

## Kontaktallergie – neue Konzepte zur Gefahren- und Risikobewertung

Bericht vom *Advanced Course* des Arbeitskreises Regulatorische Toxikologie am 12. März 2007 in Mainz

Walter Aulmann, Düsseldorf

Auf der Frühjahrstagung 2007 in Mainz veranstaltete der Arbeitskreis Regulatorische Toxikologie wiederum einen *Advanced Course*, in dem dieses Mal neue Konzepte zur Gefahren- und Risikobewertung für Hautsensibilisatoren vorgestellt wurden. Das Thema der Veranstaltung passte perfekt ins politische Umfeld, da am 13. März das Bundesverbraucherministerium seinen „Aktionsplan gegen Allergien“ startete, der nicht zuletzt auch auf die Unterstützung durch Wirtschaft und Wissenschaft setzt.

Eine Vielzahl an epidemiologischen Erhebungen deutet darauf hin, dass allergische Erkrankungen in den entwickelten Ländern zunehmen. Wissenschaftlich nimmt die Allergie ebenso wie die Mutagenität und Kanzerogenität eine Sonderrolle ein, weil für diese Endpunkte die derzeit bestehenden Konzepte nicht auf Dosis-Wirkungs-betrachtungen abzielen: Eine Wirkschwelle, unterhalb derer keine adversen Wirkungen zu erwarten sind, wird in der Wissenschafts- und regulatorischen Gemeinde (noch) nicht allgemein akzeptiert.

Axel Schnuch, der Leiter des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) gab einen Überblick über die Häufigkeit von Kontaktallergien in der Bevölkerung. Der IVDK in Göttingen erfasst Daten zur allergischen Kontaktdermatitis aus 47 klinischen Allergieabteilungen in Deutschland, Österreich und der Schweiz. Die Prävalenz und die Inzidenz der Kontaktallergie in der Bevölkerung wurden mit 16 % bestimmt. Die Inzidenz lag bei 3 pro 1000 pro Jahr<sup>[1]</sup>.

Aufgrund der beim IVDK gesammelten Daten sind als häufigste Allergene in der Bevölkerung Nickel, Duftstoff-Mix, Perubalsam und Chrom-Verbindungen anzusehen.

### Rangliste der häufigsten Kontaktallergene (in der klinischen Population der epikutan Getesteten)

Im methodologischen Teil seines Referates ging Schnuch auf die Unterschiede zwischen der analytischen und der klinischen Epidemiologie ein. Sie unterscheiden sich grundsätzlich in ihren Aufgabenstellungen und Methoden. Während erstere ein geeignetes Instrument zur Identifikation von Risikofaktoren

Nickelsulfat	17,7 %
Kobalt	7,6 %
Perubalsam	7,1 %
Duftstoff-Mix	6,6 %
K-Di-Chromat	6,2 %
Terpentinöl	2,4 %

(IVDK, 2006)

ist, liegt der Hauptfokus der klinischen Epidemiologie in der Überwachung mit dem Ziel der Prävention. Damit können Trends erkannt werden, aber auch vermutete Probleme relativiert werden. Aus den durch die Arbeit des IVDK gewonnenen Er-

kenntnissen können gezielte Präventionsstrategien abgeleitet und ein Beitrag zum allgemeinen Gesundheitsschutz geleistet werden. Der Erfolg einer Intervention kann auch epidemiologisch nachverfolgt werden. So belegen die Daten des IVDK zum Trend der Nickelallergie, dass bei jüngeren Frauen eine deutliche Verringerung der Sensibilisierungsraten stattgefunden hat, nachdem die EU eine Reduzierung der Nickelkonzentration in Modeschmuck gesetzlich geregelt hatte.

Einen Beitrag zum allgemeinen Gesundheitsschutz liefern auch Tests zur Identifizierung eines sensibilisierenden Potenzials von chemischen Stoffen. Ausgehend von dem seit Ende der 1960er-Jahre gebräuchlichen Maximierungstest nach Magnusson und Kligman über den Bühler-Test gab Hans-Werner Vohr einen Überblick über das Repertoire der präklinischen Methoden, die von der OECD als Entscheidungstests akzeptiert sind. Der neueste Test in dieser Reihe ist der Lokale Lymphknotentest (LLNA), der 2002 von der OECD anerkannt wurde und erstmals mit der T-Zell-Proliferation einen quantitativ zugänglichen Endpunkt ermittelt. Damit ergeben sich Optionen für eine Differenzierung von Hautsensibilisatoren nach ihrer Wirkstärke.

Hans-Werner Vohr ging darüber hinaus kurz auf die Möglichkeit ein, ein präklinisch ermitteltes negatives Ergebnis durch Prüfung am Menschen zu bestätigen. Hierzu wurden der *Human Repeated Insult Patch Test* (HRIPT) und der Humane Maximierungstest (HMT) entwickelt. Als Induktionstests ist ihr Einsatz ethisch allerdings fragwürdig und nur gerechtfertigt, wenn durch geeignete toxikologische Prüfdaten ein fehlendes Sensibilisierungspotenzial der Testsubstanz bereits ermittelt wurde, das durch die Humantests bestätigt werden soll.

Im LLNA stellt die Irritation einen möglichen Störfaktor dar. Bei reizenden Substanzen erhält man häufig falsch positive Resultate. Nach einer von Vohr entwickelten methodischen Modifikation, dem LLNA/IMDS, ist eine Differenzierung von irritativ oder allergisch bedingten Proliferationen möglich. Diese methodische Variante ist international validiert, bedarf allerdings noch der behördlichen Anerkennung<sup>[2, 3]</sup>.

Bisher liegen zum LLNA noch nicht genügend Erfahrungen vor, um ein abschließendes Urteil über seine generelle Einsatzmöglichkeit zu fällen. Insbesondere wurde wiederholt darauf hingewiesen, dass der Test möglicherweise für bestimmte Stoffgruppen nicht geeignet sein könnte. Die Limitierungen für manche Substanzklassen werden auch in der Prüfrichtlinie (OECD 429) zum LLNA angesprochen.

Eine Lösung dieses Problems ist von enormer politischer Bedeutung, da der LLNA zunehmend von Regulatoren favorisiert wird. Für die Präferenz sind im Wesentlichen Tierschutzaspekte maßgeblich. Die Diskussionen im Zusammenhang mit REACH gehen so weit, dass der LLNA als einzig akzeptabler Test ins Spiel gebracht wurde.

Deshalb wurde vom Europäischen Verband für kosmetische Ingredienzien (EFfCI) 2006 ein Projekt initiiert. Aus der Literatur gab es Anhaltspunkte, dass Stoffe mit einer oder mehreren Doppelbindungen sensibilisierend im LLNA, nicht aber in anderen Testsystemen waren. Im EFfCI-Projekt wurde insbesondere der Einfluss von Doppelbindungen im Testmolekül auf das Ergebnis im LLNA und im Maximierungstest vergleichend untersucht. Marcus Kleber stellte die in den Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse vor.

Getestet wurden sechs aliphatische Carbonsäuren mit bis zu drei Doppelbindungen sowie jeweils ein aliphatischer sekundärer Alkohol mit einer Dreifachbindung und ein weiterer Vertreter der ungesättigten Aliphaten. Darüber hinaus wurde eine *gesättigte* aliphatische Carbonsäure untersucht.

Kleber zeigte, dass in fünf Fällen Abweichungen bzgl. der aus dem Test resultierenden Kennzeichnung erhalten wurden: Im LLNA wurde ein positiver Befund erhoben, wohingegen der Maximierungstest negativ ausfiel<sup>[4]</sup>. Das Bild aus dem Maximierungstest deckt sich mit jahrzehntelanger Erfahrung, wonach beim Einsatz dieser Substanzen kein Sensibilisierungspotenzial besteht. Demzufolge hält die EFfCI-Projektgruppe die Beibehaltung auch der bestehenden Testmethoden nach OECD 406 für weiterhin erforderlich, weil der LLNA nicht für alle Stoffklassen geeignet ist. Aus Sicht der EFfCI sollte die bisherige Flexibilität in der Auswahl der Prüfmethode in den zukünftigen Technischen Regeln für REACH gewahrt bleiben.

### Vergleichende Untersuchung an aliphatischen Stoffen im LLNA und GPMT

Test Substanz / Anzahl	LLNA	GPMT
<b>Doppelbindungen</b>		
A / 1	Positiv	negativ
B / 2	Positiv	Ergebnis nicht eindeutig
C / 3	positiv	Negativ
D / 1	positiv	positiv
E / 1	negativ	negativ
F / 1	positiv	negativ
G / 0	negativ	negativ
H / 6	positiv	negativ
<b>I / Dreifachbindung</b>	positiv	negativ

(Kreiling *et al.*, in Vorbereitung)

Die Ausgestaltung dieser Regeln wird derzeit im REACH-Implementationsprojekt RIP3.2.2 behandelt.

Mit dem LLNA steht nunmehr ein validiertes Testsystem zur Verfügung, das keine subjektiven Parameter wie Oedem und Erythem erhebt, sondern über die radioaktiv ermittelte Proliferationsrate auch eine quantitativ abgestufte Aussage erlauben sollte. Die derzeit diskutierten Ansätze zur Berücksichtigung der Wirkpotenz von Kontaktallergenen für das *Hazard Assessment* bei der Einstufung von Chemikalien wurden von Thomas Gebel vorgestellt.

Nach der Anerkennung des Lokalen Lymphknotentests haben sich eine Reihe von Arbeitsgruppen mit dieser Thematik beschäftigt. Im Rahmen eines von der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA) geförderten Projektes wurden quantitative Aussagen des LLNA und Untersuchungen am Menschen miteinander in Beziehung gesetzt. Ausgehend von der Analyse der Daten zu 46 Stoffen unterscheidet das BauA-Konzept vier Klassen, abgestuft von „schwach“ bis „sehr stark“<sup>[5]</sup>. Dieses Ergebnis geht weitgehend konform mit den Vorschlägen, die von einer ECETOC Arbeitsgruppe gemacht wurden<sup>[6, 7]</sup>. Die Thematik wurde darüber

hinaus auf einem Experten-Workshop der EU im Jahre 2002 eingehend beraten. Dort einigte man sich auf ein weniger differenziertes System mit drei Gruppen. Der Unterschied ist bei genauerer Betrachtung jedoch nicht groß. Die Abschneidegrenzen sind identisch, man hat lediglich auf die Kategorie „schwache“ Hautsensibilisatoren verzichtet.

### Relative Wirkstärke hautsensibilisierender Chemikalien

Empfehlungen im Vergleich auf der Basis des LLNA

EC3 im LLNA (%)	SEG 2003	F1887 FoBiG	ECETOC 2003
<b>1: sehr stark (extreme)</b>	$\leq 0,2$	$\leq 0,2$	$< 0,1$
<b>2: stark (strong)</b>	$> 0,2 - \leq 2$	$> 0,2 - \leq 2$	$\geq 0,1 - < 1$
<b>3: mäßig (moderate)</b>	$> 2$	$> 2 - \leq 20$	$\geq 1 - < 10$
<b>4: schwach (weak)</b>	–	$> 20$	$\geq 10 - \leq 100$

Abkürzungen:

SEG: *Sensitization Expert Group* beim Europäischen Chemikalienbüro (ECB), Ispra  
 ECETOC: *European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals*, Brüssel  
 FoBiG: Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe (FoBiG) GmbH, Freiburg

Die regulatorische Umsetzung soll in der EU mit der Einführung des global harmonisierten System (GHS) erfolgen. Es ist nicht geplant, sie in die bald auslaufende Zubereitungsrichtlinie einfließen zu lassen. Die internationale Diskussion verläuft allerdings sehr kontrovers. Dabei wirkt sich erschwerend aus, dass von US-amerikanischer Seite angeführt wird, dass der LLNA nicht validiert ist, um die Wirkstärke eines Allergens abzubilden. Eine solche Validierung durch das ICCVAM (*Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods*) wurde in den USA im Januar 2007 initiiert<sup>[8]</sup>. Außerdem wird kritisiert, dass nach den Kriterien des GHS unzureichend diskriminiert wird zwischen der Induktion und der Auslösung einer Allergie.

Thomas Gebel informierte über den Stand der Beratungen, wie er sich nach dem letzten Workshop in Washington im Februar 2007 darstellt. Im zuständigen, den Vereinten Nationen zuarbeitenden OECD-Gremium ist aktuell nur ein zweistufiges System konsensfähig. Eine weitere Differenzierung könnte nach Abschluss der angestoßenen Validierung des LLNA zur Ableitung der Wirkstärke der Induktion der Hautsensibilisierung diskutiert werden.

Ebenfalls wird bei der OECD noch kontrovers diskutiert, ab welchem Konzentrationsgehalt „Zubereitungen“ (zukünftig: „Mischungen“ oder „Gemische“) eingestuft werden müssen. Derzeit sind Grenzwerte von 0,1 % für starke und 1 % für schwache Sensibilisatoren vorgesehen: Wenn eine Substanz „stark hautsensibilisierend“ ist, so

würde diese Einstufung demnach schon bei 0,1 % Massengehalt in der Zubereitung durchschlagen, für schwache Sensibilisatoren hingegen erst bei 1 %. Unbeschadet dessen könnten wie bisher auch spezielle stoffspezifische Grenzwerte festgelegt werden, die von diesen Grenzen abweichen.

Die Auslösung ist in der Regel auf sehr viel niedrigerem Niveau angesiedelt als die Induktion. Die Zubereitungsrichtlinie sieht vor, dass eine Einstufung als „hautsensibilisierend“ ab 1 % erfolgt. Bereits ab Massengehalten von 0,1 % in der Zubereitung wird die Zubereitung mit dem Hinweis "Enthält 'Name des sensibilisierenden Stoffes'. Kann allergische Reaktionen hervorrufen" versehen. Mithilfe dieser Information können überempfindliche Personen eine Vermeidungsstrategie verfolgen. Es ist allerdings darauf hinzuweisen, dass der Hinweis terminologisch nicht klar auf die Auslösung hinweist. Weiter deuten die vorliegenden, wenn auch begrenzten Daten darauf hin, dass ein Wert von 0,1 % nicht vor Auslösung schützt. Mittelfristig wären analoge Bestimmungen im Rahmen des GHS umzusetzen in Form einer stringenteren Kennzeichnung zur Prävention der Auslösung.

Die Diskussion auf internationaler und EU-Ebene verläuft sehr dynamisch. Im REACH Implementierungsprojekt RIP 3.6 sollen Leitfäden zur Einstufung und Kennzeichnung aufgestellt werden. Es bleibt also abzuwarten, welche Abstufungen für Einzelstoffe und welche Grenzkonzentrationen für Zubereitungen am Ende festgelegt werden.

Aus den Ausführungen von Thomas Gebel lassen sich Handlungsoptionen für die Bewertung des Gefahrenpotenzials (*Hazard Assessment*) ableiten. Ausgehend vom *Hazard Assessment* brachte Peter Griem die erhaltenen Effektkonzentrationen mit der Humanexposition in Verbindung<sup>[9]</sup>. Er stellte mit dem „NESIL-Konzept“ ein Verfahren zur quantitativen Risikobewertung von hautsensibilisierenden Stoffen vor, das für hautsensibilisierende Parfüminhaltsstoffe in Kosmetika entwickelt wurde<sup>[10]</sup>. NESIL steht für „*No expected sensitization induction level*“ und macht klar, dass es sich hierbei um eine Risikobewertung für die Induktion einer Sensibilisierung handelt und nicht um eine Risikobewertung für die Auslösung einer allergischen Reaktion bei bereits bestehender Sensibilisierung.

In Analogie zur klassischen Risikobewertung für systemische Wirkungen wird zunächst ein *No-observed effect level* als Ausgangspunkt (*Point of Departure* – POD) ermittelt. Idealerweise wird dieser aus einem HRIPT erhalten (*Human Repeat Insult Patch Test*, Sensibilisierungstest am Menschen, der heutzutage nur noch zur Bestätigung einer vermutlich (z. B. aus LLNA-Daten) nicht-sensibilisierenden Dosis benutzt werden sollte). Ersatzweise kann auch der EC3 (interpolierte Effektive Konzentration, die eine, im Vergleich zur Lösungsmittelkontrolle, dreifach höhere Zellproliferation im aurikulären Lymphknoten verursacht) aus dem LLNA als POD verwendet werden. Nach dem „*Weight of evidence*“-Prinzip werden alle vorhandenen Informationen in die Betrachtung einbezogen. Es können auch Daten aus dem Bühler- und dem Magnusson-Kligman-Test unterstützend verwendet werden. Daten zur Allergieauslösung werden für die Risikobewertung nicht berücksichtigt.

Der POD wird als Flächendosis angegeben [ $\mu\text{g}$  Substanz/cm<sup>2</sup> Hautfläche/Tag]. Er ist mit einem Sensibilisierungs-Assessment-Faktor (SAF) zu beaufschlagen, der die interindividuelle Variabilität, den Produktmatrixfaktor (z. B. Zusammensetzung des Sensibilisator enthaltenden Produkttyps im Vergleich zum Lösungsmittel im Sensibilisierungstest) und den Gebrauchsfaktor (z. B. Permeabilität und Empfind-

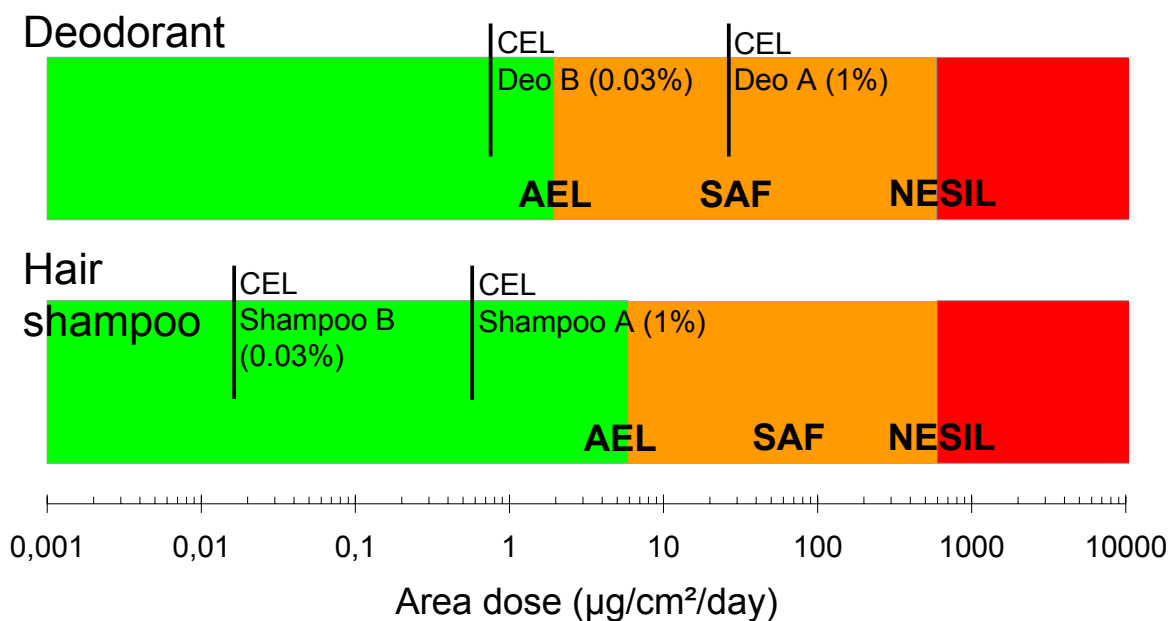
lichkeit des Hautareals, auf dem der Produkttyp angewendet wird, reduzierte Hautbarrierewirkung nach Rasur) berücksichtigt. Die Anwendung eines Assessment-Faktors entspricht dem Prozedere der klassischen Risikobewertung. In speziellen Fällen müssen auch Interspezies-Unterschiede im Hautmetabolismus in Betracht gezogen werden. Auf die großen interindividuellen Unterschiede hatte bereits Axel Schnuch in seinem Referat ausführlich hingewiesen.

Die verschiedenen Extrapolationsschritte erlauben schließlich, für jeden Produkttyp den „Akzeptablen Expositionslevel (AEL)“ zu berechnen:

$$\text{AEL} = \text{NESIL} / \text{SAF}$$

Die tatsächliche Exposition aufgrund der Verwendung eines kosmetischen Produktes (*Consumer Exposure Level – CEL*) kann dann direkt mit dem AEL verglichen werden, um die Exposition bzw. das Produkt zu bewerten, wobei das Sensibilisierungsrisiko als vernachlässigbar angesehen wird, wenn die Bedingung  $\text{CEL} \leq \text{AEL}$  eingehalten wird (siehe **Abb.** für je zwei Deodorant- und Haarshampoo-Formulierungen, die 0.03 % oder 1 % eines Sensibilisators enthalten).

### Risikobewertung nach dem NESIL-Konzept



Das NESIL Konzept konnte seine Praxistauglichkeit für die Risikobewertung von Riechstoffen im Kosmetikbereich bereits zeigen. Dabei kommt der Vorteil zum Tragen, dass Expositionsdaten für praktisch alle Typen kosmetischer Produkte sehr gut abgreifbar sind. Problematisch ist, dass der POD von Humandaten abgeleitet wird. Tests am Menschen werden in der EU kritisch gesehen. Ob das NESIL-Konzept generell geeignet ist, sichere Einsatzkonzentrationen auch für andere Gruppen von Hautsensibilisatoren, wie z. B. einige Konservierungsstoffe und Industriechemikalien, und andere Expositionsumstände, z. B. aus Textilien oder am Arbeitsplatz, festzulegen, bleibt abzuwarten. Es müssen noch weitere Erfahrungen gesammelt werden.

Die große interindividuelle Variabilität, fehlende Standards zur Speziesextrapolation und die Mehrphasigkeit (Induktion vs. Auslösung) tragen zum hohen Komplexitätsgrad des Sensibilisierungsgeschehens bei. Deshalb fand eine Risikobewertung im klassischen Sinne von Paracelsus in der Vergangenheit nicht statt. Stattdessen blieb die Risikobewertung bislang auf der Stufe der Gefahrenidentifikation stehen und eine Konzentrations-(Dosis)-Wirkungsbetrachtung unterblieb.

In der sehr engagiert geführten Abschlussdiskussion wurde so auch wieder angezweifelt, ob quantitative Betrachtungen, wie sie für das *Hazard* und das *Risk Assessment* für die Hautsensibilisierung nunmehr vorliegen, überhaupt statthaft seien und die traditionelle Sonderstellung der Kontaktsensibilisierung in der Toxikologie, die in der Vergangenheit damit begründet wurde, dass die Hautsensibilisierung nicht den klassischen Dosis-Wirkungszusammenhängen folge, aufgegeben werden könne.

Die Frage konnte und wollte der AK RegTox nicht abschließend beantworten. Vielmehr muss abgewartet werden, welche Erfahrungen mit den neuen Konzepten zur Gefahren- und Risikobewertung von Hautsensibilisatoren in der Zukunft gesammelt werden.

## Literatur

- [1] **Schnuch, A., Uter, W., Geier, J., Gefeller, O.** (2002): Epidemiology of contact allergy: An estimation of morbidity employing the clinical epidemiology and drug-utilization research (CE-DUR) approach. *Contact Dermatitis* 47: 32–39.
- [2] **Vohr, H. W., Blümel, J., Blotz, A., Homey, B., Ahr, H. J.** (2000): An intra-laboratory validation of the Integrated Model for the Differentiation of Skin Reactions (IMDS): Discrimination between (photo)allergic and (photo)irritant skin reactions in mice. *Arch. Toxicol.* 73, 501–509.
- [3] **Vohr, H. W., Ahr, H. J.** (2005): The local lymph node assay being too sensitive? *Arch. Toxicol.* 79, 721–728.
- [4] **Kreiling, R. et al.** (in Vorbereitung)
- [5] **Schneider, K., Akkan, Z.** (2004): Quantitative relationship between the local lymph node assay and human skin sensitization assays. *Regul Toxicol Pharmacol.* 39(3): 245–255.
- [6] **Basketter D. A., Andersen K. E., Liden C., Van Loveren, H., Boman, A., Kimber, I., Alanko, K., Berggren, E.** (2005): Evaluation of the skin sensitizing potency of chemicals by using the existing methods and considerations of relevance for elicitation. *Contact Dermatitis* 52(1): 39–43.
- [7] **Kimber, I., Basketter, D. A., Butler, M., Gamer, A., Garrigue, J. L., Gerberick, G. F., Newsome, C., Steiling, W., Vohr, H. W.** (2003): Classification of contact allergens according to potency: proposals. *Food Chem Toxicol.* 41(12): 1799–1809.
- [8] **National Toxicology Program (NTP) Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods** (2007); the Murine Local Lymph Node Assay: Request for Comments, Nominations of Scientific Experts, and Submission of Data. Federal Register Notice: [http://ntp.niehs.nih.gov/files/72FR95\\_27815.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/files/72FR95_27815.pdf)
- [9] **Griem, P., Goebel, C., Scheffler, H.** (2003): Proposal for a risk assessment methodology for skin sensitization potency data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 38, 269–290.
- [10] **Api, A. M., Basketter, D. A., Cadby, P. A., Cano, M.-F., Ellis, G., Gerberick, G. F., Griem, P., McNamee, P. M., Ryan, C. A., Safford, B.** (2006): Dermal Sensitization Quantitative Risk Assessment (QRA) For Fragrance Ingredient. Technical Dossier, dated 26.05.2006; available on the internet at [www.rifm.org](http://www.rifm.org).

## **Referenten**

Dr. Walter Aulmann, Henkel KGaA, Düsseldorf (Einführung, Moderation)

Prof. Thomas Gebel, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Dortmund

Dr. Peter Griem, Clariant GmbH, Sulzbach

Dr. Marcus Kleber, Cognis Deutschland GmbH, Düsseldorf

Prof. Axel Schnuch, Informationsverbund Dermatologischer Kliniken, Göttingen

Prof. Hans-Werner Vohr, Bayer HealthCare, Wuppertal