies entspricht einer Tintenmenge von 95,54 mg/cm<sup>2</sup> bzw. einer Nanokapselmenge von 9,554 mg/cm<sup>2</sup> für eine Tinte mit einem Massenanteil von 10 % nanoverkapselten UV-Sensoren. Alternativ wird von Butterfield et al. auch die von Engel et al. 2008 quantifizierte mittlere Pigmentmenge von ca. 2,5 mg/cm<sup>2</sup> in geheilter tätowierter Haut zur Berechnung der finalen Masse an photochromen Nanokapseln pro „solare Sommersprosse“ (0,079 mg/cm<sup>2</sup>) herangezogen. Beide Angaben zur finalen Nanokapselmenge können im übertragenen Sinne der finalen Pigmentmenge in der Haut gleichgesetzt werden.

---

Schreiver, I. and A. Luch (2016). "At the dark end of the rainbow: data gaps in tattoo toxicology." *Arch Toxicol* 90(7): 1763-1765,

Sepehri, M. et al., (2017). "Tattoo Pigments Are Observed in the Kupffer Cells of the Liver Indicating Blood-Borne Distribution of Tattoo Ink." *Dermatology* 233(1): 86-93,

Bocca, B. et al., (2018). "Hexavalent chromium in tattoo inks: Dermal exposure and systemic risk." *Contact Dermatitis* 79(4): 218-225,

Belikov, A. V. et al., (2019). "Experimental modelling of the physical process of laser tattoo removal." *Quantum Electronics* 49(1): 52-58,

Bäumler, W. (2020). "Chemical hazard of tattoo colorants." *Presse Medicale* 49(4),

Giulbudagian, M. et al., (2020). "Safety of tattoos and permanent make-up: a regulatory view." *Archives of Toxicology* 94(2): 357-369,

Hering, H. et al., "TatS: a novel in vitro tattooed human skin model for improved pigment toxicology research." (7): 2423-2434.

<sup>62</sup> Arbache, S. et al., (2019). "How much medication is delivered in a novel drug delivery technique that uses a tattoo machine?" *International Journal of Dermatology* 58(6): 750-755.

<sup>63</sup>JRC, 2015. Safety of tattoos and permanent make-up – State of play and trends in tattoo practices, Report on Work Package 2, s.l.: European Commission Joint Research Centre.

<sup>64</sup> Butterfield, J. L. et al., (2020). "Solar freckles: Long-term photochromic tattoos for intradermal ultraviolet radiometry." *ACS Nano* 14(10): 13619-13628.

<sup>65</sup> Cu, K. et al., (2020). "Delivery Strategies for Skin: Comparison of Nanoliter Jets, Needles and Topical Solutions." *Ann Biomed Eng* 48(7): 2028-2039.

<sup>66</sup> Durchschnittliche Tätowiermittelmenge in einer 12-Gauge-7RS-Tätowiernadel nach 1 s Eintauchen: 98 ± 16 mg über 5 Versuche (Butterfield et al., 2020)

Die genannten Informationen zeigen, dass bezüglich der eingebrachten Tätowiermittelmengen immer noch große Unsicherheiten bestehen und die Datenlage als unzureichend anzusehen ist. Die Expositionsschätzung aus dem REACH-Beschränkungsossier ist konservativ; sie schätzt eine hohe Menge von 1.077 mg Pigment, bezogen auf eine Hautfläche von 300 cm<sup>2</sup> bzw. 3,59 mg Pigment pro cm<sup>2</sup> Haut. Darüber hinaus sind für die Bewertung auch die unter Kapitel 2.1 angegebenen Daten zu den Pigmenten im vermarkteten Endprodukt nötig. Derzeit wird vom BfR eine Kurzzeitbioverfügbarkeitsstudie angestrebt, die neben der systemischen Verfügbarkeit löslicher Inhaltsstoffe auch die in einer Sitzung tätowierte Fläche und die eingebrachte Farbe pro cm<sup>2</sup> quantitativ in einer Humanstudie bestimmen soll. Erste Ergebnisse dieser Studie werden für das Frühjahr 2022 erwartet. Mit diesen Angaben könnte die Exposition in Zukunft auf eine genauere Datengrundlage gestellt werden.