

# RANKING VON STOFFEN IN EPOXIDHARZSYSTEMEN AUFGRUND IHRER SENSIBILISIERENDEN WIRKSTÄRKEN (FP-0324)

erstellt im Auftrag von:

**Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV)**

Alte Heerstraße 111 • 53757 Sankt Augustin



Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH

Klarastraße 63 • 79106 Freiburg



Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK)

Institut an der Universität Göttingen

von-Siebold-Str. 3 • 37075 Göttingen

Bearbeitung:

Dr. Karin Heine, Dr. Fritz Kalberlah, Dr. Martin Hassauer (FoBiG)

Prof. Dr. Johannes Geier, Dr. Holger Lessmann (IVDK)

**Freiburg, Dezember 2012**

# 1 Inhaltsverzeichnis Gesamtbericht

Teilprojekt 5.1 Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung	A 1 – A 87
Teilprojekt 5.1a Beschreibung der im Projekt durchgeführten <i>in vitro</i> Testung	B 1 – B 10
Teilprojekt 5.2 Datenanalyse zur sensibilisierenden Wirkstärke von Einzelstoffen aus Epoxidharzsystemen	C 1 – C 99
Teilprojekt 5.4.3 Literaturstudie über allergologische Humanbefunde zu Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen	D 1 – D 158
Teilprojekt 5.4.2 Prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten im IVDK	E 1 – E 31
Teilprojekt 5.4.1 Expertise zu Bestandteilen von Epoxidharzsystemen auf der Basis einer vertieften Datenanalyse (IVDK-Daten)	F 1 – F 157
Teilprojekt 5.3 Bewertung	G 1 – G 104
Teilprojekt: Umsetzung in Bewertungsstrategie am Arbeitsplatz (Angebot Abschnitte 5.5-5.10)	H 1 – H 23
Anhang 1	X I 1 – X I 22
Anhang 2	X II 1 – X II 19
Anhang 3	X III 1 – X III 16

## 2 Summary

For potency classification of substances contained in epoxy resin systems we used existing results from *in vivo*-experiments (Guinea pig maximisation test (GPMT), Buehler-test, Local Lymph node assay (LLNA), Mouse ear swelling test (MEST), Human Repeat Insult Patch Test (HRIPT), Human maximization test (HMT)) as well as results from *in vitro*-testing (to cover all stages of the sensitization process, i.e. bioavailability, skin penetration, haptensisation, reaction by keratinocytes (specifically: KeratinoSens™), maturation (specifically: h-CLAT) and migration of dendritic cells, T-cell activation and proliferation of allergen specific T-cells) and including results from *in silico*-analysis. The suitability of tests was confirmed and conditions of the test results were considered. Data of human experience (from literature research and from an extended data base by the dermatological association IVDK) were also analysed and used for assessment. The practical relevance of substances was included by evaluation of safety data sheets and by reference to a questionnaire to the members of a steering committee assigned to this project. For the data gaps detected a targeted test program was proposed and performed in parts for a subset of reactive diluents (*in vitro*-tests: h-CLAT and KeratinoSens™) in order to check the suitability of the testing proposal. From the testing a few first substances with formerly unknown properties could be assigned to potency classes. For the remaining substances with currently no adequate data a specific testing program was proposed but not yet performed.

From initially 51 substances contained in epoxy resin systems there finally resulted 46 classifications. More than half of the substances were assigned to a default category because of the lack of appropriate data (category "U", 21 substances, or 45.7 percent, respectively). For the time being they should be regarded as if they were of high potency (category: "HS"). 16 substances were directly assigned to this category ("HS"). Further 9 substances were allocated to the group of substances with low or moderate sensitizing potency (category: "GMS"), corresponding to 34.8 ("HS") and 19.6 percent ("GMS"), respectively.

The following substances were associated with a high sensitizing potency ("HS"):

- Epoxy resins: Bisphenol A-resin (CAS-Nr.: 25068-38-6 & 25085-99-8), Bisphenol-A-Epichlorohydrin MW 340 (1675-54-3), Bisphenol F-resin (9003-36-5 & 28064-14-4),
- Hardeners: Ethylenediamine (107-15-3), Diethylenetriamine (111-40-0), Trimethylhexamethylenediamine (25620-58-0), Triethylenetetramine (112-24-3), Isophorone diamine (2855-13-2), m-Xylidenediamine (1477-55-0), Phthalic anhydride (85-44-9), Tetrahydrophthalic anhydride (85-43-8), Hexahydrophthalic anhydride (85-42-7),
- Reactive diluents: 1,4-Butanediol diglycidyl ether (2425-79-8), 1,6-Hexandiol diglycidyl ether (16096-31-4), Phenyl glycidyl ether (122-60-1), Cresyl glycidyl ether (26447-14-3 & 2210-79-9).

For these substances substitutes should be considered if possible (substances with lower sensitizing potency or non-sensitising chemicals). It is, however, acknowledged that some of the substances may not be substituted because of technical reasons. The results of this project provide a qualified platform to characterize the sensitising properties of many substances contained in epoxy resin systems. Furthermore, the project provides a suitable input to perform rankings for the sensitising potency of these substances.

### 3 Zusammenfassung

Zur Kennzeichnung der Wirkstärke von Epoxidharzinhaltsstoffen wurden sowohl Ergebnisse aus *in vivo*-Tests (Guinea pig maximization test (GPMT), Buehler-Test, Local Lymph node assay (LLNA), Mouse ear swelling test (MEST), Human Repeat Insult Patch Test (HRIPT), Human maximization test (HMT)), wie Ergebnisse aus *in vitro*-Test (zur Abdeckung aller relevanten Phasen einer Sensibilisierung: Bioverfügbarkeit/Hautdurchdringung, Haptenisierung (Proteinreaktion), Keratinozytenreaktion (hier: KeratinoSens<sup>TM</sup>), Reifung (hier: h-CLAT) und Migration der dendritischen Zellen, T-Zellaktivierung/ Proliferation allergenspezifischer T-Zellen) und Befunde aus *in silico*-Anwendungen herangezogen. Die Eignung der Tests wurde jeweils geprüft und die Aussagen mit ihren testspezifischen Bedingungen bewertet. Dokumentationen von Humanbefunden (Literaturrecherche, IVDK-Datenbank) wurden in die Bewertung einbezogen. Informationen zur Relevanz der Substanzen wurden über Hinweise aus Sicherheitsdatenblättern und Befragungen eines dem Projekt zugeordneten Begleitkreises einbezogen. Sofern Datenlücken erkennbar wurden, wurde ein gezieltes Testprogramm vorgeschlagen und mit einer geeigneten Substanzauswahl durchgeführt (Reaktivverdünner; *in vitro*-Tests: h-CLAT und KeratinoSens<sup>TM</sup>), um die Auswahlmethodik auf ihre Eignung hin zu prüfen und einige weitere Substanzen nach ihrer Wirkstärke einordnen zu können. Weitere Substanzen, die im Rahmen des Projekts nicht weiter getestet werden konnten, wurden spezifisch geeigneten *in vitro*-Testprogrammen zugeordnet.

Von ursprünglich 51 zu bewertenden Inhaltsstoffen wurden nach Prüfung noch 46 Einzelbewertungen durchgeführt. Etwas mehr als die Hälfte der Inhaltsstoffe konnten keiner sensibilisierenden Wirkstärkekategorie zugeordnet werden (Kategorie U, 21 Einzelstoffe, entsprechen 45,7 %). Bei diesen Inhaltsstoffen muss per Default Vorgehen im Projekt von einer hohen Sensibilisierungsstärke ausgegangen werden (Kategorie HS). 16 Inhaltsstoffe konnten in die Wirkstärkekategorie HS (hohe Sensibilisierungsstärke) eingeordnet werden, insgesamt 9 Inhaltsstoffe mit geringer bis mäßiger Sensibilisierungsstärke wurden identifiziert (entspr. 34,8 bzw. 19,6 %).

Folgenden Substanzen wurden mit starker sensibilisierender Potenz (HS) assoziiert.

- Epoxidharze: Bisphenol A-Harze (CAS Nr. 25068-38-6 & 25085-99-8), Bisphenol-A-Epichlorhydrin MW 340 (1675-54-3), Bisphenol F-Harze (9003-36-5 & 28064-14-4),
- Härter: Ethylendiamin (107-15-3), Diethylentriamin (111-40-0), Trimethylhexamethylendiamin (25620-58-0), Triethylentetramin (112-24-3), Isophorondiamin (2855-13-2), m-Xylidendiamin (1477-55-0), Phthalsäureanhydrid (85-44-9), Tetrahydrophthalsäureanhydrid (85-43-8), Hexahydrophthalsäureanhydrid (85-42-7),
- Reaktivverdünner: 1,4-Butandiol-diglycidylether (2425-79-8), 1,6-Hexandiol-diglycidylether (16096-31-4), Phenylglycidylether (122-60-1), Kresylglycidylether (26447-14-3 & 2210-79-9).

Für diese Substanzen sollten prioritär (nicht sensibilisierende oder schwächer sensibilisierende) Ersatzstoffe gesucht werden oder zumindest reduzierte Konzentrationen im Epoxidharzsystem angestrebt werden, wobei evident ist, dass einige wichtige Inhaltsstoffe (wie die gelisteten Harze) aus technischen Gründen derzeit nicht substituierbar sind. Das Projektergebnis bietet zudem eine Grundlage, um die Charakteristik der sensibilisierenden Wirkung für zahlreiche Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen zu erfassen und eine Methodik, die für das Ranking von solchen Inhaltsstoffen geeignet ist.

## 4 Einleitung

Ziel des vorliegenden Projektes ist es, Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen nach ihrer hautsensibilisierenden Wirkstärke zu bewerten. Damit soll ein Instrument geschaffen werden, bei Auswahlentscheidungen zu Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen neben dem technischen auch den gesundheitlichen Aspekt besser berücksichtigen zu können.

Zunächst sind Ansätze zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung zu beschreiben (Teilprojekt 5.1). Diese Methoden können dann auf die Einzelstoffe aus Epoxidharzsystemen angewendet werden (Teilprojekt 5.2) und diese Stoffe sind entsprechend zu bewerten (Teilprojekt 5.3). In der Analyse von Datenlücken wird nach Möglichkeiten gesucht, diese zu füllen (Teilprojekt 5.1a), zumindest jedoch die Prinzipien für ein solches Füllen von Datenlücken aufzuzeigen, wobei offensichtlich ist, dass weitere Testungen außerhalb dies vorliegenden Projekts erforderlich sein werden. Die entsprechenden geeigneten Tests sind aufzulisten und ihre Auswahl ist zu begründen. Neben den Erkenntnissen aus dem Tierexperiment, aus *in vitro*- und *in silico*-Befunden spielen die direkten Erfahrungen beim Menschen eine zentrale Rolle. Hierfür wird eine entsprechende Literaturstudie durchgeführt (Teilprojekt 5.4.3). Es wird angestrebt, eine prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten im IVDK zu unternehmen (Teilprojekt 5.4.2) und es werden weitere Erkenntnisse zu Sensibilisierungshäufigkeiten und Häufigkeiten kombinierter Reaktionen (IVDK-Daten) zusammengetragen und bewertet (Teilprojekt 5.4.1). Schließlich erfolgt eine Integration aller vorliegenden Daten in ein Ranking-System (Teilprojekt 5.3). Die Aussagen werden dann mit Hinblick auf Aussagen zum Einfluss der Reizung, Aussagen zu Dosis-/Wirkungszusammenhängen, andere Stoffeigenschaften von Epoxidharzinhaltsstoffen außer Sensibilisierung/ Allergie und deren Bewertung eingeordnet. Abschließend werden Schlussfolgerungen für die Umsetzung des Rankingsystems in den Arbeitsschutz gezogen (Teilprojekte 5.5-5.10).

## **5 Technischer Berichtsteil**

### **5.1 Titel und Laufzeit des Vorhabens**

Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke (FP-0324)

Laufzeit: 01.03.2011 bis 31.12.2012

### **5.2 Problemstellung**

Nach einer Expertenbefragung in der Europäischen Union (EU27) gehören Allergien durch Epoxidharze zu den 10 häufigsten Risiken durch Chemikalien in der Arbeitswelt. Die Häufigkeit allergischer Reaktionen auf Epoxidharz in den Jahren 1998 bis 2009 zeigt, dass die Reaktionsquoten in den letzten Jahren insgesamt eher eine geringfügig zunehmende Tendenz aufweisen. Auf Basis von Daten des Informationsverbands Dermatologischer Kliniken (IVDK) über den Zeitraum von 1992 bis 2000 ergibt sich eine Sensibilisierungshäufigkeit in der allgemeinen Bevölkerung von 0,2 - 0,4 %; von 82 Millionen Deutschen wären danach also 164.000 bis 328.000 von einer Epoxidharzallergie betroffen. Speziell im Bau-Hauptgewerbe zeigte sich u.a. bei Maurern, Betonbauern, Bauhilfsarbeitern, Verputzern, Fliesenlegern, Estrichlegern, dass die Quote an allergischen Reaktionen auf Epoxidharz von 8,4 % (Zeitraum: 1994-1996) auf 12,4 % (Zeitraum: 2006-2008) anstieg. Epoxidharzallergien spielen jedoch nicht nur im Baugewerbe sondern auch in Verantwortungsbereichen anderer Unfallversicherungsträger (z.B. Metall, Maschinenbau, Verwaltung, Museen) eine wichtige Rolle.

Mit besonderer Priorität sollte daher versucht werden, das Risiko für Sensibilisierungen und Allergien „an der Quelle“, d.h. durch stoffliche Substitution, zu mindern. Während eine Substitution durch gänzliche Vermeidung von Epoxidharzen nur in seltenen Fällen ein gangbarer Weg wäre (Epoxidharzsysteme zeichnen sich durch hervorragende technische Eigenschaften aus), scheint es jedoch möglich, einzelne sensibilisierende Inhaltsstoffe in Harz, Beschleuniger und/oder im Härter von Epoxidharzsystemen durch solche Substanzen zu substituieren, die ein geringeres Risiko für eine entsprechende Erkrankung (eine geringere Sensibilisierungspotenz) beinhalten.

### **5.3 Forschungszweck/-ziel**

Hintergrund für das vorliegende Projekt ist die Häufigkeit von Allergien durch Epoxidharzsysteme und deren Inhaltsstoffe in zahlreichen Berufen. Nicht alle Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen besitzen die gleiche sensibilisierende Wirkstärke, so dass die Möglichkeiten der Substitution von stärker gefährdenden Stoffen durch weniger stark sensibilisierende Stoffe geprüft und nach Möglichkeit genutzt werden sollen.

Mit dem vorliegenden Projekt soll eine toxikologisch begründete Unterscheidung der sensibilisierenden Wirkstärke von Epoxidharzinhaltsstoffen auf aktuellem Kenntnisstand vorgenommen werden, wobei eine semiquantitative Differenzierung erwartet wird (z.B. schwache bis mittlere, starke und sehr starke sensibilisierende Wirkung). Dazu ist die Gesamtevidenz aus verschiedenen Modellierungen, *in vivo*-Tests und *in vitro*-Tests, mechanistischen Überlegungen und Humanerfahrungen zu berücksichti-

gen. Der Erfassung der Sensibilisierungshäufigkeiten auf Basis von Erkenntnissen des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) kommt dabei ein eigener Schwerpunkt zu. Ggf. verbleibende Datenlücken, die durch experimentelle Testungen geschlossen werden können, sind aufzuzeigen.

Die Ergebnisse der Einzelstoffbewertung sind in einem Rankingsystem zusammen zu führen, wobei auch andere gesundheitliche Auswirkungen für Substitutionsentscheidungen berücksichtigt werden müssen. Der Einfluss der Dosis und der Reizwirkung auf die Wirkstärke soll bei der Rangbildung beachtet werden. Kreuzreaktivitäten sind - wo bekannt - zumindest zu berichten.

Damit soll das Projektergebnis industriellen Herstellern bei der Auswahl von Epoxidharzinhaltsstoffen dienen sowie z.B. berufsgenossenschaftlichen Gremien bei Erarbeitung von Branchenlösungen und Epoxidharzanwendern bei der Gefährdungsbeurteilung nach Gefahrstoffverordnung.

#### **5.4 Methodik und Darstellung der Zeitabläufe; Kooperation**

- Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung (Teilprojekt 5.1)
- Analyse von Datenlücken und Möglichkeiten, diese zu füllen (Teilprojekt 5.1a)
- Anwendung der Methoden auf Einzelstoffe aus Epoxidharzsystemen (Teilprojekt 5.2)
- Sensibilisierungshäufigkeiten und Häufigkeiten kombinierter Reaktionen auf Basis von Erkenntnissen des Informationsverbunds Dermatologischer Kliniken
  - Literaturstudie (Teilprojekt 5.4.3)
  - Prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten im IVDK (Teilprojekt 5.4.2)
  - Expertise zu Bestandteilen von Epoxidharzsystemen auf der Basis einer vertieften Datenanalyse (IVDK-Daten; Teilprojekt 5.4.1)
- Aussagen zu Kreuzreaktivitäten (aus Teilprojekten 5.3, 5.4.1, 5.4.3; integriert in Teilprojekte 5.5-5.10)
- Aussagen zum Einfluss der Reizung (Teilprojekte 5.5-5.10)
- Aussagen zu Dosis-/Wirkungszusammenhängen (Teilprojekte 5.5-5.10)
- Andere Stoffeigenschaften von Epoxidharzinhaltsstoffen außer Sensibilisierung/Allergie und deren Bewertung (Teilprojekte 5.5-5.10)
- Integration in Ranking-System (Teilprojekt 5.3)
- Aussagekraft und Grenzen der Bewertung; Schlussfolgerungen für Modifikationen des Ranking-Systems (Teilprojekte 5.5-5.10)

Teilprojekt 5.1a wurde in Kooperation durchgeführt:

## **TEST 1: h-CLAT**

Bayer HealthCare, Prof. Dr. H.-W. Vohr, Immunotoxicology (Geb.: 514), 42096 Wuppertal

## **TEST 2: KeratinoSens™**

Givaudan Schweiz AG, Dr. A. Natsch, Überlandstrasse 138, 8600 Dübendorf, Schweiz

### **5.5 Ergebnisse des Vorhabens**

Von ursprünglich 51 zu bewertenden Inhaltsstoffen wurden nach Prüfung noch 46 Einzelbewertungen durchgeführt. Etwas mehr als die Hälfte der Inhaltsstoffe konnten keiner sensibilisierenden Wirkstärkekategorie zugeordnet werden (Kategorie U, 21 Einzelstoffe, entsprechen 45,7 %). Bei diesen Inhaltsstoffen muss per Default Vorgehen im Projekt von einer hohen Sensibilisierungsstärke ausgegangen werden (Kategorie HS). 16 Inhaltsstoffe konnten in die Wirkstärkekategorie HS (hohe Sensibilisierungsstärke) eingeordnet werden, insgesamt 9 Inhaltsstoffe mit geringer bis mäßiger sensibilisierungsstärke wurden identifiziert (entspricht 34,8 bzw. 19,6 %).

Für acht Inhaltsstoffe ist eine Registrierung unter REACH bis spätestens Juni 2013 vorgesehen (Produktions-/Importmengen von bis zu 100 Tonnen pro Jahr). In dieser Registrierungsphase werden die folgende fünf Härtern und drei Reaktivverdünnern bewertet.

- Triethylentetramin (TETA; CAS Nr. 112-24-3)
- Tetraethylenpentamin (TEPA; CAS Nr. 112-57-2)
- Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclo-hexyl)methan (CAS Nr. 136210-32-7)
- 1,2-Diaminocyclohexan (DCH; CAS Nr. 694-83-7)
- N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan (CAS Nr. 1760-24-3)
- 2-Ethylhexylglycidylether (CAS Nr. 2461-15-6).
- p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether (CAS Nr. 3101-60-8)
- o-Kresylglycidylether (CAS Nr. 2210-79-9)

Auf Basis der Erfahrung mit Inhaltsstoffen, die bereits während der ersten Registrierungsphase von REACH registriert wurden, gehen wir davon aus, dass bisher unveröffentlichte Industriestudien für die wenig untersuchten Inhaltsstoffe der zweiten Registrierungsphase zu erwarten sind.

Es ergeben sich vier zentrale Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Erkenntnisse dieses Projekts:

1. In erster Priorität sollten Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen, die sensibilisierende Eigenschaften haben, grundsätzlich (und mengenunabhängig) dahingehend geprüft werden, ob eine Substitution durch Substanzen möglich ist, die keine Einstufung als „hautsensibilisierend“ (H317; R43) besitzen. Dabei



ist zu beachten, dass keine Stoffe als Substitut vorgeschlagen werden, die anderweitige Einstufungen aufgrund gesundheitlich gravierender Eigenschaften besitzen (z.B. keine Stoffe mit Atemwegssensibilisierung (H334; R42). Eine solche Prüfverpflichtung (entweder als freiwillige Selbstverpflichtung oder als Auflage) sollte in Erwägung gezogen werden.

2. Innerhalb der als hautsensibilisierend eingestuften Substanzen (H317; R43) sollten solche Substanzen bevorzugt angewendet werden, die eine geringere sensibilisierende Wirkstärke besitzen. Dabei kann als pragmatisches Abschneidekriterium dort eine Priorität gesetzt werden, wo mehr als 25 % „HS“-Stoffe in einer Komponente auftreten. Solche Inhaltsstoffe sind in hohem Ausmaße unerwünscht und sollten nach Möglichkeit vermieden oder in ihrer Menge reduziert werden. Eine solche Prüfverpflichtung (entweder als freiwillige Selbstverpflichtung oder als Auflage) sollte in Erwägung gezogen werden.
3. Zahlreiche Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen sind bisher unzureichend hinsichtlich ihrer Wirkstärke einzuordnen. Es werden in dem Projekt jedoch systematische Testreihen vorgeschlagen, die es ermöglichen sollten, zahlreiche derzeit unzureichend charakterisierte Inhaltsstoffe eindeutig in eine der Kategorien „GMS“ oder „HS“ (oder in seltenen Fällen möglicherweise auch „SHS“) zu überführen. Hierfür bedarf es einer gemeinsamen Testung mit einer Reihe von hier vorgeschlagenen *in vitro*-Untersuchungen, die für eine Wirkstärkenbestimmung genutzt werden können. Dieses Instrument scheint dann wirksam, wenn chemisch verwandte Substanzgruppen zusammen analysiert werden, da dies die erforderlichen Relativaussagen (Rangreihen) bereitstellt. Es wäre zu begrüßen, wenn entsprechende Testinitiativen ergriffen werden, um die Anzahl der „U“ Stoffe deutlich zu reduzieren.
4. Für Neuentwicklungen von Epoxidharzsystemen unter (teilweiser) Nutzung bestehender und neuer Inhaltsstoffe können die bereitgestellten Informationen zu geeigneten Testsystemen und zu den derzeit bekannten Eigenschaften von auf dem Markt befindlichen Epoxidharzinhaltsstoffen genutzt werden, um gezielter auch für künftige Gemische die sensibilisierende Wirkstärke bei der Produktentwicklung angemessener einordnen zu können.

## **5.6 Auflistung der für das Vorhaben relevanten Ergebnisse von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen**

Innerhalb des Projektrahmens konnte eine erste „proof-of-principle“ Testung in Kooperation mit Auftragslaboratorien (Givaudan Schweiz AG und Bayer Health Care) erstellt werden. Die Ergebnisse konnten genutzt werden,

- um getroffenen Wirkstärkenbewertungen zu verifizieren,
- um Reaktivverdünner miteinander relativ zu vergleichen (Rangreihenfolge, die die relative Wirkstärke wiedergibt), durch diese relative Bewertung konnten Tendenz-Aussagen getroffen werden,
- und um einen Inhaltsstoff (1,6-HDDGE) anhand der zusätzlichen Hinweise aus den *in vitro*-Tests final der Kategorie HS zuzuordnen.

In drei anderen Fällen widersprachen sich die Tests und es konnte keine weiterführende Bewertung anhand der Ergebnisse getroffen werden.

Bei einer zuvor als „U“ markierte Substanz (Trimethylolpropan-TGE) konnte in beiden durchgeführten Tests eine Tendenz in Richtung der Kategorie HS ausgemacht werden. Bei zwei weiteren Inhaltsstoffen (Neopentylglykol-DGE, Polypropylenglykol-DGE) wäre anhand der Ergebnisse aus dem KeratinoSens™ eine Tendenz in Richtung der Kategorie GMS denkbar. Die Ergebnisse aus dem h-CLAT sind jedoch fraglich.

Insgesamt wird deutlich, dass die Testung an einer kleinen Auswahl der Reaktivverdünner geholfen hat, die Datenlage zu verbessern, bereits durchgeführte Bewertungen zu stützen und Neubewertungen möglich zu machen. Die *in vitro*-Testung wird als erfolgreich eingeordnet.

Die Testberichte sind als Anhänge 2 und 3 dem Bericht angefügt. Eine ausführliche Einordnung der Testergebnisse wird in Teilbericht 5.3 gegeben.

## **5.7 Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels**

Im Rahmen dieses Projekts konnte nur eine sehr grobe Einteilung in Wirkstärken erfolgen, was die Anwendung des Rankingtools beschränkt. Ebenfalls stark einschränkend auf die Anwendbarkeit der Projektergebnisse wirkt sich die sehr begrenzte Datenlage zu ungefähr der Hälfte der Substanzen aus. Hier ist mit Verbesserungen (im Zuge der zweiten Registrierungsphase unter REACH) zu rechnen. Zusätzlich sind jedoch weitere Aktivitäten erforderlich, um die noch bestehenden Lücken zu schließen. Weiterhin wird es als sehr bedauerlich eingeschätzt, dass die prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten im IVDK aus Beteiligungsmangel nur ansatzweise umgesetzt werden konnte. Die als Projektergänzung integrierten *in vitro*-Untersuchungen konnten im Rahmen der finanziellen und zeitlichen Begrenzung nur in kleinem Umfang zur Verbesserung des Ranking beitragen. Außerdem liegen derzeit noch keine geeigneten *in vitro*-Tests mit abschließender Validierung vor, was eine Unsicherheit in der Bewertung bedeutet.

Über dieses DGUV-Projekt konnte jedoch die Informationsbasis hinsichtlich hautsensibilisierender Eigenschaften von Inhaltsstoffen in Epoxidharzsystemen wesentlich verbessert werden. Erstmals wurde für eine umfangreiche Liste von Inhaltsstoffen die fachlich relevante Information entsprechend aufbereitet und aggregiert dargestellt. Die systematische Analyse von *in vitro*-Testsystemen ermöglicht es, jeweilige Teilinformationen in Zusammenschau zu bewerten, was im Falle von *in vitro*-Daten (im Unterschied zu *in vivo*-Befunden) unabdingbar ist. Etwa die Hälfte der geprüften Substanzen konnten so einer eindeutigen Wirkstärkenkategorie zugeführt werden (GMS oder HS).

Die ergänzend im Rahmen des Projekts durchgeführten *in vitro*-Tests werden im Saldo als erfolgreich eingeordnet und zeigen als „proof of principle“, dass auf diese Weise Informationslücken geschlossen werden können.

Umfangreiche Informationen konnten direkt aus Erfahrungen beim Menschen gewonnen werden: die gute Übereinstimmung der Einstufungen durch den IVDK und auf Basis der tierexperimentellen und *in vitro*-/ *in silico*-Daten ist ein erfreuliches Ergebnis, dass die Validität des Ranking stützt.

Es lassen sich eine Reihe konkreter Handlungsoptionen auf Basis der Projektergebnisse ableiten.

## **5.8 Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan**

Es ist insbesondere geplant:

- Publikation mit Projektergebnis in praxisrelevanter Zeitschrift (Arbeitsschutzbereich)
- Präsentation der Projektergebnisse auf internationaler Tagung: INRS Occupational Health Research Conference 2013: OCCUPATIONAL ALLERGIES (03.-05. April 2013, Nancy)
- Präsentation der Projektergebnisse auf internationaler Tagung: 79. Jahrestagung der DGPT in Halle (Saale) vom 05.-07. März 2013
- Während des Projekts wurden die Ergebnisse gegenüber dem Verband der Bauchemie (Deutsche Bauchemie e.V.) präsentiert und diskutiert. Entsprechende künftige Kooperationen sollen während des Abschlussworkshops konkretisiert werden.

Forschungsvorhaben

## **Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke**

gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen  
Unfallversicherung (DGUV)

Kennziffer FP-0324

### **Teilprojekt 5.1**

#### **Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung**

Dezember 2012

Endbericht

Bearbeitung:  
Dr. Karin Heine, Dr. Fritz Kalberlah, Dr. Martin Hassauer  
Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG)  
Klarastr. 63, 79106 Freiburg

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Ansätze zur quantitativen Erfassung der Wirkstärke von sensibilisierenden Substanzen und deren Anwendbarkeit auf Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen.....</b>	<b>A 4</b>
1.1	Grundlagen Kontaktdermatitis/Sensibilisierung .....	A 4
1.2	<i>In vivo</i> Methoden .....	A 5
1.2.1	Guinea pig maximization test (GPMT) .....	A 5
1.2.2	Buehler–Test .....	A 9
1.2.3	Local Lymph node assay (LLNA) .....	A 11
1.2.4	Mouse ear swelling test (MEST) .....	A 16
1.2.5	Human Repeat Insult Patch Test (HRIPT) .....	A 17
1.2.6	Human maximization test (HMT) .....	A 18
1.2.7	Übergreifende Diskussion der Einflussfaktoren .....	A 19
1.3	Mechanistische Stufen und <i>in vitro</i> Tests .....	A 19
1.3.1	Bioverfügbarkeit/Hautdurchdringung .....	A 21
1.3.1.1	Bestimmung des Verteilungskoeffizienten .....	A 22
1.3.1.2	Berechnung Permeabilitätskoeffizient ( $K_p$ ) .....	A 23
1.3.1.3	3D Hautmodelle – speziell: EST–1000™ .....	A 24
1.3.1.4	Nicht verwendete ähnliche Tests .....	A 27
1.3.1.5	Bewertung Bioverfügbarkeit generell: .....	A 28
1.3.2	Haptenisierung: .....	A 28
1.3.2.1	Optimierter “Direct Peptide Reactivity Assay” (DPRA) .....	A 28
1.3.3	Keratinocytenreaktion .....	A 32
1.3.3.1	NCTC2544 IL–18 Test .....	A 32
1.3.3.2	KeratiNOsens™ .....	A 34
1.3.4	Reifung und Migration der dendritischen Zellen .....	A 39
1.3.4.1	MUSST (Myeloid U937 Skin Sensitisation Test) .....	A 40
1.3.4.2	h–CLAT (Human Cell Line Activation Test) .....	A 42
1.3.4.3	VITOSENS® .....	A 44
1.3.4.4	Loose-fit coculture sensitisation assay (LCSA) .....	A 46
1.3.4.5	Nicht verwendete ähnliche Tests .....	A 48
1.3.4.6	Generelle Anmerkung zur Aktivierung und Migration .....	A 49

1.3.5	T-Zellen-Aktivierung/Proliferation Allergen-spezifischer T-Zellen.....	A 49
1.3.5.1	CAATC Assay (Contact allergen activated T-cell assay; BMBF-Projekt) .....	A 49
1.3.5.2	Nicht verwendete ähnliche Tests.....	A 51
1.3.6	Generelle Vorteile von <i>in vitro</i> Methoden.....	A 52
1.3.7	Generelle Einschränkungen von <i>in vitro</i> Methoden .....	A 52
1.4	<i>in silico</i> -Methoden/Expertensysteme .....	A 53
1.4.1	DEREK (für Windows; QMRF Nummer: Q13-34-36-315)....	A 54
1.4.2	TOPKAT .....	A 54
1.4.3	CAESAR.....	A 55
1.4.4	TOXTREE (SMARTs Raster nach Enoch et al., 2008b) .....	A 55
1.4.5	TIMES-SS.....	A 56
1.4.6	Golla et al., 2009.....	A 56
1.4.7	Molcode (QMRF Nr.: Q17-10-1-241) .....	A 57
1.4.8	OECD QSAR Toolbox .....	A 58
1.4.9	Generelle Vorteile von <i>in silico</i> Methoden.....	A 62
1.4.10	Generelle Einschränkungen von <i>in silico</i> Methoden .....	A 62
1.4.11	Anmerkung .....	A 63
<b>2</b>	<b>Glossar.....</b>	<b>A 64</b>
<b>3</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>A 67</b>
3.1	QSAR Danish EPA Model A33 .....	A 67
<b>4</b>	<b>Literatur .....</b>	<b>A 74</b>

# 1 Ansätze zur quantitativen Erfassung der Wirkstärke von sensibilisierenden Substanzen und deren Anwendbarkeit auf Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen

## 1.1 Grundlagen Kontaktdermatitis/Sensibilisierung

Um hautsensibilisierend zu wirken, muss ein Kontaktallergen zunächst die Haut durchdringen und dort entweder direkt oder nach seiner metabolischen bzw. chemischen Aktivierung mit endogenen Proteinen reagieren (Hapten oder Pro-Hapten oder Pre-Hapten). Nachfolgende Ereignisse beinhalten die Aktivierung von dendritischen Zellen (dendritic cells, DCs), die Hochregulation von verschiedenen Zelloberflächenmarkern und Adhäsionsmolekülen (z.B. CD86, CD54) und die Sekretion von bestimmten Zytokinen (z.B. Interleukin-1 $\beta$ ) als stimulierende Signale. Die aktivierten DCs wandern in die Lymphknoten, aktivieren die dortigen T-Effektorzellen und regen diese zur antigenspezifischen Proliferation an (siehe Abbildung 1).

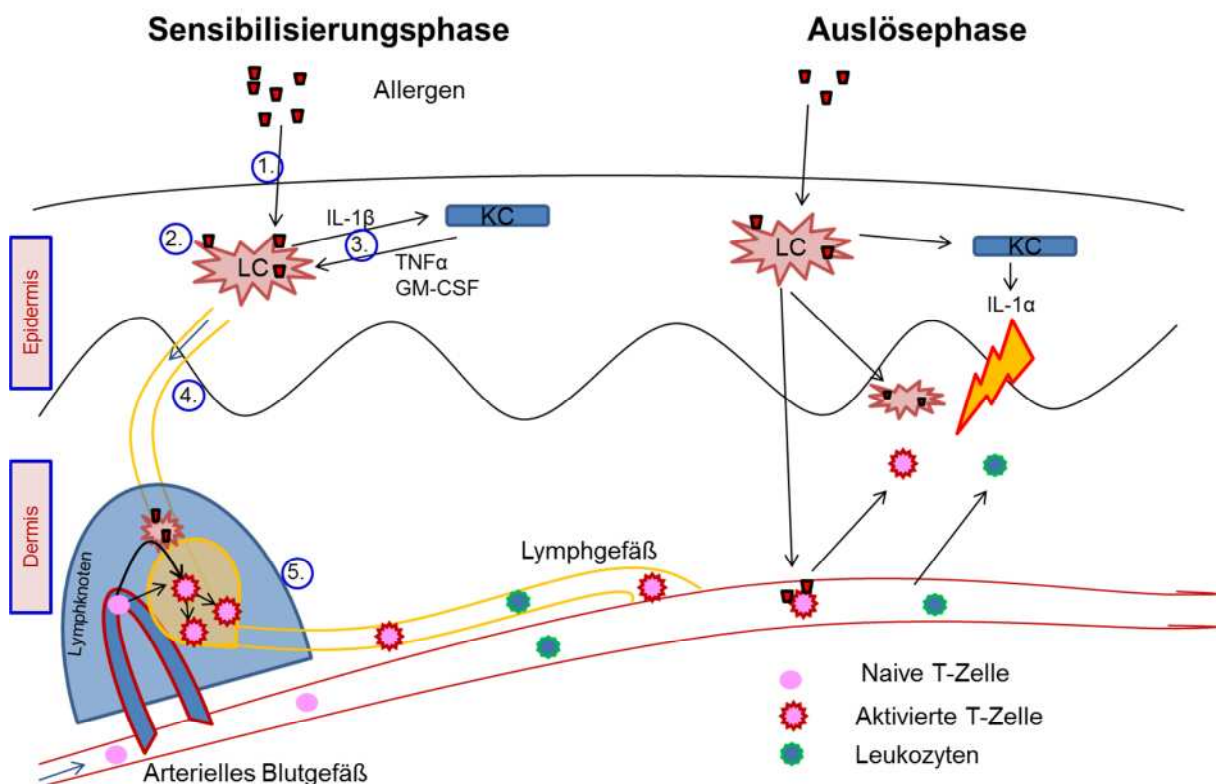


Abbildung 1. Mechanistische Grundlagen der allergischen Kontaktdermatitis

Schematische Darstellung der im Text aufgeführten mechanistischen Schritte, welche zunächst zur Kontakthypersensibilität führen. Nach erneutem Hautkontakt kommt es unter Beteiligung von Langerhans-Zellen (LC), Keratinozyten (KC), aktivierten T-Zellen und Leukozyten in der sogenannten Auslösephase zur Ausbildung des Kontaktekzems.

Nach einer Vielzahl von Publikationen (z.B. Aeby et al., 2007; Vandebriel und van Loveren, 2010) sind folgende fünf Ereignisse für die sensibilisierende Eigenschaft Substanz entscheidend (siehe auch Abbildung 1):

- 1. Bioverfügbarkeit/ Hautdurchdringung**
- 2. Haptenisierung (Proteinreaktion)**
- 3. Keratinozytenreaktion (Entzündungsmediatoren)**
- 4. Reifung und Migration der dendritischen Zellen**
- 5. T-Zellaktivierung/ Proliferation allergenspezifischer T-Zellen**

Der symptomlose Zustand (Syndrom) wird als Kontakthypersensibilität bezeichnet (englisch: contact allergy, oder auch Reaktion verzögerter Typ, oder Typ IV).

Die Erkrankung wird allergische Kontaktdermatitis genannt (englisch: allergic contact dermatitis (ACD), zu unterscheiden von der irritativen Form (ICD)). Das klinische Erscheinungsbild ist das sogenannte Kontaktekzem, das typischerweise 24–48 Stunden nach Exposition gegenüber dem Kontaktallergen sichtbar wird. Damit das Krankheitsbild in Erscheinung tritt, müssen sowohl die Phase der Sensibilisierung als auch die Auslösungs-/Elizitationsphase durchlaufen werden (erstmalige Beschreibung einer Auslösereaktion durch Richet und Portier, 1902; Zusammenfassungen siehe Basketter und Kimber, 2010a; Nosbaum et al., 2009).

Im vorgelegten Teilbericht des Projekts sollen Testsysteme gefunden und vorgestellt werden, anhand derer versucht werden soll, die sensibilisierenden Wirkstärke einzelner Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen zu bewerten. Generell ist allergene Wirkstärke definiert als die relative Fähigkeit einer Chemikalie, eine Hautsensibilisierung herbeizuführen. Diese wird beschrieben durch die Menge einer Chemikalie pro Flächeneinheit, die benötigt wird, um Hautsensibilisierung in einem vormals naiven Lebewesen auszulösen (van Loveren et al., 2008).

## **1.2 *In vivo* Methoden<sup>1</sup>**

Verschiedene *in vivo* Methoden zur Prüfung hautsensibilisierender Eigenschaften wurden in einem anderen Rahmen bereits beschrieben (Akkan et al., 2004) und werden hier der Vollständigkeit halber nochmals in Kürze präsentiert.

### **1.2.1 Guinea pig maximization test (GPMT)**

#### **– Versuchsvorschrift**

OECD, 406 (entspricht EU Methode B.6 gemäß VO 2008/440)

---

<sup>1</sup> Abschluss der Literatursuche für Teilprojekt 5.1 November 2011



### – Beschreibung, Vorgehen

„Beim Maximierungstest am Meerschweinchen (GPMT) nach Magnusson und Kligman (1969) wird die Sensibilisierung induziert durch intradermale Injektion von Prüfsubstanz und Adjuvans (FCA) am Tag 0 sowie epidermale Applikation der Testsubstanz (48h Okklusivverband) am Tag 7 in die Schulterregion. Für die Induktion wird die höchste Dosis empfohlen, die noch eine leichte bis mittelgradige Hautreizung hervorruft. Nach einer Ruhephase von zwei Wochen, die für die Proliferation von immunkompetenten Zellen veranschlagt wird, wird die Immunreaktion am Tag 21 durch epidermale Applikation der Testsubstanz (24h Okklusivverband) auf die nichtbehandelte Flanke des Versuchstieres provoziert. Für diese Auslösung wird die maximale, nicht mehr reizende Dosis empfohlen.

Für die Testgruppe werden mindestens 10 Tiere eingesetzt, die Kontrollgruppe besteht aus mindestens 5 Tieren.<sup>2</sup> Ausmaß und Grad der Hautreaktion bei den Versuchstieren wird verglichen mit der Reaktion bei Kontrolltieren, die keine Induktionsdosis, aber eine Auslösedosis erhielten. Hautreaktionen werden entsprechend der Bewertungsskala nach Magnusson und Kligman (1969) dokumentiert (0 „keine sichtbare Veränderung“ bis 3 „starkes Erythem und Schwellung“). Bewertet wird die Anzahl der Tiere mit positiver Hautreaktion. Sind mindestens 30 % der Tiere im GPMT (generell bei Adjuvans-Tests) sensibilisiert, wird der Stoff nach den Einstufungskriterien der EU als sensibilisierend eingestuft.“<sup>3</sup>

Quelle: Akkan et al., 2004

### – Validierung

Die Testdurchführung ist innerhalb einer Testvorschrift (OECD bzw. Verordnung (EG) Nr. 440/2008) festgelegt. Bis zur Einführung des LLNA, war der GPM-Test, neben dem Bühler-Test, das Mittel der Wahl zur Bestimmung sensibilisierender Eigenschaften von Substanzen (OECD, 1992).

### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Der Test ist vielfältig einsetzbar und in der Richtlinie wurden bisher keine Einschränkungen bezüglich zu testender Chemikalien vermerkt (OECD, 1992). In Basketter und Kimber finden sich jedoch Beispiele für Substanzen, die im GPMT falsch positive (z.B. Ethanol, Sulfanilsäure) bzw. falsch negative (z.B. Geraniol, Methylidibromoglutaronitril) Ergebnisse erzielten (2010b).

---

<sup>2</sup> Praxistipp: Im Falle eines negativen Ergebnisses müsste der Test mit wiederholt werden, um eine Mindestanzahl von 20 Test- bzw. 10 Kontrolltieren zu erhalten. Deswegen wird bei unbekanntem Substanzen oft von Beginn an 20 und 10 Tiere eingesetzt.

<sup>3</sup> Einstufung innerhalb der Verordnung (EU) Nr. 286/2011 (EU, 2011) in **Unterkategorie 1A** (entspricht hoher Sensibilisierungsstärke) und **Unterkategorie 1B** (entspricht geringer bis mäßiger Sensibilisierungsstärke; siehe auch Tabelle 1)

### – Vorteile

Aufgrund der langjährigen Verwendung des Tests sind viele Daten verfügbar (OECD, 1992). Daraus ergibt sich eine große historische Datenbasis und auch langjährige Erfahrung mit getesteten Produkten am Markt. Ausgehend vom Versuchsdesign erhält man Informationen sowohl über die Sensibilisierungsphase als auch über die Auslösephase. Ausgelöst durch die hohe Sensitivität des Tests beinhaltet ein negatives Ergebnis eine große Sicherheitsspanne (weiter Details hierzu siehe unter Einschränkungen).

### – Einschränkungen

„Der GPMT wird als ein sehr empfindliches Prüfverfahren eingestuft. In vergleichenden Studien ergab der GPMT eine höhere Sensibilisierungsrate und korrelierte besser mit Ergebnissen aus Humantests als der Buehler-Test.“ ... „Wegen seiner hohen Empfindlichkeit besteht allerdings die Gefahr, dass in einigen Fällen falsch positive Resultate erzielt werden und das Sensibilisierungspotenzial einer Substanz überschätzt wird. Auf der anderen Seite beinhaltet ein negatives Ergebnis im GPMT eine große Sicherheitsspanne.“

Quelle: Akkan et al., 2004

Weiterhin ist der Versuch zeitintensiver als beispielsweise der LLNA, wobei beim LLNA eben nur Informationen über die Induktionsphase und nicht wie beim GPMT auch über die Auslösephase gesammelt werden. Es erfolgt keine objektive Messung der Sensibilisierungsreaktion und es können kaum Aussagen bezüglich einer Dosis-Wirkungsbeziehung gemacht werden (Garcia et al., 2010). Für die Induktion und auch für die Auslösung werden Dosisfindungsstudien durchgeführt. Weiterhin kann eine zweite Auslösebehandlung mit niedrigerer Dosierung durchgeführt werden, um den NOEL zu bestimmen. Bedingt sind so Aussagen über Dosis-Wirkungszusammenhänge möglich (persönliche Kommunikation: H.-W.Vohr, Bayer HealthCare).

Insgesamt besitzt der GPMT als Test mit Adjuvans die Tendenz, die Wirkstärke vieler schwach, gering oder moderat humansensibilisierender Substanzen zu überschätzen (Klecak, 2004). Der Test wurde nur als „Hazard“-Test eingeführt. Er ist nicht wesentlich empfindlicher durch die unterschiedliche Positivgrenze von 30 % positiven Tieren gegenüber den 15 % beim Bühler (persönliche Kommunikation: H.-W.Vohr, Bayer HealthCare).

### – Einfluss Reizung

Durch die intradermale Injektion der ersten Induktionsdosis wird die Hautbarriere umgangen und somit auch zytotoxische Effekte ausgelöst durch Reizwirkung. Für die zweite, epidermale Applikation während der Sensibilisierungsphase wird die Verwendung der höchstmöglichen Dosis vorgesehen, die eine leichte Hautreizung hervorruft. Dies wird als Grundvoraussetzung für eine valide Testdurchführung gesehen. Zur Auslösung der Kontaktallergie sollten nicht-irritierend wirkende Konzentrationen angewendet, um den Einfluss der Reizung auf das nachfolgende Ablesen der Hautreaktion zu reduzieren und die Abschätzung der Wirkstärke zu

vereinfachen. Zudem ist eine Wirkungsverstärkung des sensibilisierenden Agens zu erwarten, wenn zusätzlich eine Reizwirkung hervorgerufen wird. Dabei ist es gleichgültig, ob dies durch die Testsubstanz, durch möglicherweise vorhandenen Verunreinigungen oder das Vehikel ausgelöst wird (Basketter et al., 2008; OECD, 1992).

– **Einfluss Vehikel**

*Bisher liegen keine Informationen vor.*

– **Bewertung der Wirkstärke**

Für die Wirkstärkenbewertung der vorhandenen Daten aus dem Maximierungstest an Meerschweinchen wurde auf die neueste Bewertung, die im Rahmen der 2. Anpassung der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen (EU, 2011) die Einstufungsgrenzen neu definiert, zurückgegriffen. Selbstverständlich gibt es auch andere Wirkstärkeneinschätzungen, die ähnliche Annahmen zugrunde legen. Im Gegensatz zur neuesten Bewertung nach GHS finden sich bei ECETOC (2003) vier Wirkstärkekategorien. Ein wesentlicher Unterschied stellt allerdings die Tatsache dar, dass ECETOC zur Stärkenbewertung die topisch verabreichte Konzentration heranzieht, während nach GHS die intradermal verabreichte Induktionskonzentration entscheidend ist.

Tabelle 1. Neueste Wirkstärkenbeurteilung GHS/CLP bzw. ECETOC Einstufung

Wer	Kriterium	Kategorie
GHS/CLP (EU, 2011)	≥ 30% Pos bei id Induktion mit ≤ 0,1% oder ≥ 60% Pos bei id Induktion mit > 0,1% bis ≤ 1%	hohe Sensibilisierungsstärke
	≥ 30% bis < 60% Pos bei id Induktion mit > 0,1% bis ≤ 1% oder ≥ 30% Pos bei id Induktion mit > 1%	geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke
ECETOC (2003) (Kimber et al., 2003)	≥ 60% Pos bei top Induktion mit < 0,1%	sehr stark sensibilisierend („extreme“)
	≥ 30% < 60% Pos bei top Induktion mit < 0,1% oder ≥ 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 0,1% bis < 1%	stark sensibilisierend („strong“)
	≥ 30% < 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 0,1% bis < 1% oder ≥ 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 1% bis < 10%	mäßige sensibilisierend („moderate“)
	≥ 30% < 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 1% bis < 100% oder ≥ 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 10% bis < 100%	schwach sensibilisierend („weak“)

Id: intradermal, top: topisch

## 1.2.2 Buehler–Test

### – Versuchsvorschrift

OECD 406 (entspricht EU Methode B.6 gemäß VO 2008/440)

### – Beschreibung, Vorgehen

„In dem von Buehler (1965) entwickelten Test am Meerschweinchen wird die Sensibilisierung durch drei kurzfristige epidermale Applikationen (6h Okklusivverband) im Zeitraum von zwei Wochen in die Schulterregion ohne Einsatz von Adjuvans ausgelöst. Empfohlen wird, den Stoff in der höchstmöglichen Dosis, die noch eine leichte, aber nicht zu starke Hautreizung hervorruft, einzusetzen. Nach einer Ruhephase von zwei Wochen wird die Prüfsubstanz zur Auslösung der Immunreaktion einmal in der höchsten, nicht mehr reizenden Konzentration auf die Flanke des Versuchstieres epidermal appliziert (6h okklusiv).

Für die Testgruppe werden mindestens 20 Tiere eingesetzt, die Kontrollgruppe besteht aus mindestens 10 Tieren. Ausmaß und Grad der Hautreaktion bei den Versuchstieren wird verglichen mit der Reaktion bei Kontrolltieren, die keine Induktionsdosis, aber eine Auslösedosis erhielten. Hautreaktionen werden entsprechend der Bewertungsskala nach Magnusson und Kligman (1969) dokumentiert. Bewertet wird die Anzahl der Tiere mit positiver Hautreaktion. Sind mindestens 15% der Tiere im Buehler–Test (generell bei Nichtadjuvanstests) sensibilisiert, wird der Stoff nach den Einstufungskriterien der EU als sensibilisierend eingestuft.“<sup>4</sup>

Quelle: Akkan et al., 2004

### – Validierung

Die Testdurchführung ist innerhalb einer Testvorschrift (OECD bzw. Verordnung (EG) Nr. 440/2008) festgelegt. Bis zur Einführung des LLNA, war der Bühler-Test, neben dem GPMT, das Mittel der Wahl zur Bestimmung sensibilisierender Eigenschaften von Substanzen (OECD, 1992).

### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Der Test ist vielfältig einsetzbar und in der Richtlinie wurden bisher keine Einschränkungen bezüglich zu testender Chemikalien vermerkt (OECD, 1992). In Basketter und Kimber (2010b) finden sich jedoch Beispiele für Substanzen, die im Buehler–Test falsch positive (z.B. Ethanol) bzw. falsch negative (z.B. Eugenol, Abietinsäure) Ergebnisse erzielten.

---

<sup>4</sup> Einstufung innerhalb der Verordnung (EU) Nr. 286/2011 (EU, 2011) in **Unterkategorie 1A** (entspricht hoher Sensibilisierungsstärke) und **Unterkategorie 1B** (entspricht geringer bis mäßiger Sensibilisierungsstärke; siehe auch Tabelle 2)

### – Vorteile

Aufgrund der langjährigen Verwendung des Tests sind viele Daten verfügbar (OECD, 1992). Daraus ergibt sich eine große historische Datenbasis und auch langjährige Erfahrung mit getesteten Produkten am Markt. Ausgehend vom Versuchsdesign erhält man Information sowohl über die Sensibilisierungsphase, als auch über die Auslösephase.

„Der Buehler-Test hat gegenüber dem GPMT den Vorteil, dass er weniger Störparameter enthält. Mit dem Verzicht auf intradermale Applikation der Testsubstanz und Verwendung eines Adjuvans, die beide auf maximale Sensitivität zielen, werden Fehlerquellen durch zusätzliche Hautirritationen bei der Interpretation vermieden. Hinsichtlich quantitativer Aspekte ist der Buehler-Test aussagekräftiger als der GPMT, da die natürliche Hautbarriere nicht durch intradermale Exposition umgangen und die Immunantwort nicht von zusätzlichen Stimuli durch Adjuvantien überlagert wird.“

Quelle: Akkan et al., 2004

### – Einschränkungen

„Verglichen mit dem GPMT besteht beim Buehler-Test eher die Gefahr, dass das Sensibilisierungspotenzial einer Substanz unterschätzt wird.“

Quelle: Akkan et al., 2004

Weitere Einschränkungen sind ähnlich denen des GPMTs. Der Zeitaufwand ist höher als beim LLNA, wobei beim LLNA nur Informationen über die Induktionsphase und nicht wie beim Buehler-Test auch über die Auslösephase gesammelt werden. Es erfolgt keine objektive Messung der Sensibilisierungsreaktion und es können keine Aussagen bezüglich einer Dosis-Wirkungsbeziehung gemacht werden (Garcia et al., 2010).

### – Einfluss Reizung

Für die Sensibilisierungsphase wird die Verwendung der höchstmöglichen Dosis vorgesehen, die eine leichte Hautreizung hervorruft. Dies wird als Grundvoraussetzung für eine valide Testdurchführung gesehen. Um den Einfluss der Reizwirkung auf das Ablesen der Hautreaktion zu minimieren, sollen zur Auslösung der Kontaktallergie nicht-irritierend wirkende Konzentrationen angewendet werden. Zudem ist eine Wirkungsverstärkung des sensibilisierenden Agens zu erwarten, wenn zusätzlich eine Reizwirkung hervorgerufen wird, dabei ist es gleichgültig ob dies durch die Testsubstanz, durch möglicherweise vorhandenen Verunreinigungen oder das Vehikel ausgelöst wird (Basketter et al., 2008; OECD, 1992).

### – Einfluss Vehikel

*Bisher liegen keine Informationen vor.*

### – Bewertung der Wirkstärke

Für die Wirkstärkenbewertung der vorhandenen Daten aus dem Buehler-Test wurde, wie bereits beim GPMT, auf die neueste Bewertung, die im Rahmen der 2. Anpassung der europäischen Verordnung Nr. 1272/2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen (EU, 2011) die Einstufungsgrenzen neu definiert, zurückgegriffen. Ähnlich wie für den GPMT findet sich auch für den Buehler-Test eine Wirkstärkenbewertung in 4 Wirkstärkekategorien im technischen Bericht von ECETOC (2003).

Tabelle 2. Neueste Wirkstärkenbeurteilung GHS/CLP bzw. ECETOC Einstufung

Wer	Kriterium	Kategorie
GHS/CLP (EU, 2011)	≥ 15% positive bei top. Induktion mit ≤ 0,2% oder ≥ 60% positive bei top. Induktion mit > 0,2% bis ≤ 20%	hohe Sensibilisierungsstärke
	≥ 15% bis < 60% Pos bei top. Induktion mit > 0,2% bis ≤ 20% oder ≥ 15% Pos bei top. Induktion mit > 20%	geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke
ECETOC (2003) (Kimber et al., 2003)	≥ 60% Pos bei top Induktion mit < 0,1%	sehr stark sensibilisierend („extreme“)
	≥ 15% < 60% Pos bei top Induktion mit < 0,1% oder ≥ 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 0,1% bis < 1%	stark sensibilisierend („strong“)
	≥ 15% < 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 0,1% bis < 1% oder ≥ 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 1% bis < 10%	mäßige sensibilisierend („moderate“)
	≥ 15% < 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 1% bis < 100% oder ≥ 60% Pos bei top Induktion mit ≥ 10% bis < 100%	schwach sensibilisierend („weak“)

Top.: topisch

### 1.2.3 Local Lymph node assay (LLNA)

#### – Versuchsvorschrift

OECD 429 (entspricht EU Methode B.42 gemäß VO 2008/440, Varianten siehe OECD 442A und OECD 442B)

#### – Beschreibung, Vorgehen

Beim klassischen „LLNA an der Maus (Stamm CBA/Ca oder CBA/J) wird der Einbau von Tritium-markiertem Thymidin in den Lymphknoten während der Induktionsphase ermittelt (Kimber et al., 1986). Dieser Einbau dient als Maß für die Lymphozytenproliferation und die korrespondierende Immunantwort. Zur Induktion werden 25 µl der Testsubstanz epidermal an drei aufeinander folgenden Tagen auf das Ohr appliziert. Es werden nach dem Standardprotokoll mindestens 3 Dosisgruppen (zusätzlich zur Negativ- und Positiv-Kontrolle) mit jeweils mindestens“ 4 „Tieren

verwendet. An Tag 6 wird den Tieren Tritium-markiertes Thymidin in die Schwanzvene injiziert. Nach 5 h werden die Tiere getötet, die Ohr-Lymphknoten isoliert, eine Einzelzell-Suspension der Lymphknotenzellen hergestellt und in dieser der Einbau von markiertem Thymidin über  $\beta$ -Szintillationszählung bestimmt. Nach dem Standardprotokoll des LLNA werden die Lymphknoten der einzelnen Tiere“ bzw. pro Dosisgruppe gepoolt „ausgewertet und anschließend die mittlere Zellproliferation der Dosisgruppe angegeben. Testsubstanzen, die gegenüber der Kontrolle eine Proliferationsrate [Anmerkung des Autors: d.h. Stimulationsindex (SI)]  $>$  Faktor 3 auslösen, werden als sensibilisierend eingestuft. Die Konzentration, die eine Verdreifachung der Proliferationsrate verursacht, wird als EC3 bezeichnet.

Im Unterschied zu den anderen Testverfahren, bei denen die Abläufe während der Auslösephase der Immunantwort betrachtet werden, steht beim LLNA ausschließlich die Induktionsphase der Sensibilisierungsreaktion im Blickpunkt der Bewertung.“

Quelle: Akkan et al., 2004

Die entsprechende OECD-Richtlinie (OECD 429) wurde 2002 erstmals verabschiedet (OECD, 2002) und 2010 bereits überarbeitet. Enthalten sind nun beispielsweise Hinweise zu den Durchführungsstandards oder eine ausführlichere Beschreibung der Chemikalien, für die der Test anzuwenden ist bzw. solchen, für die der Test möglicherweise falsche Ergebnisse produziert (ICCVAM, 2010; siehe auch Kreiling et al., 2008; OECD, 2010b). Mittlerweile wurden neben der Standardtestausführung weitere Varianten des LLNA validiert und sind als OECD-Richtlinien 442A und 442B erhältlich (OECD, 2010c; d). Beim LLNA:BrdU (442B) wird den Tieren anstelle des radioaktiv-markierten Thymidins das Thymidinanalogon 5-Bromo-2-desoxyuridin injiziert. Mittels eines Antikörpers gegen BrdU wird der Einbau in die DNA nachgewiesen und somit Auskunft über die Lymphozytenproliferation gewonnen. Aufgrund anderer Indexbereiche der Testmethode gilt ein Stoff bereits ab einem SI-Wert  $\geq 1,6$  als potenziell hautsensibilisierend. Der sogenannten LLNA:DA (entwickelt von Daicel Chemical Industries, Ltd.) bestimmt über Biolumineszenz den ATP Gehalt der Lymphknotenzellen, dieser wird als Indikator für die Lymphozytenproliferation gewertet. Hierbei gilt der zu testende Stoff ab einem SI  $\geq 1,8$  als potenziell hautsensibilisierend. Folglich wird die Konzentration, welche zur Überschreitung des jeweiligen Schwellenwertes benötigt wird, allgemein als EC Wert bezeichnet und nicht wie beim Test mit Tritium-markiertem Thymidin als EC3.

#### – Validierung

Die Testdurchführung ist innerhalb einer Testvorschrift (OECD bzw. Verordnung (EG) Nr. 440/2008) festgelegt.

#### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Vorsichtig zu bewerten sind Ergebnisse für Natriumlaurylsulfat (NLS), andere oberflächenaktive Substanzen oder auch Fettsäuren, Fettalkohole und Siloxane (siehe auch "Einfluss Reizung"; Ball et al., 2011; Garcia et al., 2010). Generell sollten keine wässrigen Lösungen getestet werden, die sofort vom Ohr abtropfen würden (OECD, 2010b).

### – Vorteile

In Bezug auf den GPM- oder den Buehler-Test stellt der LLNA ein verbessertes Verfahren im Sinne des 3R-Prinzips von Russel und Burch<sup>5</sup> dar. Die Anforderungen „Reduce“ und „Refine“ sind ausgehend von den bis dahin verwendeten Standardmethoden erfüllt, d.h. er reduziert die Anzahl der zu verwendenden Tiere und durch das Wegfallen der Auslösephase wird Stress und Schmerz der Tiere verringert. Bei Verwendung verschiedener Konzentrationen ist ein quantitativer Read-out möglich und man erhält Informationen zur Dosis-Wirkungsbeziehung. Der Test ist formal validiert und wird beispielsweise in der REACH-Verordnung als Mittel der Wahl zur Überprüfung hautsensibilisierender Stoffeigenschaften genannt. Es ist davon auszugehen, dass die Zahl verfügbarer Daten sich schnell vergrößert.

### – Einschränkungen

Eine Überempfindlichkeit gegenüber Tensiden wurde beispielsweise in der Arbeit von Ball und Kollegen (2011) bestätigt.

Details zu Einschränkungen des Tests, die sich aus der Überempfindlichkeit gegenüber reizenden Substanzen ergeben, werden später (unter „Einfluss Reizung“) aufgeführt.

Das im Versuch verwendete Vehikel oder der Mäusestamm können den erzielten EC3 Wert in seiner Höhe beeinflussen (Anzai et al., 2010). Ein Vergleich von EC3 Werten aus unterschiedlichen Studien kann sich auf dieser Basis als schwierig herausstellen (Details siehe „Einfluss Vehikel“).

Ein genereller Nachteil ist, dass der Test eine *in vivo* Testung darstellt. Der Test liefert nur Information über die Sensibilisierungsreaktion (Induktionstest). Im Vergleich zu den Meerschweinchentests liegt nur eine begrenzte historische Datenbasis vor (Garcia et al., 2010).

### – Einfluss Reizung

Im klassischen LLNA erzielen Natriumlaurylsulfat (NLS) und andere oberflächenaktive Substanzen (oder auch Fettsäuren, Fettalkohole und Siloxane) meist positive Ergebnisse. Diese sind nach Meinung vieler jedoch als falsch Positive zu werten. Falsch positiv ist eine Substanz in einem Test dann, wenn die Mehrzahl aller erzielten Ergebnisse mit anderen Tests und vor allem klinische Erfahrungen mit der Testsubstanz darauf hinweisen, dass kein sensibilisierendes Potential von der Substanz ausgeht. Als Grund für das Auftreten falsch Positiver im LLNA kann ein hautreizendes Potential einer Substanz angesehen werden. Ausgelöst durch den Kontakt mit Irritantien, wird von den Keratinozyten vermehrt IL-1 $\alpha$  produziert. Dies kann zu einer Aktivierung und Wanderung der Langerhans-Zellen in die Lymphknoten und zur unspezifischen Proliferation von T-Zellen führen, die dann im LLNA als Ausleseparameter fungieren (Ball et al., 2011). Durch die Reizwirkung einer Substanz und den oben genannten unspezifischen Mechanismus der zur T-Zellproliferation führt, lässt sich auch die erwartete Wirkungsverstärkung eines

---

<sup>5</sup> Russel W, Burch R. The principles of humane experimentation technique. London: Methuen; 1959



sensibilisierenden Agens erklären. Dabei ist es gleichgültig ob dies durch die Testsubstanz, durch möglicherweise vorhandenen Verunreinigungen oder das Vehikel ausgelöst wird (persönliche Kommunikation: H.-W.Vohr, Bayer HealthCare).

Bei der Entwicklung der neuen OECD-Richtlinien wurde diesem Problem Rechnung getragen und neben der T-Zellproliferation als Maß für die Sensibilisierung werden nun auch das Gewicht der Lymphknoten und die Ohrendicke erfasst. Diese Parameter lassen somit zeitgleich eine Aussage über die akut, reizende Wirkung einer Testsubstanz zu (Ehling et al., 2005a; b; Vohr und Ahr, 2005). Andere Autoren fordern beispielsweise die zusätzliche Messung des Oberflächenmarkers B220, der Rückschlüsse auf eine Reizwirkung der Testsubstanz zulässt (Dearman et al., 2011).

Mittlerweile wird die These, dass eine Hautirritanz im LLNA zwingend ein falsch positives Resultat erzielt angefochten. Zudem zieht die Beschränkung auf nicht-reizend wirkende Konzentrationen als Maximalkonzentration im Test zu verwenden eher falsch negative Ergebnisse nach sich. Dies kann beispielsweise auf Substanzen zutreffen, die neben einem sensibilisierenden Potential ein stark reizendes Potential besitzen (Basketter und Kimber, 2011).

#### – Einfluss Vehikel

Der Einfluss des Vehikels (siehe auch allgemein unter 1.2.7) kann an verschiedenen Beispielen deutlich gemacht werden.

Ergebnisse für ein und dieselbe Substanz in unterschiedlichem Vehikel getestet belegen, dass die im LLNA erzielten EC3 Werte bedenklich große Unsicherheit bergen. So ergibt sich für Bisphenol-A-diglycidylether getestet in Aceton/Olivenöl (4:1) ein EC3 Wert von 1,5 (Warbrick et al., 2001), wohingegen nur ein Wert von 0,1 erhalten wurde wenn das Vehikel Aceton allein war (Gamer et al., 2008). In diesem speziellen Fall ergibt sich ein Faktor von 15 zwischen den Werten. Basketter (2008) schlussfolgert, wenn immer Aceton/Olivenöl als Standardvehikel genommen wird, ist die Unsicherheit kleiner als der Faktor 5. Werden unterschiedliche Vehikel verwendet, sollten für eine quantitative Risikobewertung Faktoren bis hin zu 10 verwendet werden (siehe auch Basketter et al., 2008). Diese Faktoren werden in verschiedenen Arbeiten bestätigt (Fukuyama et al., 2008; Jowsey et al., 2008). Für die quantitative Sicherheitsbewertung sieht Jowsey et al. (2008) auf Basis der beobachteten Vehikeleffekte und der Tatsache, dass eine Chemikalie meist in einer anderen Matrix als dem im Tierversuch getesteten Vehikel auf die Haut auftrifft, einen zusätzlichen Faktor in Höhe von 10 vor.

Ein Beispiel für Vehikeleffekte aus der hier zu bewertenden Liste der Inhaltsstoffe ist das N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan (CAS: 109-55-7). In der Originalarbeit wird die Substanz in 7 unterschiedlichen Vehikeln getestet und EC3 Werte von 1,7 % in Dimethylformamid (DMF) bis > 10 % in Polyethylenglykol berichtet (für die Substanzbewertung wird der Wert mit dem Standardvehikel Aceton/Olivenöl herangezogen; Wright et al., 2001).

Eine weitere Studie stellt jedoch fest, dass für das unterschiedliche Verhalten in den Vehikeln nicht nur die Substanzlöslichkeit im jeweiligen Vehikel ein Rolle spielt,

sondern zusätzliche noch ungeklärte Faktoren beeinflussend wirken (Anzai et al., 2010).

DMSO wirkt bekanntermaßen verstärkend auf die Hautpenetration einer Substanz. Dementsprechend erhöht sich meist auch die gefundene Wirkstärke einer in diesem Vehikel getesteten sensibilisierenden Substanz (z.B. gezeigt in Fukuyama et al., 2008).

Wang-Fan und Ullmann (2008) finden dasselbe Ergebnis für DMSO. Das Vehikel führt zu Lymphozytenproliferation (unspezifisch) und ist deshalb insbesondere bei schwachen Allergenen weniger geeignet. Dimethylformamid ist bei schwachen Allergenen ebenfalls nicht gut geeignet, da es als ein bekannter Penetrationsbeschleuniger die Sensitivität des Tests erhöht und zudem reizend wirkt. Aber auch das Standardvehikel Aceton/Olivenöl kann in unterschiedlichen Laboren durch die Verwendung von Olivenöl, das in seiner Zusammensetzung sehr unterschiedlich sein kann, zu stark schwankenden Ergebnissen führen, Und mit Propylenglykol als Vehikel werden für bekannte Kontaktallergene meist sehr niedrige Werte für den Ausleseparameter erzielt.

Allerdings bleibt zu beachten, dass aufgrund der geringen Volumina, die beim LLNA appliziert werden, sowie der Tatsache, dass offen appliziert wird, das Vehikel die Aufgabe hat die Substanz möglichst schnell in die Haut zu treiben bzw. die Penetration zu erhöhen. Zunächst soll nur die von der Substanz ausgehende Gefahr bewertet werden. Die Risikobewertung (Wirkstärke) steht an zweiter Stelle. Deswegen ist eigentlich nur ein Ranking unter gleichen Bedingungen angebracht (persönliche Kommunikation mit H.-W.Vohr, Bayer HealthCare).

#### – Bewertung der Wirkstärke

Kürzlich aufgestellte Regelwerke besagen, dass Substanzen als stark sensibilisierend gelten sollen, wenn mindestens ein  $EC3 \leq 2\%$  vorliegt (d.h. ca. 500  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  aus Akkan et al., 2004 bzw. Roberts, 2011; Wirkstärkenbewertung siehe EU, 2011). Der LLNA sollte aber nicht als „Stand-alone“ Methode zur Wirkstärkenbewertung verwendet werden, da nur ca. 50 % der als stark human-sensibilisierend geltenden Substanzen dieses Kriterium erfüllen. Die Empfehlung eines Expertengremium lautet, dass Substanzen, die im LLNA einen EC3 Wert zwischen 2 % und 10 % ausweisen, zunächst als stark sensibilisierende Substanzen betrachtet werden sollten, außer es gibt aus anderen Versuchen Hinweise, dass die Substanzen beim Menschen nur gering bis mäßig stark sensibilisierend wirken (ICCVAM, 2011).

Tabelle 3. Wirkstärkenbeurteilung anhand der Daten aus dem LLNA (Basketter et al., 2005; van Loveren et al., 2008)

Wer	Welcher EC3	Kategorie
GHS/CLP (EU, 2011)	≤ 2 %	hohe Sensibilisierungsstärke
	> 2 %	geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke
(ICCVAM, 2011)	≤ 10 %	hohe Sensibilisierungsstärke, aber mit der Möglichkeit, Substanzen mit EC3 zwischen > 2 % und 10 % und bei Hinweisen aus anderen Testsystemen auf geringere Wirkstärke eine Umstufung vorzunehmen
	> 10 %	geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke
ECETOC (2003) (Kimber et al., 2003)	< 0,1 %	sehr stark sensibilisierend („extreme“)
	≥0,1 - <1 %	stark sensibilisierend („strong“)
	≥1 - <10 %	mäßige sensibilisierend („moderate“)
	≥10 - <100 %	schwach sensibilisierend („weak“)

Loveless und Mitarbeiter (2010) werten in einer Übersichtsarbeit den LLNA hinsichtlich seiner Aussagekraft für Wirkstärkeüberlegungen aus. Sie beziehen sich dabei weiterhin auf die 2003 veröffentlichte Einordnung in vier Wirkstärkekategorien (ECETOC, 2003). Aus den oben genannten Gründen wird im vorliegenden Projekt die Wirkstärkenbewertung, wie sie vom ICCVAM vorgestellt wurde, übernommen. Die von ECETOC vorgeschlagenen Grenzen (< 0,1 % und ≥0,1 - <1 %) werden jedoch als Anhaltspunkt genommen, um eine Substanz eventuell aus der Gruppe „hohe Sensibilisierungsstärke“ in die Gruppe „sehr hohe Sensibilisierungsstärke umzugruppieren“, wenn zudem weitere Hinweise auf eine sehr hohe Wirkstärke vorliegen.

#### – Anmerkung

Zur besseren Vergleichbarkeit mit anderweitig generierten *in vivo* Daten bietet Roberts einen kurzen Überblick, wie die meist verwendete Einheit des klassischen LLNA, nämlich EC3 in Gewichtsprozent, in weitere relevante Einheiten wie z.B. µg/cm<sup>2</sup> oder pEC3 (molarer EC3) umgerechnet werden kann. Es gilt: je kleiner ein EC3 Wert ist, desto höher die Wirkstärke der bewerteten Substanz. Dies verhält sich umgekehrt bei pEC3 Werten. Diese liegen zwischen 0 und 10 und es gilt: je größer ein pEC3 Wert ist, desto wirkstärker ist das sensibilisierende Agens (Roberts, 2011).

### 1.2.4 Mouse ear swelling test (MEST)

#### – Versuchsvorschrift

(Gad et al., 1986)

#### – Beschreibung, Vorgehen

„Beim MEST an der Maus wird als Endpunkt der Immunantwort die Zunahme der Mausohrdrücke ermittelt. Am Tag 0 wird intradermal Adjuvans (FCA) injiziert (Gad et al., 1986). Die Sensibilisierung wird durch vier epidermale Applikationen der Testsubstanz an den Tagen 0 bis 3 auf der Bauchseite der Tiere induziert. Ausgelöst

wird am Tag 10 mit einer epidermalen Applikation der Testsubstanz am Ohr. Die Immunantwort wird an Tag 11 und 12 als Ausmaß der Ohrschwellung bestimmt.“

Quelle: Akkan et al., 2004

#### – **Einschränkung, Validierung**

Die Methodik des Tests wird hier nicht vertieft analysiert, da nur 3 Inhaltsstoffe der zu bewertenden Liste Daten aus dem MEST aufweisen. Diese Tests wurden zudem abweichend vom Standardprotokoll durchgeführt. Außerdem ist die *in vivo* Datenlage für die drei Inhaltsstoffe bereits gut und eine qualitative Auswertung von MEST Daten schwierig. Obwohl in einer frühen Phase vermehrt Versuche unternommen wurden, beispielsweise die Sensitivität des Tests gegenüber schwach wirksamen Allergenen zu erhöhen (Dunn et al., 1990; Garrigue et al., 1994) und der MEST, neben dem LLNA, in der OECD Richtlinie 406 (1992) als Alternativmethode für Meerschweinchentests erwähnt wird, ist bisher keine formale Validierung erfolgt.

### **1.2.5 Human Repeat Insult Patch Test (HRIPT)**

#### – **Versuchsvorschrift**

(Draize et al., 1944; Draize, 1959; Marzulli und Maibach, 1973; 1974; Shelanski, 1951; Shelanski und Shelanski, 1953; Voss, 1958)

#### – **Beschreibung, Vorgehen**

„Bei den HRIPT sind Verfahren mit Intervall-Exposition (Draize-Test, Shelanski-Shelanski-Test und Voss-Griffith-Test) von solchen mit kontinuierlicher Exposition (modifizierter Draize-Test) zu unterscheiden. Bei allen HRIPT beträgt die Probandenzahl 200.

Bei Intervall-Exposition wird 3 Mal pro Woche über 24h exponiert. Die Anzahl der Expositionen beträgt 9 (Voss-Griffith-Test), 10 (Draize-Test) oder 15 (Shelanski-Shelanski-Test). Die Auslösung erfolgt 10-14 Tage nach der letzten Induktionsapplikation mit einer weiteren Patch-Applikation über 24-48h.

Bei der kontinuierlichen Exposition im modifizierten Draize-Test (Marzulli und Maibach, 1973; 1974) werden Pflaster 3 mal pro Woche bis zu einer Gesamtzahl von 10 auf einer Hautpartie aufgebracht. Die Pflaster werden 48h belassen, auf Hautreaktionen gesichtet und im Anschluss erneut aufgebracht. Die Auslösung erfolgt 14 Tage nach der letzten Applikation mit einer Patch-Applikation über 72h auf der originären und einer anderen Hautstelle.“

Quelle: Akkan et al., 2004

#### – **Vorteile**

„Im Hinblick auf quantitative Aussagen ist der HRIPT dem humanen Maximierungstest (HMT) gegenüber zu bevorzugen, da die Aussagekraft des HMT durch die Verwendung von Natriumlaurylsulfat eingeschränkt ist.“

Quelle: Akkan et al., 2004

### – **Einschränkungen**

Es ist eine große Probandenzahl erforderlich verglichen mit dem HMT.

Die letztgenannten Testungen am Menschen liefern nur wenige Daten, die Epoxidharzinhaltsstoffe betreffen, und werden aus ethischen Gründen nur mit historischen Daten berücksichtigt.

### – **Anmerkung**

Der Test wird an dieser Stelle nicht weiter erläutert, da insgesamt nur drei Humantests für zwei der Inhaltsstoffe vorliegen. Die jeweilige Versuchsvorschrift und deren Bewertung werden im Teil der Humanbefunde (siehe Teilprojekt 5.4.3 des IVDK) beschrieben.

## **1.2.6 Human maximization test (HMT)**

### – **Versuchsvorschrift**

(Kligman, 1966)

### – **Beschreibung, Vorgehen**

„Beim humanen Maximierungstest nach Kligman (1966) wird die Applikationsstelle vor der Induktion mit 5 % Natriumlaurylsulfat (SLS) (24 h, Patch-Applikation) vorbehandelt. Als anionischer oberflächenaktiver Stoff erhöht SLS die Permeabilität der Hornschicht und damit analog einer Konzentrationserhöhung die präsentierte Haptenmenge. Darüber hinaus führt die lokale Irritationswirkung von SLS zu einer stärkeren Haptenresponse. Die Testsubstanz wird 5-mal auf immer die gleiche Stelle appliziert (48 h, Okklusivverband) mit expositionsfreien Intervallen von 24 h. Vor jeder Exposition wird die Applikationsstelle mit SLS in der beschriebenen Weise vorbehandelt. Die Auslösung erfolgt 14 Tage nach der letzten Induktionsapplikation mit der maximalen, nicht mehr reizenden Dosis auf einer leicht gereizten Haut (48 h, Patch-Applikation). Auch vor der Auslösung wird die Haut mit Natriumlaurylsulfat vorbehandelt. Abgelesen wird nach 72 und 96 h.“

Quelle: Akkan et al., 2004

### – **Vorteile**

„Der Vorteil des HMT gegenüber dem HRIPT liegt in der geringen Anzahl an Probanden (25 verglichen mit 200).“

Quelle: Akkan et al., 2004

### – **Einschränkungen**

„Der Nachteil“ des HMT gegenüber dem HRIPT liegt „im Einsatz von Natriumlaurylsulfat ist, dass neben der Belastung der Testperson durch starke lokale Wirkungen auch die Interpretation des Testergebnisses erschwert sein kann.“

Quelle: Akkan et al., 2004

Die letztgenannten Testungen am Menschen liefern nur wenige Daten, die Epoxidharzinhaltsstoffe betreffen, und werden aus ethischen Gründen nur mit historischen Daten berücksichtigt.

– **Anmerkung**

Der Test wird an dieser Stelle nicht weiter ausgeführt, da insgesamt nur drei Humantests für zwei der Inhaltsstoffe vorliegen. Die jeweilige Versuchsvorschrift und deren Bewertung werden im Teil der Humanbefunde (siehe Teilprojekt 5.4.3 des IVDK) beschrieben.

## 1.2.7 Übergreifende Diskussion der Einflussfaktoren

– **Allgemein**

„In der Praxis werden die einzelnen Prüfverfahren mit zahlreichen Abwandlungen durchgeführt. Wegen der variablen Testkonzentrationen, Vehikel, Tierarten und Tierstämme, die in Versuchen eingesetzt werden, kann sich ein Vergleich der Testergebnisse aus verschiedenen Studien als sehr schwierig gestalten. Bei Methoden, in welchen die Wirkungen auf die Haut durch Ablesen bewertet werden, können zudem Abweichungen aufgrund verschiedener Ablesemodi eintreten. Daneben besteht eine generelle Unsicherheit, die eingetretenen Hautreaktionen auf visuellem Wege objektiv und eindeutig zu beurteilen.“

Quelle: Akkan et al., 2004

– **Vehikel**

Manche Vehikel können verdampfen und beeinflussen so die angewendete Substanzkonzentration (z.B. Aceton).

Hydrophilie (z.B. Wasser, DMSO) bzw. Lipophilie (z.B. Olivenöl) des Vehikels können die Bioverfügbarkeit/Hautpenetration negativ oder positiv beeinflussen. So migrieren hydrophobe Substanzen verstärkt durch die Epidermis wenn sie in einem hydrophilen Medium aufgebracht werden. Daraus ergibt sich, dass eine hydrophobe Substanz eine bessere Bioverfügbarkeit hat, wenn sie im Test mit Wasser verdünnt aufgebracht wird, anstelle des Gebrauchs von Olivenöl als Vehikel. Da hautsensibilisierende Substanzen meist stark lipophil sind, wird beispielsweise im EE-Test von dos Santos (2011) entsprechend eine Reihenfolge für die zu verwendenden Vehikel von Wasser, DMSO und erst zum Schluss Aceton/Olivenöl aufgestellt und je nach Löslichkeit der Testsubstanz verwendet (siehe auch 1.3.1.3).

## 1.3 Mechanistische Stufen und *in vitro* Tests

Im Sinne von Russel und Burch, die 1959<sup>6</sup> erstmals das sogenannte 3R-Prinzip beschrieben (Replacement (Vermeidung), Refinement (Verfeinerung), Reduction (Verringerung)), wird die Entwicklung von mechanistischen *in vitro* Tests in der

---

<sup>6</sup> Russel W, Burch R. The principles of humane experimentation technique. London: Methuen; 1959

Vergangenheit unter anderem durch die immer größer werdenden Bedenken der breiten Öffentlichkeit gegenüber Tierversuchen im Bereich der Chemikalien- und Wirkstofftestung getrieben. Ein zusätzlicher Auslöser war die 7. Änderung der europäischen Kosmetikrichtlinie 76/768/EEC<sup>7</sup>, die ab 2013 den Einsatz von Tierversuchen zur Risikoabschätzung von Kosmetikinhaltsstoffen verbietet.

Bereits existierende Initiativen im Bereich der Behörden und der Industrie (z.B. Verband der kosmetischen Industrie, COLIPA) bündelten ihre Energie, um innerhalb relativ kurzer Zeit zuverlässige, valide und robuste Testungen für den regulatorischen Einsatz präsentieren zu können.

Verschiedene OECD-Richtlinien wurden verabschiedet, so z.B. die OECD 428 zur Abschätzung der Hautpenetration<sup>8</sup>. Versuchsvorschriften zur Beurteilung hautirritierender Eigenschaften von Substanzen wurden optimiert und validiert (z.B. Hoffmann, 2006; OECD, 2010a; Spielmann et al., 2007)<sup>9</sup>. Speziell um das Thema Sensibilisierung wurde sich innerhalb des sechsten EU Rahmenprogramms in einem großen Forschungskonsortium, zusammengesetzt aus 28 Testlaboratorien, gekümmert („Novel Testing Strategies for *In Vitro* Assessment of Allergens“; Akronym: Sens-it-iv).

Mittlerweile sind so für die mechanistischen Stufen der Hautsensibilisierung, welche bereits zu Anfang geschildert wurden (siehe 1.1), *in chemico* oder *in vitro* Tests, mit denen jeweils mindestens eines der Ereignisse abgeprüft werden kann, entstanden.

Vorgestellt und diskutiert werden sie z.B. in

- Bericht der Exekutivagentur für Gesundheit und Verbraucher (EAHC, 2011),
- Bauch et al. (2011b)
- Vandebriel et al. (2010),
- Schultz et al. (2009),
- Gerberick et al.(2008),
- Basketter und Kimber (2009),
- Aptula und Roberts (2006),

wobei die dort eingehenden mechanistischen Aspekte auch in Verknüpfung mit den später vorgestellten (Q)SAR-Modellen betrachtet werden sollten. So geht die Art der Proteinbindungsreaktion (vgl. Haptenisierung) auch in Ähnlichkeitskriterien einiger (Q)SAR-Modelle und in deren Anwendungsdomäne („applicability domain“; AD) ein (Aptula und Roberts, 2006; siehe auch 1.1.3).

---

<sup>7</sup> Richtlinie 2003/15/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Februar 2003 zur Änderung der Richtlinie 76/768/EWG des Rates zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten über kosmetische Mittel

<sup>8</sup> Siehe für OECD-Richtlinien: <http://www.oecd-ilibrary.org/>

<sup>9</sup> Siehe für OECD-Richtlinien: <http://www.oecd-ilibrary.org/>

Das generelle Problem der *in vitro* Testung ist: um zur Hautsensibilisierung zu führen, muss jeder der genannten Teilschritte durchlaufen werden, jedoch ist immer noch weitestgehend unklar, welcher dieser Schritte relevant für die Stärke der Sensibilisierungsreaktion ist. Eine Beobachtung aus jüngerer Zeit besagt, dass für die Auslösung einer Antwort im LLNA bei schwachen Allergenen der Expositionspfad und die Antigenpräsentation weniger wichtig sind als die epidermale Aktivierung und reizende Effekte. Bei starken Allergenen scheinen diese Schritte alle gleich bedeutsam (Maxwell und Mackay, 2008).

In den nächsten Abschnitten findet sich eine Auswahl vielversprechender Methoden, die zur Bewertung der Sensibilisierungspotenz einer Substanz verwendet werden könnten. Dabei wird von einige Gruppen vorgeschlagen, mindestens drei Tests parallel durchzuführen und daraus das Risiko zu bestimmen (siehe beispielsweise Bauch et al., 2011b; persönliche Kommunikation: H.-W.Vohr, Bayer HealthCare).

### 1.3.1 Bioverfügbarkeit/Hautdurchdringung

Generell sind Kontaktallergene eher lipophil und von geringem Molekulargewicht (< 500 Da: Haut wird gut durchdrungen (Golla et al., 2009)). Substanzen, die eher hydrophob sind, ein hohes Molekulargewicht haben oder eine Ladung besitzen, werden eher nicht die Barrierefunktion der Haut durchdringen können und dementsprechend ein weniger hautsensibilisierendes Agens darstellen. Der Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) könnte somit für die Bioverfügbarkeit ein wichtiges Maß sein (Basketter und Kimber, 2009).

Neben den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Substanz ist zusätzlich wichtig, in welcher Form die Substanz auf die Haut appliziert wird. Dies trägt maßgeblich zur Wirkstärke bei (siehe auch Vehikeffekte bei der Wirkstärkenbetrachtung des LLNA unter 1.2.3). Nicht sensibilisierende Substanzen in einer Formulierung können die Barrierefunktion der Haut verändern oder einen Einfluss auf die nachfolgenden Prozesse (Metabolismus, Immunreaktion) ausüben.

Generell sind zwei Annahmen zu treffen (siehe auch Basketter und Kimber, 2010a):

- Eine Null-Penetration in die Epidermis ist unwahrscheinlich und
- Die Messung der Hautpenetration spiegelt nicht die tatsächlich in der Haut verfügbare Menge an Substanz wider.

Die Hautpenetration bezeichnet dabei den Unterschied der topisch (auf die Stratum corneum Schicht) applizierten Dosis im Gegensatz zur Dosis, die die ersten lebenden Zellschichten der Epidermis erreicht. Neben der Hautdurchdringung spielen für die Bioverfügbarkeit aber unter anderem auch Verdampfung, Metabolismus (Aktivierung/Inaktivierung) und Sequestrierung im Stratum corneum eine Rolle (van Loveren et al., 2008; Appendix A. Abstracts: Griem P.). Kimber und Kollegen (2008) sehen Anhaltspunkte dafür, dass die Dosis einer Substanz pro Fläche die entscheidende Einheit und eine wichtige Eingangsgröße bei der Sensibilisierungsphase darstellt.

Der dermale Permeabilitätskoeffizient ( $K_p$ ) kann ermittelt und zur Bewertung der Substanz herangezogen werden. Dies ist jedoch nur ein Maß für den Eintrag der



Substanz über die Zeit [cm/h]. Der  $K_p$  eröffnet jedoch die Möglichkeit, die zu bewertenden Substanzen relativ zueinander in Bezug zu setzen.

### 1.3.1.1 Bestimmung des Verteilungskoeffizienten

Der Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ; englisch:  $\log P$ , partition constant, partition ratio, distribution ratio) kann als einfaches Maß für die Bioverfügbarkeit einer Substanz herangezogen werden (Babu et al., 2004; Brand et al., 2004; Moss et al., 2002).

#### – Beschreibung, Vorgehen

Zur Abschätzung des  $\log K_{OW}$  wird ein Modell, das in der EPI Suite (Estimation Programs Interface Suite™; EPIWEB 4.0) der US-amerikanischen Umweltbehörde (US EPA) enthalten ist (EPA, 2011), verwendet. Anhand der CAS-Nummern bzw. der SMILES Codes kann das Modell KOWWIN v1.67 zur Berechnung genutzt werden. Enthaltene experimentelle Daten werden dabei bevorzugt berichtet.

#### – Vorteile

Dieses Vorgehen ist sehr einfach im vorliegenden Projekt durchzuführen. Die erzielten Daten können direkt genutzt werden, um die Inhaltsstoffbewertung voranzutreiben. Das dazu verwendete Modell wurde von der amerikanischen Umweltbehörde entwickelt und findet innerhalb unterschiedlicher Regelwerke Anwendung (z.B. REACH; EC, 2006).

#### – Einschränkungen

Die Aufnahme in die Haut ist per se nicht mit der sensibilisierenden Wirkstärke gleichzusetzen. Deswegen erfolgt, wie unter „Bewertung der Wirkstärke“ besprochen, nur ein binärer, qualitativer Read-out des Parameters (Gould und Taylor, 2011).

#### – Bewertung der Wirkstärke

Die Beurteilung der Bioverfügbarkeit, ausgehend vom Wissen um den  $\log K_{OW}$ , kann laut Natsch et al. (2009) entsprechend erfolgen. Bei einem Wert des  $\log K_{OW}$  von 2 wird eine maximale Absorption angenommen. Entfernt sich der berechnete Wert von diesem Maximalwert, so vermindert sich ebenfalls die Bioverfügbarkeit der Substanz. Inhaltsstoffe, die einen  $\log K_{OW}$  im Bereich zwischen  $-2$  und  $5$  aufweisen, werden immer noch als gut bioverfügbar bewertet. Substanzen, deren  $\log K_{OW}$  außerhalb des angegebenen Bereichs liegt, wird eine schlechtere Bioverfügbarkeit unterstellt. Der Endpunkt wird folglich nur qualitativ ausgewertet (d.h. grobe Einteilung der Bioverfügbarkeit in „gut versus „weniger gut“ möglich). Eine quantitative Betrachtung ist nicht möglich, da es keine Korrelation zwischen dem ermittelten  $\log K_{OW}$  und der Wirkstärke bei den untersuchten Substanzen, die im LLNA EC3 Werte von  $<1\%$  zeigten, gibt (Gould und Taylor, 2011).

### 1.3.1.2 Berechnung Permeabilitätskoeffizient ( $K_P$ )

#### – Versuchsvorschrift

Die zu verwendenden Berechnungen finden sich beispielsweise in Dotson et al. oder in Gould und Tylor (2011).

$$\log K_P = -2,72 + 0,71 \cdot \log K_{OW} - 0,0061 \cdot MW$$

Die Basis für oben genannte Gleichung lieferten Potts und Guy (1993; 1992).

Mit Hilfe des Programms DERMWIN (v.1.43a von September 2008), welches in der frei verfügbaren EPI Suite™ der US EPA zur Verfügung steht, kann die Berechnung des  $K_P$  ebenfalls automatisiert erfolgen.

#### – Beschreibung, Vorgehen

Der dermale Permeabilitätskoeffizient ( $K_P$ ) kann auf Basis von wenigen Eingangsgrößen, wie dem Molekulargewicht und dem Oktanol–Wasser–Verteilungskoeffizienten ( $\log K_{OW}$ ) errechnet werden. Die Berechnung kann händisch (siehe Versuchsvorschrift) oder automatisiert mit Hilfe des Programms DERMWIN aus der frei verfügbaren EPI Suite™ der US EPA erfolgen.

#### – Vorteile

Dieses Vorgehen ist sehr einfach im vorliegenden Projekt durchzuführen. Die erzielten Daten können direkt genutzt werden, um die Inhaltsstoffbewertung voranzutreiben. Das dazu verwendete Modell wurde von der amerikanischen Umweltbehörde entwickelt und findet innerhalb unterschiedlicher Regelwerke Anwendung (z.B. REACH; EC, 2006).

#### – Einschränkungen

Die Aufnahme in die Haut ist per se nicht mit der sensibilisierenden Wirkstärke gleichzusetzen. Deswegen erfolgt, wie unter „Bewertung der Wirkstärke“ besprochen, nur eine qualitative Bewertung (Gould und Taylor, 2011).

#### – Bewertung der Wirkstärke

Gould und Taylor (2011) berichten, dass in DEREK (QSAR–Anwendung siehe 1.4.1) die oben gezeigte Gleichung von Potts und Guy (1993; 1992) Anwendung findet, um hautsensibilisierende Eigenschaften einer Substanz vorherzusagen. Wird für eine untersuchte Substanz ein Wert von kleiner – 5 als  $\log K_P$  ermittelt wird die Substanz vom Programm als nicht kontaktsensibilisierend angezeigt (Anmerkung H.-W.Vohr, Bayer HealthCare: in-house Bewertungen bei Bayer HealthCare lieferten eine Zuverlässigkeit von nur knapp 60%). Im vorliegenden Projekt wird dieser Cut–off Wert übernommen, als Hinweis für schlechte Hautpenetration und somit einer wahrscheinlich geringeren sensibilisierenden Wirkstärke. Es kann jedoch keine weitere Differenzierung in Bezug zur Wirkstärke gemacht werden. Der  $K_P$  Wert in cm/h kann aber verwendet werden, um verschiedene Substanzen relativ miteinander in Bezug auf ihre Hautpenetrationsfähigkeit zu vergleichen.

### 1.3.1.3 3D Hautmodelle – speziell: EST-1000™

Neben der Abschätzung obiger Parameter besteht eine weitere Möglichkeit, diesen so wichtigen ersten mechanistischen Schritt abzu prüfen unter zu Hilfenahme von sogenannten „3D reconstructed skin models“ oder „3D reconstructed human epidermal (RHE) models“, die die biochemischen und physiologischen Eigenschaften der oberen Hautschichten (d.h. der Epidermis) nachbilden.

Bei der Betrachtung der sensibilisierenden Wirkstärke wird zugrunde gelegt, dass diese in direktem Zusammenhang mit dem Schweregrad einer Reizwirkung steht.

Ein hautreizendes Potential steht in Zusammenhang mit eingeschränkter Zytotoxizität. Dies wird deutlich nach Beurteilung der mit hautirritierenden Substanzen behandelten Stellen im Tierversuch und auch durch Beobachtungen am Menschen (Nosbaum et al., 2009; Wanner et al., 2010). Wirkt eine Substanz irritierend auf die Haut, so wird deren Barrierefunktion gestört. Ein potentielles Hautallergen kann dementsprechend vermehrt aufgenommen werden. Die Bewertung des irritierenden Potentials einer Substanz kann somit ebenfalls entscheidend für deren Hautpenetrationsrate und schlussendlich für deren sensibilisierende Wirkstärke sein, falls ein allergenes Potential vorhanden ist.

#### – Versuchsvorschrift

(dos Santos et al., 2011); Standardarbeitsanweisung (SOP) für Prävalidierung<sup>10</sup>

#### – Beschreibung, Vorgehen

Das Epidermis Äquivalenzmodell („epidermal equivalent“; EE-Kultur) wird von der CellSystems Biotechnologie Vertrieb GmbH zur Verfügung gestellt. Innerhalb des Sens-it-iv Projekts, welches im Rahmen der EU FP6 finanziell gefördert wurde, entstand die oben genannte Versuchsvorschrift, die veröffentlicht wurde. Eine Standardarbeitsanweisung (SOP) liegt zudem online vor.

Das kommerziell erhältliche rekonstruierte, epidermale Äquivalenzmodell besteht aus primären (d.h. nicht transformierten), epidermalen Humankeratinozyten. Es stellt eine vollständig ausdifferenzierte Epidermis mit lebenden und verhornten Zellschichten dar. Diese bilden *in vitro* eine Barriere ähnlich der Barrierefunktion von normaler menschlicher Haut. Generell sind so gewonnene Versuchsvorrichtungen ideal, um transdermale Substanzgängigkeit zu prüfen oder perkutane Absorptionsstudien durchzuführen. Das Modell wird im 24-Lochplattenformat ausgeliefert. Die Exposition gegenüber Chemikalien erfolgt durch topische Applikation eines mit der Testsubstanz getränkten Filterpapiers für 24 Stunden. Die zu untersuchenden Chemikalien werden in mindestens drei unabhängigen Experimenten jeweils im Duplikat in vier verschiedenen Konzentrationen (plus Vehikelkontrolle) geprüft und folgende Parameter bestimmt:

- A) primärer Endpunkt: EE-EC<sub>50</sub>, dies ist die Konzentration, die die Anzahl lebender Zellen der humanen EE-Kultur um 50% reduziert (d.h. je kleiner

---

<sup>10</sup> <http://sensitive-learning.eu/mod/resource/view.php?id=30>

desto stärker sensibilisierend). Gemessen wird diese im colorimetrischen Nachweisverfahren (MTT-Test) nach 24 stündiger Substanzinkubation.

- B) Zusatzinformation: Konzentration, die zur Induktion einer 10 bzw. 2fach erhöhten IL-1 $\alpha$  Sekretion benötigt wird (IL-1 $\alpha_{10x}$  bzw. IL-1 $\alpha_{2x}$  (bei Verwendung von EST-1000™); je kleiner die benötigte Konzentration, desto stärker irritierend bzw. sensibilisierend). Die Interleukin-Konzentration wird mit Hilfe eines antikörperbasierten Nachweisverfahrens bestimmt (ELISA; Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Die Reizwirkung (gemessen als IL-1 $\alpha$  Sekretion) stellt ein sogenanntes „danger signal“ (Matzinger, 1994; 2007) dar und trägt ebenfalls zur Sensibilisierungsstärke bei.

Mit diesen Parametern können laut den Autoren bekannte kontaktsensibilisierende Substanzen gemäß ihrer Wirkstärke in Gruppen eingeteilt werden. Auf Basis der durchgeführten Korrelationsbetrachtung zwischen den erzielten Studienergebnissen und bekannten Tier- und Humandaten (LLNA und/oder HRIPT) wurde die EE-EC<sub>50</sub> als ergebnisbestimmende Maßzahl identifiziert, wohingegen die ermittelte IL-1 $\alpha_{2x}$  aufgrund einer schlechteren Korrelation nur als stützende Information gewertet wird.

#### – Validierung

Zusammen mit dem ebenfalls im Sens-it-iv Projekt entwickelten NCTC2544 IL-18 Test (siehe 1.3.3.1) befindet sich der EST-1000™ Test in einem Ringversuch für die Prävalidierung (Seidle und Spielmann, 2011)<sup>11</sup>.

#### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Von den Testentwicklern wurde bisher keine Anwendungsdomäne spezifiziert. Aufgrund der mechanistischen Ausrichtung des Tests ist jedoch klar, dass nur hautsensibilisierende Substanzen, die zugleich eine hautreizende Wirkung besitzen, richtig erfasst werden können (dos Santos et al., 2011).

#### – Vorteile

Sehr geringe Intra- und Intervariabilität der Experimente deuten darauf hin, dass die EE-EC<sub>50</sub> ein robustes Maß darstellt (dos Santos et al., 2011). Unter der Annahme, dass die sensibilisierende Wirkstärke in direktem Zusammenhang mit dem Schweregrad einer Reizwirkung steht, ist auch eine quantitative Aussage bezüglich der Sensibilisierungsstärke eines bekannten Kontaktallergens möglich.

Dem EST-1000™ Modell wird hier gegenüber anderen Hautirritationstest Vorrang gewährt, da es zusammen mit dem NCTC2544 IL-18 Test (siehe 1.3.3.1), bereits in der Prävalidierung inbegriffen ist, um als Ersatz für *in vivo* Sensibilisierungsversuche zu fungieren.

Generelle Vorteile von Epidermis Äquivalenzmodellen sind, dass sie eine Luft-Flüssigkeitsgrenzschicht besitzen. Diese erlaubt einerseits die Nutzung nicht wasserlöslicher Testsubstanzen und andererseits liegen sie durch die Ausbildung

---

<sup>11</sup> Siehe auch Sens-it-iv Newsletter Nr. 44: <http://www.sens-it-iv.eu/content/newsletter.php>

einer Stratum corneum ähnlichen Schicht näher an der *in vivo* Situation als beispielsweise Einzelzellschicht-Modelle.

Außerdem kann das Erkennen eines hautreizenden Potentials einer Substanz darüber entscheiden, welche weiteren Tests durchgeführt werden sollten und die Interpretation der Testergebnisse entscheidend beeinflussen.

#### – Einschränkungen

Durch das Testdesign (Ausleseparameter) besteht eine Limitierung auf Testchemikalien, die auch ein hautreizendes Potential besitzen.

Nur positive Ergebnisse können gewertet werden, da bekannte sensibilisierende Substanzen teilweise zu schwach reagierten, sodass angenommen wird, dass neben diesen Warnsignalen („danger signals“) auch andere Eigenschaften für die Wirkstärke von sensibilisierenden Chemikalien eine Rolle spielen. D.h. es gibt einen Trend, dass stark sensibilisierende Substanzen ebenfalls stark irritierend wirken. Dies kann im vorliegenden Test geprüft werden. Jedoch gibt es Ausnahmen der Regel, d.h. ein negatives Ergebnis bzw. eine geringe gemessenen Zytotoxizität oder/und eine geringe Potenz die Induktion von IL-1 $\alpha$  anzuregen bedeutet nicht gleichzeitig, dass die Substanz nicht in der Lage ist, eine stark sensibilisierende Wirkung auf den betroffenen Organismus auszuüben.

Da bisher zu wenige Chemikalien getestet wurden, konnte noch kein Cut-off Wert bestimmt werden, der die EE-EC<sub>50</sub>, mit einer Wirkstärke in Verbindung bringen würde. D.h. die Wirkstärkenbewertung ist potentiell möglich, aber momentan noch nicht validiert. Es lohnt sich die Entwicklung des Tests weiterhin zu verfolgen. Für den Moment sind Trendanalysen bzw. relative Betrachtungen möglich. Die ähnliche Reihe der Glycidylether könnte beispielsweise getestet werden, um deren Unterschiede herauszuarbeiten.

Epidermis Äquivalenzmodelle bestehen meist nur aus Keratinozyten. Wie später deutlich wird, sind aber auch die Langerhans-Zellen der Epidermis oft maßgeblich an einer Kontaktsensibilisierung beteiligt. Eventuell kann so die Sensibilisierung nicht richtig abgebildet werden (siehe dazu auch die Anmerkung bei den Tests bezüglich der Abschnitt 4 Migration und Reifung; Kissenpfennig und Malissen, 2006). Regnier et al. (1997) und Fransson et al. (1998) unternahmen ebenfalls den Versuch, Langerhans-Zellen in solche 3D-Modelle zu integrieren. Im vorliegenden Test wurde dies jedoch nicht berücksichtigt.

Eine schlechte Löslichkeit der Chemikalien kann dazu führen, dass die maximal lösliche Konzentration einer Substanz immer noch keine Reduktion der metabolischen Aktivität (d.h. Überlebensmaßeinheit) der EE-Kultur nach sich zieht.

Weiterhin kann es – verursacht durch schlechte Löslichkeit – zu Interferenzen mit dem Auslesesystem, dem colorimetrischen MTT Assay, kommen. Eventuell ist kein Ablesen des Endpunktes möglich (dos Santos et al., 2011).

### – Einfluss Reizung

Der Test misst verschiedene Parameter zur Bestimmung der Reizwirkung, deswegen stellt diese keinen Störfaktor dar. Bei der Betrachtung der sensibilisierenden Wirkstärke wird zugrunde gelegt, dass die sensibilisierende Wirkstärke in direktem Zusammenhang mit dem Schweregrad einer Reizwirkung steht.

### – Einfluss Vehikel

Wie in zellbasierten Tests üblich, beschränken die Autoren die Verwendung von DMSO als Vehikel. Die Grenze von 1 % sollte nicht überschritten werden, da sonst zytotoxische Effekte und unspezifische IL-1 $\alpha$  Sekretion auftreten. Aus diesem Grund wird immer die Anzahl der relativ zur Vehikelkontrolle überlebenden Zellen gemessen und nicht die absoluten Werte bestimmt (siehe auch allgemein zutreffende Einflussfaktoren – Vehikel unter 1.2.7).

#### 1.3.1.4 Nicht verwendete ähnliche Tests

Sogenannte *in vitro* Hautirritationstest (SIT – skin *in vitro* test) beinhalten die Verwendung verschiedener Hautmodelle. Für EpiDerm™ (MatTek Corporation) und EpiSkin™ (SkinEthic Laboratories) liegen verschiedene Prävalidierungs-, Optimierungs- sowie Validierungsstudien vor. Alle genannten Modelle sind in der OECD 439 (entspricht EU Methode B.46 gemäß VO 2008/440) genannt. EpiSkin™ gilt dabei als vollständige Ersatzmethode um das hautreizende Potential einer Substanz zu bestimmen, während EpiDerm™ bisher nur als Screeningtest oder Teil einer schrittweisen Teststrategie gilt. Ein modifizierter EpiDerm™ Test, wie von Kandárová (2009) publiziert, erfüllt jedoch die von der OECD vorgeschriebenen Anforderungen („Sensitivity:  $\geq 80\%$ ; Specificity:  $\geq 70\%$ ; Overall Accuracy:  $\geq 75\%$ “). Diese werden auch von dem SkinEthicRHE™ (ebenfalls SkinEthic Laboratories) erfüllt.

Die Hautmodelle werden weiterhin verwendet um *in vitro* Korrosivität von Substanzen (OECD Richtlinie 431) oder auch deren Phototoxizität zu bestimmen.

Insgesamt liegt eine langjährige Erfahrung mit den Hautmodellen aus dem Bereich der Kosmetikindustrie vor. Getestet wurden Substanzen, deren Eigenschaften im Bereich der pharmakologischen oder kosmetischen Anwendung lagen oder auch die in Bezug auf dermale Exposition als relevant erscheinen.

Die Testung an dem Hautmodell EST-1000™ wurde von uns bevorzugt behandelt, da es im Rahmen des Sens-it-iv Projekts in die Prävalidierung für eine Testbatterie zum Ersatz des *in vivo* Versuchs zur Charakterisierung sensibilisierender Substanzeigenschaften eingeschlossen ist. Zwar liegen bereits seit längerem die Ergebnisse einer Validierungsstudie für den sekundären Endpunkt (IL-1 $\alpha$ ) mit dem EpiSkin™ Modell vor (Hoffmann, 2006), der Ausleseparameter ist jedoch noch nicht validiert und in die OECD-Richtlinie übernommen.

### 1.3.1.5 Bewertung Bioverfügbarkeit generell:

Obwohl sie an für sich nicht als eigenes quantitatives Maß dienen kann, ist die Bewertung der Bioverfügbarkeit essentiell, um die Ergebnisse aus *in vitro* Tests für die nachgeschalteten mechanistischen Schritte richtig zu interpretieren. Ein Beispiel aus Aeby et al. (2004): Die Autoren berichten, dass Hydrdoxyethyl-p-Phenyldiamin (HE-PPD) und der strukturähnliche Aromat p-Toluoldiamin (PTD) in einem *in vitro* Test mit Messung von spezifischen Sensibilisierungsmarkern (CD86, zelluläre Oberflächenmarker; IL-1 $\beta$  m-RNA, Zytokinexpression) vergleichbare Ergebnisse erzielen. HE-PPD ist jedoch im Gegensatz zu PTD nicht als humanes Hautallergen bekannt und auch im LLNA (Aceton/Olivenöl) zeigen sich deutliche Unterschiede (EC3 von PTD = 0,31 %; HE-PPD keine positive Reaktion). Zur Erklärung: HE-PPD besitzt eine sehr viel geringere Hautpenetrationsrate als PTD. Im Tierversuch konnte nur durch den Einsatz des Vehikels DMSO die Hautpenetration in einem Maße erhöht werden, dass eine positive Reaktion im LLNA erzielt wurde (EC3 = 0,62; Überschätzung des sensibilisierenden Potentials). Im *in vitro* Versuch werden ähnliche Ergebnisse erzielt, die sich aufgrund der unterschiedlichen Bioverfügbarkeit *in vivo* nicht finden.

Zukünftig wird auch versucht, die metabolische Kapazität der rekonstruierten Hautmodelle genauer zu beleuchtet, um das Wissen in die Risikobewertung einbeziehen zu können. Es werden vergleichende Studien zur Charakterisierung der Expression von Cytochrom P450 Monooxidasen (CYPs) oder der Aktivität wichtiger Phase II Enzyme (wie GST oder UGT) zwischen humanen Hautpräparaten, Epidermis Äquivalenten oder HaCaT-Zellen durchgeführt (Aeby et al., 2010).

### 1.3.2 Haptenisierung

Neben der Hautpermeabilität spielt die chemische Reaktivität einer Substanz eine entscheidende Rolle für deren kontaktallergene Wirkung (Basketter und Kimber, 2010a). Dabei wirken die humanen Proteine als Nukleophile und das Kontaktallergen als Elektrophil (van Loveren et al., 2008; Appendix A. Abstracts: Patlewicz G.). Die Reaktivität einer Chemikalie kann meist nach den mechanistischen Domänen wie beispielsweise nukleophile Substitutionsreaktion (S<sub>N</sub>2 oder S<sub>N</sub>Ar) oder Michael Addition eingeordnet werden. Einen ersten Eindruck über das Ausmaß der chemischen Reaktivität von Substanzen kann im folgenden Test gewonnen werden.

#### 1.3.2.1 Optimierter “Direct Peptide Reactivity Assay” (DPRA)

##### – Versuchsvorschrift

(Gerberick et al., 2004; Gerberick et al., 2007)

## – Beschreibung, Vorgehen

Im Test erfolgt die Messung der chemischen Reaktivität über Bindungsraten an nukleophile Ziele (Glutathion (GSH), Cystein und Lysin in Peptiden<sup>12</sup>). Dazu werden GSH oder künstlich hergestellte Peptide im 1:100, 1:50 bzw. 1:10 Verhältnis mit der Testchemikalie gemischt (pH bei 7,4; 10,5 bzw. 7,5). Über chromatographische Methoden (HPLC) wird nach 15 minütiger (GSH) bzw. 24 stündiger (Peptide) Substanzinkubation die GSH- bzw. Peptid-Depletion im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollen gemessen und in Prozent ausgewiesen.

In späteren Veröffentlichungen wird nur doch die Reaktivität der Substanzen mit Lysin (Verhältnis 1:50) und Cystein (Verhältnis 1:10) in Betracht gezogen und die sensibilisierende Eigenschaft mit Hilfe eines „Entscheidungsbaumes“ analysiert (rekursive Partitionierungsmethode; Strobl et al., 2009). Die Reaktivität wird als minimal, gering, moderat und hoch eingestuft, wobei minimale Reaktivität für nicht sensibilisierenden Substanzen steht und die anderen Stufen für sensibilisierende Substanzen (Endpunkt: Einstufung Cut-off > 6,4 % der mittleren Depletion beider getesteten Peptide). Es ergibt sich eine Sensitivität von 88 %, eine Spezifität von 90 %, eine positive Prädiktivität von 94 % und eine negative Prädiktivität von 81 %. Die Systemgenauigkeit beträgt 89 % auf Basis der 81 geprüften Substanzen (Gerberick et al., 2007). In einem Beitrag<sup>13</sup> zum ICCVAM Workshop über die Fortschritte der *in vitro* Chemikalienprüfung wurde aufgeführt, dass bis 2011 mittlerweile 157 Chemikalien mit diesem Verfahren bewertet wurden und die Systemgenauigkeit bei 85 % sowohl im Vergleich zu Humandaten, als auch den tierexperimentellen Daten aus dem LLNA, liegt (Bauch et al., 2011a).

Die hier beschriebene Messung der Amin- bzw. Thiol-Reaktivität wird von Neves et al. (2011) neben dem Endpunkt des KEAP/Nrf2/ARE-Toxizitätspfad (siehe KeratinoSens™ unter 1.3.3.2) als vielversprechendste Methode genannt, um den Tierversuch zur Charakterisierung sensibilisierender Chemikalieneigenschaften durch mechanistisch basierte *in vitro* Versuche zu ersetzen.

## – Validierung

Der DPRA wurde inklusive anderer Tests im Rahmen einer Testbatterie vorgeschlagen als Ersatz für *in vivo* Versuche zur Einstufung bezüglich hautsensibilisierender Substanzeigenschaften. Es wurden von der COLIPA Ringversuche durchgeführt und der Test befindet sich im europäischen Zentrum zur Validierung von Alternativmethoden (ECVAM<sup>14</sup>) in der Prävalidierungsphase III (Aeby et al., 2010; Bauch et al., 2011b; Maxwell et al., 2011).

---

<sup>12</sup> Für die Entwicklung von verschiedenen QSAR Modellen (siehe auch 1.4) ist es beispielsweise wichtig, dass auf molekularer Ebene sogenannte „mechanistic applicability domains“ etabliert wurden ((Aptula und Roberts, 2006); Zusammenfassung siehe (Basketter und Kimber, 2010a)).

<sup>13</sup> Joanna Matheson: New Models in the Validation Pipeline for ACD Hazard Testing <http://iccvam.niehs.nih.gov/meetings/Implement-2011/ACDWksp-present.htm>

<sup>14</sup> Siehe <http://ecvam.jrc.it/>



### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Es wurde bisher noch keine definitive Anwendungsdomäne (AD) präsentiert. Die AD dürfte jedoch aufgrund der einfachen, mechanistischen Basis des Tests recht weit gefasst sein. Definitiv abgeprüft werden können jedoch Sultone und Methylisothiazolonederivate (Lysin), sowie  $\alpha/\beta$  ungesättigte Aldehyde (Bauch et al., 2011b). Je nach verwendetem Peptid wird auch erwartet, dass sich die Anwendungsdomäne leicht verändert (siehe auch „Einschränkungen“). So dient beispielsweise GSH als weiches Nukleophil mit höherer Selektivität einem weichen Elektrophil (z.B.  $\alpha/\beta$  ungesättigten Aldehyden, Ketonen oder Estern) als Reaktionspartner, wohingegen Lysin als hartes Nukleophil selektiver auf harte Elektrophile (wie z.B. Phthalsäureanhydrid, CAS 85-44-9) reagieren sollte. Die Prüfung stark lipophiler Substanzen kann möglicherweise Probleme bereiten, da der *in vitro* Test in wässriger Lösung stattfindet (Gerberick et al., 2008).

### – Vorteile

Mittlerweile gibt es bereits eine breite Datenbasis und es besteht eine langjährige Erfahrung mit dem Test. Vergleicht man die erzielten Reaktivitätsdaten mit den EC3 Werten aus dem LLNA und wendet auf diese die Einteilung nach Kimber et al. (2003; siehe auch Tabelle 3) an, so ergibt sich eine gute Korrelation. Dies wird bei Korrelation mit Humandaten bestätigt (Bauch et al., 2011b; Gerberick et al., 2007; Niklasson et al., 2009).

Der Test mit Cystein und Lysin ist robust, im Sinne von einfacher Handhabung und guter Übertragbarkeit in andere Laboratorien (im Vergleich zum GSH Test) und man hat gute Chancen mittlere bis stark oder extrem sensibilisierende Substanzen in entsprechende Reaktivitätskategorien einzuteilen (moderate bis hohe Reaktivität; Gerberick et al., 2007).

Anhand des Ableseparameters (Bestimmung der Depletion des Nukleophils; d.h. Indikator-test) wird zwar keine Information über den chemischen Mechanismus der Adduktbildung gewonnen, jedoch wird die Sensitivität des Tests positiv beeinflusst durch den Ausschluss eines aus technischen Gründen nicht-nachweisbaren Addukts. Der Read-out ist somit sehr geradlinig und zielorientiert (mit Ziel der Quantifizierung der Reaktivität; Gerberick et al., 2008).

Der Test wurde für das vorliegenden Projekt ausgewählt, da verschiedene Arbeiten (Bergström et al., 2006; Niklasson et al., 2009; Niklasson et al., 2011) anhand des ausgewählten Parameters einen guten Überblick über die relative Sensibilisierungsstärke einiger Epoxidharzinhaltsstoffe bieten.

### – Einschränkungen

Obwohl bezüglich des Rankings der Reaktivität eine gute Übereinstimmung mit Tierdaten gefunden wurde (siehe Vorteile oben und Bauch et al., 2011b; Gerberick et al., 2004; Gerberick et al., 2007), widerrufen die Testentwickler ihr früheres Vorgehen und bestätigen, dass die chemische Reaktivität nicht direkt mit den Sensibilisierungsklassen aus dem LLNA zu vergleichen sind. Ein Grund dafür ist, dass immer noch nicht klar ist, welcher mechanistische Schritt innerhalb der Proteinreaktivitäts-

betrachtung, wie beispielsweise die Aminosäureselektivität, die Reaktionsrate oder die Stabilität des Proteinkonjugats, für die Wirkstärkenbeurteilung spezifisch ist (Gerberick et al., 2008). Andere Autoren bestätigen dies, so ist nicht die Geschwindigkeit bzw. das Ausmaß der Peptidreaktivität maßgeblich für die sensibilisierende Wirkstärke einer Substanz, sondern eher die Proteinbindungsstelle (ausgearbeitet von Lepoittevin und Kollegen am Beispiel der Sultone; Basketter und Kimber, 2009; Meschkat et al., 2001a; b). Auch Schultz und Kollegen (2009) stimmen mit dieser Aussage überein und begründen dies damit,

- dass Faktoren wie Metabolismus und abiotische Transformation nicht in den Test der chemischen Reaktivität miteinbezogen werden,
- dass die Durchführungslänge des Tests die Ergebnisse beeinflussen, dass nur eine asymmetrische Datenmatrix (d.h. zu wenig unterschiedliche Chemikalien) verfügbar ist und
- dass diese „schiefe“ Datenlage die Aussagekraft verfälscht.

Hauptkritikpunkt am Test ist, dass Pro-Haptene durch ein fehlendes metabolisches System nicht ausreichend in diesem Test überprüft werden (Gerberick et al., 2007). Schätzungsweise sind dies ca.  $\frac{1}{3}$  der bekannten sensibilisierenden Substanzen. Hinzu kommen noch die Pre-Haptene, die durch chemische Aktivierung zum aktiven Hapten umformiert werden (Gerberick et al., 2008). Diese Einschränkungen sind Gegenstand der aktuellen Forschung (Maxwell et al., 2011).

Obwohl die Entstehung kovalenter Bindungen, als ein elementarer Schritt einer Sensibilisierung, experimentell gut abgesichert ist, sind potentiell andere Mechanismen zur Haptenbildung möglich, diese sind jedoch eher von untergeordneter Bedeutung (z.B. nicht kovalente (reversible) Interaktionen, Divkovic, 2006).

Aufgrund des Testdesigns (wässrige Lösung) kann es möglicherweise zu Problemen bei der Testung stark lipophiler Substanzen kommen (Gerberick et al., 2008) und die Wahl des Mediums kann auch einen Einfluss auf die Reaktionsstärke haben (beispielsweise werden in polarem Medium, die Transitionsstadien bei einer SN2 Reaktion stärker stabilisiert als im apolaren; Aptula und Roberts, 2006).

Weiterhin wird deutlich, dass die *in chemico* Ansätze nicht die physiologischen Verhältnisse widerspiegeln (z.B. pH 10,5 bei Lysinreaktivitätsprüfung; Gerberick et al., 2007). Es ist jedoch auch noch nicht klar, welche Proteine in der Haut als Nukleophile für die elektrophilen Substanzen agieren (entweder lösliche oder membrangebundene Proteine, in Lymphflüssigkeit d.h. eher wässrige Umgebung oder in hydrophobem Milieu, z.B. Zellmembran einer Langerhans-Zelle). Die Wahl des *in chemico* getesteten Nucleophils und des Medium beeinflussen das Ergebnis stark, ohne dass die Auswirkung auf die *in vivo* Situation vollständig klar ist (Aptula und Roberts, 2006)

Bei Fokussierung auf Lysin und Cystein als abzuprüfende Peptide kann das Sensibilisierungspotential mancher Substanzen nicht erfasst werden, wenn eine andere Aminosäureselektivität der Testsubstanz vorliegt, die bei obigen Standardverfahren nicht erfasst wird (siehe auch „Testsubstanzen/Anwendungsdomäne“).

Zudem können schwach sensibilisierende Substanzen kaum von nicht sensibilisierenden Substanzen unterschieden werden (Gerberick et al., 2007).

– **Einfluss Reizung**

*Bisher liegt noch keine Information vor.*

– **Einfluss Vehikel**

*Bisher liegt noch keine Information vor.*

### **1.3.3 Keratinozytenreaktion**

Nach Kontakt mit einem Allergen wird die Mobilisierung/Aktivierung der in der Epidermis sitzenden dendritischen Zellen (sog. Langerhans-Zellen, LZ) durch Freisetzung von verschiedenen Cytokinen eingeleitet.

Keratinozyten setzen Interleukin (IL) 1 $\beta$  frei. Dieses wirkt einerseits parakrin auf LZ, aber auch autokrin auf die Keratinozyten und veranlasst die Freisetzung des Tumornekrosefaktors  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), der wiederum positiv (parakrin) auf die Aktivierung der LZs wirkt. Ein weiteres in diesem Zusammenhang bekanntes Cytokin ist das IL-18, das upstream von IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  seine Funktion ausübt. Insgesamt werden nicht mehr als ca. 30% des gesamten Pools an epidermalen LZs bei einer Sensibilisierung aktiviert. Neben den LZs sind aber auch dermale dendritische Zellen für die Ausrichtung einer Immunantwort der Haut verantwortlich (Basketter und Kimber, 2010a).

Ausgehend von diesem Wissen wurden verschiedene auf Keratinozyten basierende Tests entwickelt, wobei sich herausgestellt hat, dass die IL-1 $\beta$  mRNA Expression wegen der nur geringen Sensitivität und der signifikanten Intraspeziesunterschiede nicht als Read-out geeignet ist (Jowsey et al., 2006).

#### **1.3.3.1 NCTC2544 IL-18 Test**

– **Versuchsvorschrift**

(Corsini et al., 2009); Standardarbeitsanweisung (SOP) für Prävalidierung<sup>15</sup>

– **Beschreibung, Vorgehen**

Innerhalb des Sens-it-iv Projekts, welches durch das sechste EU Förderprogramm (EU FP6) finanziell unterstützt wurde, entstanden verschiedene *in vitro* Tests mit der Absicht, Tierversuche zur Bestimmung hautsensibilisierender Eigenschaften von Chemikalien zu ersetzen. In diesem Rahmen wurde eine Standardarbeitsanweisung entwickelt und der Test 2009 von Corsini et al. in einer Veröffentlichung dargestellt. Der neu etablierte *in vitro* Test soll vor allem dazu dienen, Kontaktallergene von respiratorischen Allergenen und hautreizenden Substanzen zu unterscheiden. Die humane Keratinozytenzelllinie NCTC2544 (Istituto Zooprofilattico di Brescia: BS CL 143) wird dabei normalerweise im 24-Lochplattenformat ausgesät. Die

---

<sup>15</sup> <http://sensitive-learning.eu/mod/resource/view.php?id=30>

Substanzexposition erfolgt in einem angemessenen Vehikel für 24 Stunden. In einem Vorversuch wird die Zytotoxizität der Substanz ermittelt (MTT-Test). Die im NCTC2544 IL-18 Test maximal zu anzuwendende Konzentration sollte weniger als 20 % Zytotoxizität relativ zur Vehikelkontrolle induzieren und darf den Wert von 1 mg/ml nicht überschreiten. Insgesamt sollen jeweils vier Konzentrationen jeder Substanz vierfach an drei unterschiedlichen Versuchstagen getestet werden. Eine Positivkontrolle ist einzuschließen. Als Endpunkt wird nach 24 stündiger Substanzexposition die für Kontaktallergene spezifische Hochregulation des intrazellulären Interleukin (IL) – 18 Spiegels gemessen. IL-18 wird dabei durch ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren ermittelt (ELISA; Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Als Endergebnis wird die relative Veränderung der IL-18 Spiegel im Vergleich zur IL-18 Konzentration der Vehikelkontrollen dargestellt. Ist eine Erhöhung in drei unabhängigen Wiederholungen jeweils um mindestens 1,2fach ersichtlich (d.h.  $\geq 1,2$ ) so gilt die getestete Substanz als kontaktsensibilisierend (Quelle SOP gemäß Fußnote 13). Für die Wirkstärkenbetrachtung wird von den Autoren in einer ersten Betrachtung das Maß 1,4facher IL-18 Induktionen herangezogen. Für die getesteten Chemikalien ergab sich dabei eine gute Korrelation mit den entsprechenden Ergebnissen aus dem LLNA ( $R = 0,754$ ;  $p = 0,0098$ ). Für eine gültige Aussage müssen jedoch noch weitere Chemikalien dem Test unterzogen werden (Corsini et al., 2009).

#### – Validierung

Zusammen mit dem ebenfalls im Sens-it-iv Projekt entwickelten EST-1000™ Test (siehe 1.3.1.3) befindet sich der NCTC2544 IL-18 Test in einem Ringversuch für die Prävalidierung (Seidle und Spielmann, 2011)<sup>16</sup>.

#### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Von den Testentwicklern wurde bisher keine Anwendungsdomäne spezifiziert.

#### – Vorteile

In Zusammenschau mit dem ebenfalls im Sens-it-iv Projekt entwickelten EST-1000™ Test (siehe 1.3.1.3) soll eine qualitative und quantitative Betrachtung der hautsensibilisierenden Eigenschaften von Chemikalien möglich sein (siehe Fußnote 14).

Der gewählte Parameter, IL-18 Induktion, nimmt eine zentrale Position oberhalb der IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  Expression, für die Aktivierung von Langerhans-Zellen zur Migration ausgehend von Keratinozyten ein (Antonopoulos et al., 2008).

#### – Einschränkungen

Für die Wirkstärkenbewertung ausgehend von den Ergebnissen aus dem NCTC2544 IL-18 Test müssen zunächst weitere Chemikalien getestet und mit relevanten *in vivo* Daten verglichen werden.

---

<sup>16</sup> Siehe auch Sens-it-iv Newsletter Nr. 44: <http://www.sens-it-iv.eu/content/newsletter.php>

Die Löslichkeit der Substanz, deren chemische Reaktivität, sowie eine metabolische Aktivierung spielen im *in vitro* Versuch eine wesentliche Rolle. In Keratinozyten findet nur begrenzt ein Fremdstoffmetabolismus statt, speziell bei den NCTC2544 Zellen finden sich aber verschiedene Enzyme des Phase I und II Metabolismus. Es konnte die Aktivität folgender Enzyme nachgewiesen werden: 7-Ethoxycoumarin O-Deethylase (ECOD), 7-Ethoxyresorufin O-Deethylase (EROD) und 7-Pentoxyresorufin O-Depenthyllase (PROD; alle Phase I), Glutathion-S-Transferase, Aldehyddehydrogenase und Quinonreduktase (Phase II).

Um ein höchstmögliches Maß an Standardisierung zu erreichen, sollte der Test mit einem Zellrasen, der 80 % Konfluenz erreicht hat, Zellen durchgeführt werden. Die Anzahl lebender Zellen unter Substanzexposition darf nie unter 80 % im Vergleich zur Kontrolle liegen. Als akzeptabel gilt ein Test, wenn die Variation der Ergebnisse zwischen den Replikaten unter 20 % liegt und der intrazelluläre Anstieg an IL-18 (pg/mg) im Dunnett's Test statistisches Signifikanzniveau erreicht.

Die Verwendung verschiedener Seren für das Zellkulturmedium (unterschiedliche Aufreinigungen des Kälberserums etc.) kann zu verändertem Verhalten der NCTC2544 Zellen führen und sollte beim Vergleich von Testergebnissen aus verschiedenen Quellen bedacht werden (SOP gemäß Fußnote 13 und Corsini et al., 2009).

#### – Einfluss Reizung

Durch die Messung von spezifisch für Sensibilisierung gewählten Endpunkten ist eine potentiell inhärente Reizwirkung der Testchemikalie zu vernachlässigen.

#### – Einfluss Vehikel

Das Vehikel ist so zu wählen, dass ein Übermaß an vehikelbedingten zytotoxischen Effekten Vehikel ausbleibt (Beispiel aus der SOP: max. 0,2 % DMSO).

### 1.3.3.2 KeratinoSens™

#### – Versuchsvorschrift

Nach Erstbeschreibung in (Natsch und Emter, 2008), optimierter Assay präsentiert in (Emter et al., 2010)

#### – Beschreibung, Vorgehen

Der KeratinoSens™ Assay ist ein sogenannter Reporteragenassay basierend auf einer Veränderung der humanen Keratinozytenzelllinie (HaCaT; Boukamp et al., 1988). Diese enthält ein Reporterkonstrukt. Dem antioxidativen, responsiven Element (ARE) ist dabei das Luziferasegen nachgeschaltet. Im Ruhezustand liegt der Transkriptionsfaktor Nrf2 gebunden an das Repressorprotein Keap1 vor. Durch die kovalente Bindung, beispielsweise eines elektrophilen Allergens an Cysteinreste von Keap1, wird der nachfolgende Signalweg aktiviert. Der Transkriptionsfaktor Nrf2 dissoziiert ab und wandert in den Zellkern. Hier bindet er an das erwähnte responsive Element und löst somit die Transkription des Luziferasegens aus. Nach

erfolgreicher Translation kann die Aktivität des Luziferaseenzyms als Lichtentwicklung gemessen werden (Natsch, 2010; Natsch und Emter, 2008). Eine Vorläuferversion dieses Tests (mit humanen Brustkrebszelllinie MCF-7, die die Ratten GST A2 ARE Sequenz 8mal upstream des Luziferasegens codiert) wurde bereits 2008 (Natsch und Emter) präsentiert und 2010 unter Verwendung der humanen Keratinozytenzelllinie und mit optimiertem Versuchsdesign veröffentlicht. In den HaCaT Zellen unterliegt das Luziferasegen der Kontrolle einer Kopie des ARE aus dem humanen Aldo-Keto-Reduktase (*AKR1C2*) Gen (Emter et al., 2010). Für den Test werden die Keratinozyten im 96-Lochplattenformat ausgesät. Gemessen werden sollen dabei 12 Konzentrationen jeweils in dreifacher Ausfertigung. Die Substanzexposition erfolgt für 48 Stunden. Danach werden die Zellen lysiert und der Umsatz des Luziferasesubstrats kann als Lichtentwicklung in einem Luminometer gemessen werden. Für jede Chemikalie wird dabei die durchschnittlich, maximale Induktion ( $I_{max}$ ; x-fach im Vergleich zur Kontrolle), sowie die durchschnittliche Konzentration, bei der die Luziferase Aktivität nach Substanzexposition im Vergleich zur Vehikelkontrolle auf den 1,5fachen Wert ansteigt (EC<sub>1,5</sub>), bestimmt. Zytotoxische Eigenschaften einer Testsubstanz werden parallel dazu mit Hilfe des MTT-Assays bestimmt (Emter et al., 2010). Eine Substanz wird dabei als positiv gewertet, wenn die Schwelle des EC<sub>1,5</sub> in mindestens drei von vier unabhängigen Testungen überstiegen wird, wobei die Zytotoxizität einen Wert von 30 % nicht überschreiten darf (Bauch et al., 2011b; Emter et al., 2010; Natsch et al., 2011). Mit diesem Schwellenwert wurde für die Einstufung als sensibilisierend eine Treffgenauigkeit von 85,1 % im Vergleich mit den tierexperimentellen Daten aus dem LLNA ermittelt (Sensitivität jeweils: 88,4 %; Spezifität jeweils: 79,2 %; n = 67) (Emter et al., 2010). Eine ähnliche Treffgenauigkeit (85 %) wurde auch sowohl im Vergleich zu Humandaten und den tierexperimentellen Daten aus dem LLNA berichtet (n = 46) (Bauch et al., 2011a).

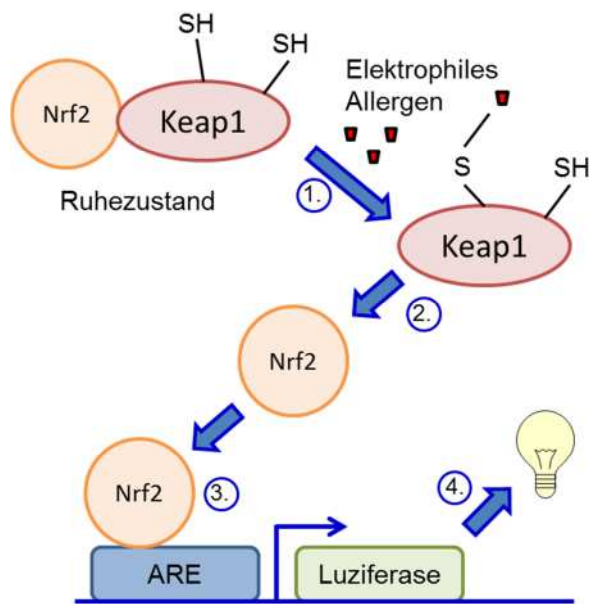


Abbildung 2. Keap1-Nrf2-ARE-Signalweg

Der Transkriptionsfaktor Nrf2 liegt im Ruhezustand gebunden an das Repressorprotein Keap1 vor. 1.) Ein elektrophiles Allergen bindet kovalent an den Repressor. 2.) Nrf2 dissoziiert von Keap1 ab und wandert in den Zellkern. 3.) Im Zellkern bindet es an das antioxidative, responsive Element (ARE) in der Promotorregion des Luziferasegens. 4.) Nach erfolgter Induktion kann die Aktivität des Luziferaseenzym als Lichtentwicklung gemessen werden. Adaptiert aus (Natsch, 2010).

Die KeratinoSens Assay wird neben der beschriebene Messung der Amin- bzw. Thiol-Reaktivität (siehe DPRA unter 1.3.2.1) von Neves et al. (2011) als vielversprechendste Methode genannt, um den Tierversuch zur Charakterisierung sensibilisierender Chemikalieneigenschaften durch mechanistisch basierte *in vitro* Versuche zu ersetzen.

#### – Validierung

Der KeratinoSens™ Assay wurde inklusive anderer Tests im Rahmen einer Testbatterie vorgeschlagen als Ersatz für *in vivo* Versuche zur Einstufung bezüglich hautsensibilisierender Substanzeigenschaften. Es wurden von COLIPA Ringversuche durchgeführt und der Test befindet sich im europäischen Zentrum zur Validierung von Alternativmethoden (ECVAM<sup>17</sup>) in der Prävalidierungsphase III (Aeby et al., 2010; Bauch et al., 2011b; Natsch et al., 2011).

#### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Bisher wurde keine definitive Anwendungsdomäne ausgewiesen (Bauch et al., 2011b). Vor dem Hintergrund der hier relevanten Signalwege finden sich die verlässlichsten Ergebnisse für hautsensibilisierende Substanzen mit elektrophilen Eigenschaften. Metalle oder nukleophile Allergene werden („Thiol-Allergene“) weniger gut erkannt werden (Natsch, 2010). Insgesamt wird die Anwendungsdomäne jedoch als relativ breit von den Testentwicklern angesehen, mit der Einschränkung gegenüber einigen Pro-Haptenen und Chemikalien, die ausschließlich mit Amin-Resten interagieren (z.B. Anhydride; Emter et al., 2010; Natsch und Emter, 2008; Neves et al., 2011).

<sup>17</sup> Siehe <http://ecvam.jrc.it/>

– **Vorteile**

Die Relevanz des untersuchten Signalwegs bezüglich Sensibilisierung konnte bereits *in vivo* mit Hilfe von Nrf2-defizienten Mäusen nachgewiesen werden (Natsch et al., 2009).

Die Daten (hauptsächlich EC1,5, aber auch I<sub>max</sub>) zeigen eine gute Korrelation mit den Ergebnissen aus dem LLNA und Humandaten Die Wirkstärkenbetrachtung scheint demnach möglich, steckt aber immer noch in einer Entwicklungsphase (Bauch et al., 2011a; Bauch et al., 2011b; Natsch und Emter, 2008).

Von den Autoren des ARE-Assays (dem Vorläufertest des KeratinoSens; Natsch et al., 2009) wurde folgende Zuordnung, basierend auf der Einteilung zur Wirkstärkenbetrachtung der LLNA-Daten nach Kimber et al. (2003), vorgeschlagen:

Vorliegendes Projekt	EC1,5 im ARE Assay [µM]	I <sub>max</sub> im ARE Assay [xfach Induktion]	DPRA [% Depletion]	LLNA [EC3 in %]
<b>Kategorie GMS</b> geringe bis mäßige hohe Sensibilisierungs- stärke	≥1000	<1,5	<15	≥ 30 (schwach)
	100 – 1000	1,5 – <3	15 – <40	10 – <30 (schwach)
<b>Kategorie HS</b> hohe Sensibilisierungs- stärke	25 – <100	3 – <6	40 – <65	1 – <10 (moderat)
	6.25 – <25	6 – <12	65 – 90	0,1 – <1 (stark)
	<6,25	≥12	> 90	< 0,1 (extrem)

Diese Einteilung kann nicht generell auf das optimierte Protokoll des KeratinoSens™ Assays (Emter et al., 2010) übertragen werden. Jedoch ist im Test mit dem Keratinozytenhintergrund ebenfalls ein Trend zu erkennen: starke Allergene induzieren die Luziferaseaktivität bei geringeren Konzentrationen als schwächere. Um die Aussagekraft zu verbessern sollte den Testentwicklern zufolge die Dosis-Wirkungsbeziehung (d.h. EC1,5; EC2 und EC3) zusammen mit den Peptidreaktivitätsdaten, Daten zur Bioverfügbarkeit und Strukturhinweisen auf verschiedene Eigenschaften (z.B. Kapazität, Proteine quer zu vernetzen (cross-linking), Pro-Haptene) beurteilt werden. Zudem sollten zunächst innerhalb von einer Substanzklasse (Struktur-ähnliche) Vergleiche der Wirkstärke angestellt werden.

Die hohe Spezifität des Assay (d.h. wenig „true false positives“) stellt einen Vorteil dar, da bei Integration in eine Testbatterie dieses ein essentielles Kriterium sein sollte. Bei Verwendung mehrerer Tests mit geringer Spezifität würde sonst quasi jede getestete Chemikalie als Allergen identifiziert werden (Natsch und Emter, 2008). Die Spezifität kann durch Auswählen eines höher angesiedelten Schwellenwertes, z.B. EC2 oder EC3 anstelle von EC1,5, auf Kosten der Sensitivität, jedoch bei gleichbleibender Treffgenauigkeit, verbessert werden. Dies wird von den Autoren im



Falle der Inklusion des Testes in eine Testbatterie vorgeschlagen (Emter et al., 2010).

### – Einschränkungen

Nur Substanzen, die eine signifikante Luziferase-Induktion bei nicht zytotoxischen Konzentrationen zeigen, sollten als positiv gewertet werden, da eventuell auch eine reizende Substanz im Bereich der Zytotoxizität ein Signal auslösen kann (siehe auch Anwendungsdomäne; Ball et al., 2011; Emter et al., 2010).

Die erzielten Ergebnisse sollten dabei auch immer in Zusammenhang mit den erzielten Resultaten aus anderen Untersuchungen gesehen werden. So zeigt das starke Allergen Phthalsäureanhydrid keine Aktivierung des KEAP1-Nrf2-ARE Signalwegs und wird im KeratinoSens™ Test nicht erkannt. Der Grund wird aus den Ergebnissen des DPRA deutlich. Das Phthalsäureanhydrid zeigt eine Substratspezifität und reagiert nur mit Lysinresten (Gerberick et al., 2007) und nicht mit den Keap1-Cysteinresten (Natsch et al., 2009). Die substanzspezifische Reaktivität sollte demnach immer betrachtet werden, wenn der KeratinoSens™ Assay bewertet wird. Keap1 ist sozusagen ein zellulärer „Reaktivitätssensor“, spezifisch für die Reaktivität einer Chemikalie gegenüber Cysteinresten. Chemikalien, die ausschließlich Lysin-Reaktiv sind, können nicht bewertet werden (Natsch, 2010).

Ethylendiamin zeigt beispielsweise eine ähnliche Dosis–Wirkungsbeziehung wie das wahrscheinlich entstehende Glyoxal. Ethylendiamin (starkes Allergen) würde wahrscheinlich im KeratinoSens™ Assay allein unterschätzt, da nicht allein die Aktivierung des Signalweges zur Wirkstärke beiträgt, sondern eventuell auch dessen potentielle Eigenschaft, Proteine mit einander zu vernetzen (cross-linking). Dies stellt laut Enoch et al. (2009) ein wesentliches Charakteristikum starker Allergene dar.

Im Vorgängertest des KeratinoSens™, dem ARec32 Test, werden Michael Akzeptoren als besonders stark sensibilisierende Substanzen vorhergesagt. Werden alle Chemikalien miteinander verglichen, so erfolgt ein spezifischer Bias in Richtung der Michael Akzeptoren. Die sensibilisierende Wirkstärke von Substanzen anderer chemischer Reaktivitätsgruppen wird womöglich unterschätzt. Die Bewertung sollte, falls möglich, immer relativ innerhalb einer Gruppe mit ähnlicher chemischer Reaktivität/mechanistischen Domänen durchgeführt werden. Die Wirkstärkenbetrachtung ist durchaus möglich, sollte aber nicht nur auf diesem Test beruhen (Natsch und Emter, 2008). Substanzen, die zur Klasse der Michael Akzeptoren zählen, werden im KeratinoSens™ Assay in ihrer Wirkstärke meist überschätzt (Emter et al., 2010).

Die Zellen besitzen zwar eine metabolische Aktivität, diese ist aber potenziell für verschiedene Pro–Haptene nicht ausreichend zur Aktivierung. Dadurch kann es möglicherweise zu falsch negativen Aussagen kommen (Natsch und Emter, 2008).

### – Einfluss Reizung

Das reizend wirkende Natriumdodecylsulfat (NDS) zeigt im KeratinoSens™ ein negatives Ergebnis. Dies verdeutlicht an einem Beispiel, dass durch die Messung

von spezifisch für Sensibilisierung gewählten Endpunkten eine inhärente Reizwirkung der Testchemikalie zu vernachlässigen ist (Natsch und Emter, 2008).

#### – Einfluss Vehikel

Das Vehikel ist so zu wählen, dass ein Übermaß an vehikelbedingten zytotoxischen Effekten ausbleibt (Beispiel aus Natsch et al., 2008: max. 0,25–1 % DMSO oder Methylcyanid; Emter et al., 2010: max. 1 % DMSO).

#### – Nicht verwendete ähnliche Tests

Von Ade und Kollegen (2009) wurde ein Test an primären dendritischen Zellen, sowie an THP-1 Zellen (Details zum Zelltyp siehe 1.3.4.2) vorgestellt. Innerhalb deren Versuchsvorschrift wird ebenfalls die Aktivierung des Keap1-Nrf2-ARE-Signalweges untersucht. Es wird jedoch kein Reporter gen zur Bestimmung herangezogen, sondern das Maß der Genexpression von ARE abhängigen Genen (*hmx1* und *nqo1*) mit Hilfe der real-time PCR Methode (mRNA), sowie die Akkumulation von freiem Nrf2-Protein mittels Western Blot Analyse, gemessen. Ein ähnlicher Ansatz wird auch von Arkusz und Kollegen (2010) verfolgt. Im vorliegenden Projekt werden dieser Ansätze jedoch nicht weiter beobachtet, da mit dem KeratinoSens™ Assay bereits ein Test zur Verfügung steht, der diesen Signalweg abprüft und für den es bereits Ergebnisse für relevante Substanzen aus diesem Projekt gibt (z.B. Butyl-glycidylether). Zudem ist die Validierung des KeratinoSens™ Assay bereits in einem fortgeschrittenen Stadium.

### 1.3.4 Reifung und Migration der dendritischen Zellen

Während der Migration aus der Epidermis in die peripheren Lymphknoten unterlaufen die LZs einen funktionalen Reifeprozess. Sie verlieren die Fähigkeit zur Antigenprozessierung, werden jedoch zu völlig ausdifferenzierten dendritischen Zellen (DCs) die Antigen präsentieren. Verschiedenen Cytokine spielen auch hierbei eine Rolle, v.a. IL-1 $\beta$  und der „granulocyte/macrophage colony stimulating factor“ (GM-CSF). Zudem verändert sich die Expression spezifischer Zelloberflächenmarker der Zellen (unterschiedliches Set an Chemokin Rezeptoren; z.B. steigen CD40, CD83, CD86, MHC I/II und CCR7 an). Dies ist beispielsweise für die zielgerichtete Wanderung in die peripheren Lymphknoten wichtig (Basketter und Kimber, 2010a).

Zellbasierte Tests, die die Reifung der dendritischen Zellpopulation messen, werden in den folgenden Abschnitten vorgestellt.

### 1.3.4.1 MUSST (Myeloid U937 Skin Sensitisation Test)

#### – Versuchsvorschrift

(Python et al., 2007)

#### – Beschreibung, Vorgehen

Zellen der humanen Monozytenzelllinie U937 (ATCC<sup>®</sup> Nummer: CRL-1593.2<sup>™</sup>; humane myeloische Leukämiezelllinie)<sup>18</sup> differenzieren unter bestimmten Kulturbedingungen (Vorhandensein von IL-4, etc.) zu Phänotyp, der dendritischen Zellen ähnlich ist aus („dendritic cell-like“). So ausdifferenzierte Zellen werden im 12-Lochplattenformat ausgesät und mit der zu testenden Chemikalie für 24, 48 und 72 Stunden behandelt (jeweils ohne das Zellkulturmedium zu wechseln). Der durchflusszytometrisch erfasste Endpunkt der Wahl ist die Expression des Oberflächenmarkers CD86. Eine Induktion von > 50 % gegenüber den Kontrollzellen, bei einer nicht zytotoxischen Konzentration, wird als positives Testergebnis gewertet (d.h. 1,5fach erhöht; Schwellenwert für Zytotoxizität: 85 % lebende Zellen). Im ursprünglichen Testverfahren wird parallel dazu die IL-1 $\beta$  sowie die IL-8 Genexpression mittels quantitativer real time reverser Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) ermittelt. Die Ergebnisse einer Testchemikalie zu den drei Aktivierungsmarkern werden zu allen Zeitpunkten bestimmt und verglichen. Zeigen mindestens zwei der drei Marker eine entsprechende, biologische Antwort, wird die Chemikalie als potentiell hautsensibilisierend angesehen (Python et al., 2007). Für die Validierung des Tests innerhalb einer Testbatterie, die als Ersatz für die zur Einstufung notwendigen Tierversuche dienen soll, wird nur noch die Expression von CD86 nach 48 stündiger Substanzexposition gemessen und eine Substanz als positiv, d.h. sensibilisierend, bewertet, wenn die Expression im Vergleich zur Kontrolle mindestens 1,2fach erhöht ist (Bauch et al., 2011b). Mit diesem Schwellenwert wurde für die Einstufung als sensibilisierend eine Treffgenauigkeit von 83 % im Vergleich zu Humandaten ermittelt (Sensitivität: 75 %; Spezifität: 100 %; n = 46), bezogen auf experimentelle Daten aus dem LLNA lag die Treffgenauigkeit bei 78 % (Sensitivität: 72 %; Spezifität: 93 %; n = 46) (Bauch et al., 2011a).

#### – Validierung

Der MUSST wurde inklusive anderer Tests im Rahmen einer Testbatterie vorgeschlagen als Ersatz für *in vivo* Versuche zur Einstufung bezüglich hautsensibilisierender Substanzeigenschaften. Es wurden von COLIPA Ringversuche durchgeführt und der Test befindet sich im europäischen Zentrum zur Validierung von Alternativmethoden (ECVAM<sup>19</sup>) in der Prävalidierungsphase III (Aeby et al., 2010; Bauch et al., 2011b; Maxwell et al., 2011).

---

<sup>18</sup> <http://www.lgcstandards-atcc.org/>

<sup>19</sup> Siehe <http://ecvam.jrc.it/>

### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Es wurde bisher noch keine definitive Anwendungsdomäne präsentiert (Bauch et al., 2011b).

### – Vorteile

Im Gegensatz zu Messung oben genannter Parameter an Monozyten aus menschlichem Blut (hPBMC; im Einsatz zur Messung der Aktivierung von nativen/unreifen dendritischen Zellen) bietet der Einsatz von humanen Monozytenzelllinien verschiedene Vorteile. Die relativ teure Präparation der primären Monozyten kann umgangen werden und die Unterschiede, welche verschiedene Spender mit sich bringen, sind minimiert. Durch die Standardisierung kann ein höchstmögliches Maß an Reproduzierbarkeit erreicht werden (Aeby et al., 2007; Aeby et al., 2004).

Die Messung des Oberflächenmarkers CD86 und der Genexpression von IL-1 $\beta$  stellen ein robustes Maß dar. Dies sind zwei signifikante Parameter in der Aktivierung von dendritischen Zellen, die sowohl im Tierversuch (Maus) als auch beim Menschen anerkannt sind. Die langjährige Bekanntheit führt dazu, dass sie sich zu einem beliebten Endpunkt in der Entwicklung von *in vitro* Tests entwickelten. Somit erschließt sich eine Vielzahl von Publikationen, sowie die Möglichkeit des Vergleichs der damit erzielten Ergebnisse (Aeby et al., 2004).

Die Daten zeigen eine gute Korrelation mit den Ergebnissen aus dem LLNA und Humandaten, die Wirkstärkenbetrachtung ist also prinzipiell möglich, befindet sich aber noch in der Entwicklung (Bauch et al., 2011a; Bauch et al., 2011b).

### – Einschränkungen

Generell muss bei den in wässrigem Milieu angesiedelten zell-basierten Tests die Wasserlöslichkeit der Testsubstanz betrachtet werden. Substanzen mit geringer Wasserlöslichkeit können nur eingeschränkt getestet werden (Python et al., 2007).

Die isolierte Testbetrachtung ermöglicht keine schlussendliche Bewertung des sensibilisierenden Potentials einer Testsubstanz, da die Barriere-freie Testmethode die *in vivo* Situation nur unzureichend genau wiedergibt. Die Bioverfügbarkeit muss betrachtet werden (Aeby et al., 2004; Python et al., 2007).

Letztlich dient der Test bisher nur zur Identifikation der sensibilisierenden Eigenschaft einer Chemikalie, jedoch bisher nicht zur Wirkstärkenbeurteilung. Dies wird ähnlich wie bei anderen Tests versucht über eine Korrelation mit Daten aus dem LLNA oder dem GPMT zu erreichen, birgt jedoch die Unsicherheit, dass für den Menschen falsche Annahmen zu bestimmten Substanzen aus dem Tierversuch übernommen werden.

### – Einfluss Reizung

Durch die Messung von spezifisch für Sensibilisierung gewählten Endpunkten ist eine potentiell inhärente Reizwirkung der Testchemikalie zu vernachlässigen. Jedoch wurde beispielsweise für Natriumlaurylsulfats (NLS), das oft als Modell für die Reizwirkung verwendet wird, eine unerwartete Hochregulation der CD86 Expression

gefunden. Diese wurde auf die oberflächenaktive Wirkung zurückgeführt, konnte aber nicht gänzlich geklärt werden. Bei der 72 h Messung wird ein leichter Anstieg der IL-8 Expression bei den als reizend geltenden Substanzen gefunden. Dies wird als Hinweis auf eine Limitierung der maximalen Testdauer auf 72 h für den Endpunkt IL-8 als sensibilisierungsspezifischer Marker gewertet (Python et al., 2007).

#### – Einfluss Vehikel

Das Vehikel ist so zu wählen, dass ein Übermaß an zytotoxischen Effekten ausgelöst durch das Vehikel ausbleibt (Beispiel aus Python et al., 2007: max. 0,25 % DMSO).

#### 1.3.4.2 h-CLAT (Human Cell Line Activation Test)

Die Oberflächenmarker CD86 und CD54 sind spezifisch für die Aktivierung dendritischer Zellen (z.B. Langerhans-Zellen der Haut; Aeby et al., 2010).

#### – Versuchsvorschrift

(Ashikaga et al., 2006; Sakaguchi et al., 2009; Sakaguchi et al., 2006)

#### – Beschreibung, Vorgehen

THP-1 Zellen sind humane Monozyten (ATCC® Nummer: TIB-202™; Ursprung: akute Monozyten-Leukämie)<sup>20</sup>, bei denen eine Ausdifferenzierung in dendritische Zellen möglich ist („dendritic cell-like“). Die Zellen werden zunächst für 48 bis 72 Stunden kultiviert. Nach einer 24-stündigen Substanzbehandlung werden die aus Monozyten gereiften dendritischen Zellen für kurze Zeit mit einem FcR Blocking Reagenz inkubiert. Dieser Schritt erhöht die Spezifität der anschließenden Immunfärbung (er ist notwendig, um die unerwünschte Bindung der Antikörper an den Fc-Rezeptor, der von Monozyten etc. exprimiert wird, zu minimieren). Die behandelten Zellen werden dann in drei Aliquots aufgeteilt und es folgt jeweils eine Färbung für die Isotypenkontrolle (mouse-IgG1), oder für die Oberflächenmarker CD86 (ein Co-stimulierendes Protein) oder CD54 (ein Adhäsionsprotein). Im Durchflusszytometer wird neben der relativen Intensität der Markerproteine behandelter Zellen im Vergleich zu Kontrollzellen, ebenfalls die Anzahl lebender Zellen bestimmt (mittels Propidiumiodid Ausschluss). Als ursprünglicher Read-out um eine Testchemikalie als positiv zu werten, wird eine Induktion von  $\geq 50\%$  der Expression des Oberflächenmarkers CD86 (d.h. EC150) und/oder eine Induktion von  $\geq 100\%$  (d.h. EC200) von CD54 jeweils relativ zu Kontrollzellen in mindestens zwei von drei unabhängigen Experimenten herangezogen. Die Zytotoxizität darf dabei die Grenze von 50 % nicht überschreiten. Getestet an 21 Chemikalien ergibt sich eine Treffgenauigkeit von 93 % verglichen mit den Ergebnissen aus dem LLNA. Die Studienautoren beschreiben zudem eine gute Korrelation der Ergebnisse aus dem h-CLAT mit den Wirkpotenzdaten aus dem LLNA (EC3 Werte), die eine Einstufung in verschiedene Wirkstärkeklassen erlauben würden (Sakaguchi et al., 2009). Eine spätere Veröffentlichung nennt unter Verwendung von 100 zu bewertenden

---

<sup>20</sup> <http://www.lgcstandards-atcc.org/>

Chemikalien noch eine Treffergenauigkeit von 84 % im Vergleich zu LLNA Daten (Ashikaga et al., 2010). Eine weitere Veröffentlichung derselben Autorengruppe zeigt bei Vergleich der vorhergesagten sensibilisierenden Wirkung im h-CLAT mit Humandaten eine Treffergenauigkeit von 83 % (Nukada et al., 2011).

Die Bewertung bei Bauch (2011a; 2011b) folgt einem anderen Schema. Hier wird eine Testchemikalie positiv gewertet bei mindestens 1,5facher Induktion der Expression von CD86 und/oder CD54. Mit diesem Schwellenwert wurde für die Einstufung als sensibilisierend eine Treffergenauigkeit von 83 % sowohl im Vergleich zu Humandaten als auch den tierexperimentellen Daten aus dem LLNA ermittelt (Sensitivität jeweils: 81 %; Spezifität jeweils: 86 %; n = 46).

#### – Validierung

Der h-CLAT wurde inklusive anderer Tests im Rahmen einer Testbatterie vorgeschlagen als Ersatz für *in vivo* Versuche zur Einstufung bezüglich hautsensibilisierender Substanzeigenschaften. Es wurden von COLIPA Ringversuche durchgeführt und der Test befindet sich im europäischen Zentrum zur Validierung von Alternativmethoden (ECVAM<sup>21</sup>) in der Prävalidierungsphase III (Aeby et al., 2010; Bauch et al., 2011b; Maxwell et al., 2011).

#### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Bisher wurde keine Anwendungsdomäne ausgewiesen (Bauch et al., 2011b). Es liegen jedoch Hinweise vor, dass schwache Allergene eventuell schlechter erkannt werden (Nukada et al., 2011; Sakaguchi et al., 2010). Ebenfalls kritisch sind starke Allergene mit einer hohen Zytotoxizität (Beispiel DNBF; persönliche Kommunikation mit H.-W.Vohr, Bayer HealthCare).

#### – Vorteile

Generell bietet der h-CLAT ähnliche Vorteile wie der MUSST. Durch die Verwendung von etablierten Zelllinien wird ein hohes Maß an Standardisierung innerhalb des Tests erreicht und gegenüber der Verwendung von primären dendritischen Zellen die Kosten verringert. Die verwendeten Marker sind geläufig und somit wird die Aussage des Tests generell akzeptiert (Sakaguchi et al., 2009).

Die Daten zeigen eine gute Korrelation mit den Ergebnissen aus dem LLNA und Humandaten, die Wirkstärkenbewertung ist demnach prinzipiell möglich, befindet sich momentan noch in der Entwicklung (Ashikaga et al., 2010; Bauch et al., 2011a; Bauch et al., 2011b; Nukada et al., 2011)

#### – Einschränkungen

Wie in allen zell-basierten Systemen wirkt sich eine geringe Löslichkeit der Testsubstanz auf die Anwendbarkeit des Tests aus. Wie bereits oben erwähnt gibt es im h-CLAT Tendenzen, dass schwache Allergene nicht mit Sicherheit erfasst werden (Sakaguchi et al., 2010). Falsch negative Testergebnisse können sich durch das zu

---

<sup>21</sup> Siehe <http://ecvam.jrc.it/>

geringe Ausmaß an metabolischer Aktivität in den THP-1 Zellen und die oben erwähnte schlechte Löslichkeit der Testchemikalie ergeben (Sakaguchi et al., 2009).

Die isolierte Testbetrachtung ermöglicht keine abschließende Bewertung des sensibilisierenden Potentials einer Testsubstanz, da die Barriere-freie Testmethode die *in vivo* Situation nur unzureichend genau wiedergibt. Die Bioverfügbarkeit muss betrachtet werden (Aeby et al., 2004).

Letztlich dient der Test bisher nur zur Identifikation der sensibilisierenden Eigenschaft einer Chemikalie. Die Wirkstärkenbeurteilung anhand der Korrelation mit Daten aus dem LLNA liefert erste Ergebnisse mit einer positiven Tendenz. Die Studienautoren beurteilen die Ergebnisse jedoch noch vorsichtig, da noch weitere Chemikalien getestet und verglichen werden müssen und auch andere Variablen (wie z.B. Bioverfügbarkeit etc.) in die Betrachtung miteinbezogen werden müssen (Sakaguchi et al., 2009). Zudem birgt dieses Vorgehen die Unsicherheit, dass für den Menschen falsche Annahmen zu bestimmten Substanzen aus dem LLNA in die Interpretation der *in vitro* Tests übernommen werden. Mittlerweile wurden weitere Testungen durchgeführt und Vergleiche mit LLNA und Humandaten angestellt. Die positive Tendenz wird darin bestätigt (Ashikaga et al., 2010; Nukada et al., 2011).

Die Beurteilung „falsch Positiver“ im h-CLAT beim Vergleich mit LLNA und Humandaten muss genau betrachtet werden, da im LLNA und bei humanen Versuchen eventuelle nicht alle sensibilisierenden Substanzen erkannt werden und nur zusätzliche Daten und Humanerfahrungen solche Fehleinschätzungen aufdecken können (Nukada et al., 2011).

#### – Einfluss Reizung

Durch die Messung von spezifisch für Sensibilisierung gewählten Endpunkten ist eine potentiell inhärente Reizwirkung der Testchemikalie zu vernachlässigen.

#### – Einfluss Vehikel

Das Vehikel ist so zu wählen, dass ein Übermaß an zytotoxischen Effekten ausgelöst durch das Vehikel ausbleibt (Beispiel aus Sakaguchi et al., 2009: max. < 0,2 % DMSO).

### 1.3.4.3 VITASENS®

#### – Versuchsvorschrift

(Hooyberghs et al., 2008; Lambrechts et al., 2010)<sup>22</sup>

#### – Beschreibung, Vorgehen

Neben den beschriebenen Messungen spezifischer Oberflächenmarker (siehe 1.3.4.1 und 1.3.4.2) bietet sich auch die Möglichkeit, mittels Microarray-Analyse das

---

<sup>22</sup> Für weitere Information: N. Lambrechts, Flemish Institute Technology Research VITO NV, Environmental Risk & Health Unit, Boeretang 200, B-2400 Molecular, BELGIUM.

Genexpressionsprofil von dendritischen Zellen nach Aktivierung durch ein Allergen zu charakterisieren und spezifische Markergene zu bestimmen. Dieser Ansatz wird von vielen verfolgt (z.B. Gildea et al., 2006; Ryan et al., 2004; Schoeters et al., 2007). Im vorgestellten Test wird die Genexpression zweier identifizierter Markergene gemessen, sowie die Beurteilung des zytotoxischen Potentials kombiniert und gezielt genutzt, um die Wirkstärke identifizierter Kontaktallergene zu beurteilen. Dazu werden aus humanem Nabelschnurblut über Dichtegradientenzentrifugation Monozyten präpariert. Daraus werden CD34<sup>+</sup> Vorläuferzellen mit immunmagnetischen Methoden selektiert. Diese Vorläuferzellen differenzieren unter bestimmten Kulturbedingungen (Vorhandensein von IL-4, etc.) zu einem Phänotyp aus, der dendritischen Zellen ähnlich ist. Die so gewonnenen unreifen dendritischen Zellen werden für 6 Stunden mit der Testchemikalie inkubiert. Die verwendete Konzentration wird dabei anhand des zytotoxischen Potentials der Testchemikalie bemessen. In einem Vorversuch wird diejenige Konzentration bestimmt, die nach 24 stündiger Inkubation eine 20%ige Reduktion lebender Zellen im Vergleich zu Vehikelkontrollzellen induziert (IC 20). Bei diesem Maß an Zytotoxizität, die ebenfalls aktivierend auf die DCs einwirkt, besteht laut den Studienautoren die beste Vorhersagekraft zur Wirkstärke der Testsubstanz (Lambrechts et al., 2010). Aus der Vorgängerstudie ist bekannt, dass die Genexpression von *CREM* („cyclic adenosine monophosphate-responsive element modulator“; codiert für einen Transkriptionsfaktor) und *CCR2* („chemotactic protein–1 receptor“; Oberflächenrezeptor) die beste Möglichkeit darstellt, um sensibilisierende von nicht sensibilisierenden Agenzien zu unterscheiden. Man fand eine Treffgenauigkeit von 89 % (Spezifität: 97 %; Sensitivität: 82 %; n = 21; Hooyberghs et al., 2008). Im vorliegenden Test wird also deren Expression bei der IC20 der Testsubstanz mittels real-time RT-qPCR gemessen. Um dabei die Donorvariabilität zu minimieren, werden die Messungen an Zellen von mindestens drei unterschiedlichen Quellen gemessen und die Ergebnisse gemittelt. Mittels linearer Regression, unter Verwendung von M-Schätzern, wurde eine eindeutige Korrelation zwischen den bestimmten Endpunkten im VITOLENS<sup>®</sup> und der beobachteten Wirkstärke im LLNA gefunden.

### – Validierung

Der VITOLENS<sup>®</sup> Test wurde im belgischen „Centre for Advanced Research & Development on Alternative Methods“ (CARDAM) entwickelt<sup>23</sup> und soll im Bereich R&D der kosmetischen und pharmazeutischen Industrie zunächst als Screening-Test auf sensibilisierende Eigenschaften neuer Substanzen angewandt werden. Der Test wurde bereits 2008 zur Validierung bei ECVAM eingereicht (Spielmann et al., 2010; Zuang et al., 2010).

### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Von den Testentwicklern wurde bisher keine Anwendungsdomäne spezifiziert. Die Entwicklung wurde jedoch für den R&D Bereich der kosmetischen und pharmazeutischen Industrie durchgeführt (Lambrechts et al., 2010).

---

<sup>23</sup> Mit finanzieller Unterstützung durch das EU geförderte Sens-it-iv Programm



#### – Vorteile

Für 13 der 15 bisher untersuchten Chemikalien konnte eine klare lineare Korrelation zwischen den gemessenen Parametern ( $x$ -fache Induktion *CREM/CCR2* Genexpression und IC<sub>20</sub>) und der sensibilisierenden Wirkstärke im LLNA gefunden werden (Lambrechts et al., 2010). Die identifizierten Marker unterliegen intensiver mechanistischer Untersuchung, um deren Rolle in der Aktivierung dendritischer Zellen besser zu verstehen (Lambrechts et al., 2011).

#### – Einschränkungen

Bei der Bewertung von Substanzen mit geringer Wasserlöslichkeit kann es zu einer Unterschätzung der *in vivo* Wirkstärke kommen, da die *in vitro* Testung im wässrigem Milieu stattfindet. Weiterhin können Substanzen, die eine sehr geringe IC<sub>20</sub> aufweisen (d.h. extrem zytotoxisch; Beispiel aus der Publikation Bis(dimethylthiocarbamoyl)-disulfid mit 0,024 µg/ml), eventuell nicht bewertet werden. Bisher wurde nur eine geringe Anzahl an Substanzen getestet, daher ist die Robustheit des Systems, sowie die Anwendungsdomäne fraglich (siehe auch Validierung; Lambrechts et al., 2010).

#### – Einfluss Reizung

Durch die Messung von spezifisch für Sensibilisierung gewählten Endpunkten ist eine potentiell inhärente Reizwirkung der Testchemikalie zu vernachlässigen. Zudem werden im vorliegenden Test zytotoxische Effekte nur eingeschränkt erlaubt (IC<sub>20</sub>), sodass keine unspezifischen Effekte ausgelöst werden sollten.

#### – Einfluss Vehikel

Das Vehikel ist so zu wählen, dass ein Übermaß an zytotoxischen Effekten ausgelöst durch das Vehikel ausbleibt (die Experimentatoren verwenden beispielsweise max. 0,05 % DMSO).

### 1.3.4.4 Loose-fit coculture sensitisation assay (LCSA)

#### – Versuchsvorschrift

(Schreiner et al., 2007; 2008; Wanner et al., 2010)

#### – Beschreibung, Vorgehen

Der LCSA beruht auf der Kokultur sich nicht-ausdifferenzierender Keratinozyten und Monozyten, die sich zu einem Phänotyp ähnlich dendritischer Zellen ausdifferenzieren (sog. „dendritic cell-related cells“ (DCrc); CD11c<sup>+</sup>; HLA-DR<sup>+</sup>; CD86<sup>+</sup>; CD14<sup>-</sup>; CD1a<sup>-</sup>; CD1c<sup>-</sup>; Langerin<sup>-</sup>). Die Keratinozyten bilden eine Einzelzellschicht, wohingegen die dendritischen Zellen frei schwebend im Medium vorliegen. Dieses zelluläre System trägt den Namen „Loose-fit coculture-based Sensitization assay“ (LCSA; Schreiner et al., 2007; Schreiner et al., 2008). Die Keratinozyten werden aus humaner Spenderhaut gewonnen und die Monozyten über Dichtegradientenzentrifugation aus Humanblut isoliert. Zunächst werden die präparierten Keratinozyten im

12-Lochplattenformat ausgesät. Nach Erreichen einer 50%igen Konfluenz des Zellrasens werden die Monozyten zugegeben. Nach 2 stündiger Adhäsionsphase beginnt die Inkubation mit exogenen Faktoren, die zur Ausdifferenzierung der Monozyten zu den DC-Ähnlichen führen (IL-4, TGF- $\beta$ ). Nach insgesamt 2 Tagen beginnt die Substanzexposition (5–7 Konzentrationen). Nach 48 stündiger Expositionsphase werden die frei im Überstand schwimmenden Zellen abgenommen und auf die Expression des Oberflächenzellmarkers CD86 hin untersucht. Die Bestimmung erfolgt im Durchflusszytometer, angegeben wird die relative mittlere Fluoreszenzintensität (MFI; d.h. MFI behandelter Zellen / MFI der Vehikelkontrolle). Ebenfalls durchflusszytometrisch ermittelt wird parallel die Anzahl lebender Zellen (7-Amino-Actinomycin Aufnahme). Zusätzlich werden im Überstand die Spiegel von IL-6 und MIP-1 $\beta$  („macrophage inflammatory protein 1- $\beta$ ; CCL4) bestimmt. Das Ausgabeformat für die CD86 Expression ist dabei die Konzentration, die zur halbmaximalen Markerinduktion benötigt wird. Dieses Maß kann zur Bewertung der Wirkstärke herangezogen werden. Um als Hautallergen zu gelten, muss eine Substanz zudem eine konzentrationsabhängige Erhöhung der CD86 Expression zeigen (Schreiner et al., 2008; Wanner et al., 2010).

#### – Validierung

Der Test findet international bereits Anerkennung (Martin et al., 2010). Laut einer Präsentation von Peiser<sup>24</sup> (BfR, gehalten im Rahmen einer Fortbildungsveranstaltung für den Öffentlichen Gesundheitsdienst am 23.3.2011 zur Sensibilisierungstestung und Regulation) soll die Prävalidierung des ZEBET-geförderten Tests zwischen 2009 und 2012 beginnen. Über den Validierungsstatus liegt keine weitere Information vor.

#### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Von den Testentwicklern wurde bisher keine Anwendungsdomäne spezifiziert.

#### – Vorteile

Ein Vorteil gegenüber den bisher beschriebenen DC-Aktivierungstests (siehe 1.3.4.1–1.3.4.3) ist, dass im hier vorgestellten System eine Kokultur zwischen den die Migration beeinflussenden Keratinozyten und den zu untersuchenden dendritischen Zellen vorliegt. Dies stellt die *in vivo* Situation besser dar. Die DCrc besitzen zudem metabolische Kapazität und erzielen für verschiedene Pro-Haptene adäquate Ergebnisse.

Die bisher untersuchten Allergenen (n = 8) wurden nach Erweiterung der Ausleseparameter durch den Anstieg mindestens eines Markers (MIP-1 $\beta$ , IL-6 und/oder CD86) korrekt als positiv getestet. Trotz einer Vielzahl von Spendern (Keratinozyten und Monozyten) erweist sich der Test dabei bisher als robust (Schreiner, 2010; Schreiner et al., 2008).

---

<sup>24</sup> [http://www.bfr.bund.de/cm/343/sensibilisierungstestung\\_und\\_regulation.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/sensibilisierungstestung_und_regulation.pdf)

Der Vergleich der Konzentration zur halbmaximalen CD86 Expression mit den Daten aus dem LLNA (EC3 Werte) zeigt teilweise eine gute Korrelation. Eine Einstufung in verschiedene Wirkstärkekategorien kann anhand der benötigten Konzentration [ $\mu\text{M}$ ] zur Induktion der halbmaximalen CD86 Expression folgendermaßen durchgeführt werden (Wanner et al., 2010):

Kategorie im Projekt	Kategorie der Testentwickler	Sensibilisierungsstärke: Konz. zur halbmaximalen CD86 Expression [ $\mu\text{M}$ ]	Irritationsstärke: Konz., die zu 50 % Zytotoxizität im Vgl. zur Kontrolle führt [ $\mu\text{M}$ ]
HS	Extrem	< 10	
	Stark	10 – < 50	< 50
GMS	Mäßig	50 – < 100	50 – 1000
	Schwach	$\geq$ 100	> 1000

#### – Einschränkungen

Die Barriere-freie Testmethode spiegelt die *in vivo* Situation nur unzureichend genau. Es kann zu einer Überschätzung des allergenen Potentials von Substanzen mit geringer Hautdurchlässigkeit kommen. Die Bioverfügbarkeit sollte dementsprechend immer in Kombination betrachtet werden (Schreiner, 2010).

Für CD86 dürfen dabei nur Werte bei geringer Zytotoxizität bewertet werden, wohingegen dies keinen Einfluss auf den Ausleseparameter IL–6 besitzt.

Der Ausleseparameter MIP–1 $\beta$  wurde verwendet, um die Sensitivität des Tests zu erhöhen, für Allergene mit niedrigem Molekulargewicht scheint er jedoch nicht spezifisch (Schreiner et al., 2008).

#### – Einfluss Reizung

Durch die Messung von spezifisch für Sensibilisierung gewählten Endpunkten ist eine potentiell inhärente Reizwirkung der Testchemikalie zu vernachlässigen. Getestete Irritantien (SDS; Zinkchlorid) konnten im vorliegenden Test in keinem der Ausleseparameter einen Anstieg bewirken (Schreiner et al., 2007; 2008).

#### – Einfluss Vehikel

Das Vehikel ist so zu wählen, dass ein Übermaß an zytotoxischen Effekten ausgelöst durch das Vehikel ausbleibt (die Experimentatoren verwenden beispielsweise max. 0,1 % DMSO).

#### 1.3.4.5 Nicht verwendete ähnliche Tests

Die Interaktion zwischen Keratinozyten und dendritischen Zellen beschäftigt weitere Wissenschaftler. Hennen et al. (2011) beschreibt beispielsweise einen Test unter Verwendung zweier Zelllinien. Die Keratinozytenzelllinie HaCaT wird dabei in Kokultur mit den dendritischen Zellen der THP–1 Linie gehalten. Nach Substanzbehandlung waren die Ausleseparameter die Veränderung der Expression der Oberflächenmarker CD86, CD40 und CD54 auf den THP–1 Zellen. Der Test wurde nicht im Detail dargestellt und für die Bewertung im vorliegenden Projekt

herangezogen, da das Hauptaugenmerk der Entwickler auf der Unterscheidung zwischen Irritantien und Allergenen, sowie dem Erkennen und Unterscheiden von Pre- und Pro-Haptenen liegen soll. Weiter soll der Test in der Forschung zum besseren Verständnis der Interaktion zwischen Keratinozyten und dendritischen Zellen und deren Rolle in der allergischen Kontaktdermatitis eingesetzt werden. Eine Einschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke ist in diesem Entwicklungsstadium bisher nicht möglich.

#### **1.3.4.6 Generelle Anmerkung zur Aktivierung und Migration**

Obwohl eine Vielzahl der Tests auf der Testung der Aktivierung von Langerhans-Zellen beruhen, scheint das bislang geltende Paradigma, dass LZ essentiell für die Sensibilisierung sind durch eine neuere Studie mit transgenen Mäusen aufgelöst (Kissenpfeinig und Malissen, 2006). Neben den LZ (dendritische Zellen in der Epidermis) sind unter bestimmten Umständen auch DC-Subpopulationen aus der Dermis an der Hypersensibilisierungsreaktion beteiligt (Basketter und Kimber, 2010a). Dementsprechend ist ein negatives Ergebnis dieser Tests nicht zwangsläufig als Hinweis auf ein fehlendes Sensibilisierungspotential zu deuten. Jedoch sind LZ, wenn vorhanden, ein bestätigt wichtiger Parameter, um die Sensibilisierungsreaktion zu vermitteln (Gerberick et al., 2008). Deswegen sind die hier vorgestellten Tests relevant für das vorliegende Projekt, die Interpretation negativer Testergebnisse sollte aber mit der entsprechenden Vorsicht durchgeführt werden.

#### **1.3.5 T-Zellen-Aktivierung/Proliferation Allergen-spezifischer T-Zellen**

##### **1.3.5.1 CAATC Assay (Contact allergen activated T-cell assay; BMBF-Projekt)**

###### **– Versuchsvorschrift**

(Aliahmadi et al., 2009)

###### **– Beschreibung, Vorgehen**

Mit dem CAATC Assay können die im Projekt als mechanistischer Schritt 4 und 5 markierten Teilprozesse abgeprüft werden. Zunächst wird die Aktivierung, sowie die Migration von dendritischen Zellen beobachtet und zusätzlich deren anschließende Auswirkung auf kokultivierte T-Zell-Subpopulationen (wichtig für die Hypersensibilitätsreaktion sind T-Helfer(Th)-Zellen (CD4<sup>+</sup>) und zytotoxische T-Zellen (CTLs; CD8<sup>+</sup>)) untersucht. Dazu werden "Monocyte-derived Langerhans Cell-like Cells" (MoLCs; primäre Humanzellen) im oberen Teil einer sogenannten Transwell-Platte mit den zu untersuchenden Testchemikalien inkubiert. Wirkt die Testsubstanz aktivierend, kann eine chemotaktische Migration der MoLCs durch die 8 µm Poren des Trägers im Transwell-System quantitativ erfasst werden. Nach erfolgter Migration kann es in Kokultur mit den T-Zellen (CD4<sup>+</sup>; CD8<sup>+</sup>) zu einer zellulären Interaktion beider Zelltypen kommen, die T-Zellen werden dabei in Richtung spezifischer Effektor-T-Zellen polarisiert (v.a. T<sub>H</sub>1- und T<sub>H</sub>17-Zellen). Neben der

Migration der MoLCs wird im „Contact Allergen Activated T–Cell (CAATC)–Assay“ auch eine Oberflächenmarker–Charakterisierung der MoLCs durchflusszytometrisch durchgeführt. Als wichtigste Ausleseparameter werden mittels qRT–PCR die Expression von Effektor–T–Zellsubpopulationsspezifischen Transkriptionsfaktoren (T–bet, ROR $\gamma$ t) und mit Hilfe eines antikörperbasierten Nachweisverfahrens (ELISA) die Zytokin–Konzentration (IFN– $\gamma$ ; IL–17, IL–22) bestimmt (Aliahmadi et al., 2009). Die Ergebnisse werden voraussichtlich als Rate der Anzahl positiver Zellen (%) in ng/ml zwischen substanzbehandelten Zellen und Kontrollzellen ausgegeben<sup>25</sup>.

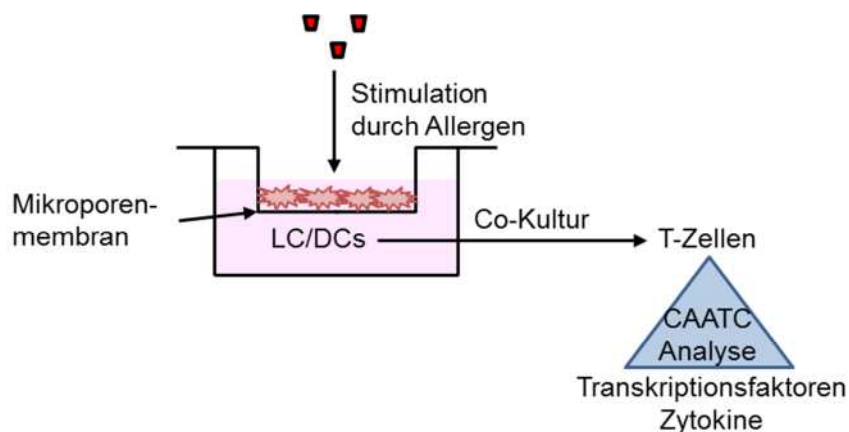


Abbildung 3. Schematischer Versuchsaufbau des CAATC Assays

#### – Validierung

Der Test findet international bereits Anerkennung (Martin et al., 2010). Laut einer Präsentation von Peiser<sup>26</sup> (BfR) soll die Prävalidierung des im BfR entwickelten Tests im Zeitraum zwischen 2015 und 2017 stattfinden. Über den Validierungsstatus liegt keine weitere Information vor.

#### – Testsubstanzen/Anwendungsdomäne

Von den Testentwicklern wurde bisher keine Anwendungsdomäne spezifiziert.

#### – Vorteile

Nach der geplanten Anpassung des Systems (Verwendung der LC-ähnlichen Zelllinie MUTZ-3) stünde ein robustes und tierversuchsfreies *in vitro* Testsystem zur Verfügung, um die Reaktion der tatsächlichen Effektorzellen zu erfassen.

Dem Wissen um die Beteiligung der T<sub>H</sub>17–Effektorzellen (Larsen et al., 2009) wird Rechnung getragen durch die Messung der Zytokine IL–17 und IL–22. Dies stellt

<sup>25</sup> Präsentiert beim LRI Workshop in Brüssel am 2.2.2010 [http://www.cefic-iri.org/uploads/Events%202010/LRI\\_LLNA-Workshop\\_100202-Peiser.pdf](http://www.cefic-iri.org/uploads/Events%202010/LRI_LLNA-Workshop_100202-Peiser.pdf)

<sup>26</sup> [http://www.bfr.bund.de/cm/343/sensibilisierungstestung\\_und\\_regulation.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/sensibilisierungstestung_und_regulation.pdf)

einen guten Ausgangspunkt dar, um eine Allergie Typ IV-Reaktion der Haut *in vitro* nachzubilden<sup>27</sup>.

#### – Einschränkungen

Der Test befindet sich noch in der Entwicklungsphase. Änderungen im Versuchsprotokoll sind sehr wahrscheinlich. So ist beispielsweise eine Anpassung auf eine direkt verfügbare, LC-ähnliche Zelllinie (MUTZ-3) anstelle der primären Humanzellen vorgesehen. Dies birgt die bekannten Vor-, sowie Nachteile der Benutzung immortalisierter Zelllinien im Vergleich zur Primärzellanalyse.

Nach der Identifikation von spezifischen Markern auf den stimulierenden LCs sollen die Ergebnisse aus der qRT-PCR-Analyse der Effektor-T-Zellen zukünftig als Maß für die Aktivierungsstärke der LCs herangezogen werden. Bisher wurde jedoch noch keine Aussage über die Möglichkeit der generellen Wirkstärkenbewertung von Testsubstanzen gemacht.

#### – Einfluss Reizung

Durch die Messung von spezifisch für Sensibilisierung gewählten Endpunkten ist eine potentiell inhärente Reizwirkung der Testchemikalie zu vernachlässigen.

#### – Einfluss Vehikel

Das Vehikel ist so zu wählen, dass ein Übermaß an zytotoxischen Effekten ausgelöst durch das Vehikel ausbleibt. Es werden jedoch keine spezifischen Angaben von den Studienautoren gemacht.

### 1.3.5.2 Nicht verwendete ähnliche Tests

Innerhalb des bereits erwähnten europäischen Programms Sens-it-iv wurde ein *in vitro* T-Zell Priming Assay (TCPA) vorgestellt. Aus Monozyten werden nach *in vitro* Differenzierung unreife dendritische Zellen. Diese werden mit der Chemikalie sowie naiven T-Zellen inkubiert. Nach 5 und 10 Tagen wird die Proliferation der T-Zellen (CD4<sup>+</sup> bzw. CD8<sup>+</sup>) gemessen. An Tag 10 wird die Kultur nochmals mit frischen dendritischen Zellen und der Testchemikalie stimuliert und als Ausleseparameter für die Antigen-spezifische Immunantwort die Zytokinexpression (IFN- $\gamma$ ; TNF- $\alpha$ ) gemessen bzw. Zytokine intrazellulär angefärbt (Dietz et al., 2010; Martin et al., 2010; Seidle und Spielmann, 2011; Spielmann et al., 2010).

Der Ansatz, der von der COLIPA (europäische Kosmetikindustrie) gefördert wird, stellt eine weitere Verfeinerung des Standard T-Zell Proliferationstests dar. Wie oben beschrieben werden primäre Lymphozyten (T-Zellen) aus Humanblut gewonnen und mit bereits zuvor gegenüber einem Allergen exponierten dendritischen Zellen (d.h.

---

<sup>27</sup> Beitrag von Dr. Rustemeyer beim „Informal Brainstorming meeting on skin allergies and research

Needs“ in Brüssel am 9.2.2011 der Europäischen Kommission;  
[http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/docs/ev\\_20110209\\_co03\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/docs/ev_20110209_co03_en.pdf)

Haptenisierung ist bereits erfolgt) inkubiert. Die Ausleseparameter sind die T-Zell Proliferation, sowie Zytokinproduktion (IFN- $\gamma$ ). Nur wenige starke Allergene sind in der Lage, ein positives Ergebnis unter diesen Versuchsbedingungen zu erzielen. Dies liegt einerseits daran, dass spezifische T-Zellen für das untersuchte Hapten mit sehr geringer Wahrscheinlichkeit im untersuchten Individuum vorhanden sind. Andererseits ist bekannt, dass die beobachtete T-Zellproliferation durch CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T-Zellen (regulatorische T-Zellen; nTreg) negativ beeinflusst wird. Dieser Zelltyp macht bis zu 5 % der CD4<sup>+</sup> T-Zellen im peripheren Blut aus, sodass deren Ausschluss vom untersuchten Zellpool durchaus vielversprechend scheint. Parallel wurden zwei Ansätze durchgeführt. A) Kokultur unbehandelter oder behandelter DCs mit CD4<sup>+</sup> Zellen (Gesamtpool) aus dem peripheren Blut oder B) Kokultur unbehandelter oder behandelter DCs mit CD4<sup>+</sup> Zellen aus dem peripheren Blut, die zuvor gegen CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> selektiert wurden (normalerweise Depletion von bis zu 90 % der CD25<sup>+</sup>). Die Ausleseparameter werden jeweils als Stimulationsindex ausgedrückt. Dieser entspricht dem Wert der Kultur mit exponierten DCs geteilt durch den erzielten Wert mit zuvor unbehandelten DCs. In der Tat konnten die Experimentatoren einen Sensitivitätsunterschied in den Ausleseparametern zwischen den Ansätzen A und B erkennen (Martin et al., 2010; Vocanson et al., 2008).

Beide Tests befinden sich ähnlich wie der CAATC Test noch in der Entwicklungsphase, wobei bereits erste Versuche in Richtung Prävalidierung unternommen wurden. Es scheint ungewiss, inwiefern neben der Erforschung grundlegend notwendiger Mechanismen, die zur T-Zellproliferation nach Allergenkontakt führen, in Zukunft Aussagen in Verbindung mit der sensibilisierenden Wirkstärke einer untersuchten Chemikalie gemacht werden können. Erste Analysen zur Wirkstärkenbewertung gemessen an der Zytokinexpression *in vivo* liegen vor (Lass et al., 2010), wurden aber noch nicht auf den *in vitro* Ansatz übertragen.

### **1.3.6 Generelle Vorteile von *in vitro* Methoden**

Es bestehen kontrollierte Testbedingungen.

Ein hoher Grad an Standardisierung kann erreicht werden, welcher zur Reduktion von Variabilität zwischen den Experimenten führt.

Die Testung ist schnell, meist kostengünstig und erfordert nur wenig Testmaterial.

Durch die Testung entsteht nur in geringem Umfang toxikologisch bedenklicher Abfall.

Durch gezielte *in vitro* Testung kommt es zur Reduktion von *in vivo* Tests.

### **1.3.7 Generelle Einschränkungen von *in vitro* Methoden**

Die Interaktion verschiedener Zell- und Gewebsarten bzw. Organen kann nicht getestet werden.

Es ist schwierig, Dosis-Wirkungsbeziehungen zu beschreiben und pharmakokinetische Effekte sind nur teilweise abprüfbar.

Auf der technischen Seite gibt es Limitierungen durch Löslichkeit und Effekte ausgelöst durch Interaktion mit dem Reaktionsgefäß/ der experimentellen Umgebung (Plastik). Neben der Löslichkeit der Substanz spielen zudem ihre chemische Reaktivität sowie eine metabolische Aktivierung im *in vitro* Versuch eine wesentliche Rolle. Auf Basis der Anfälligkeit der zellbasierten Systeme für zytotoxische Effekte, besteht die Tendenz der Überschätzung, deswegen müssen zytotoxische Effekte immer parallel überwacht werden.

Alle Systeme bilden jeweils immer nur einen Teil der Wirklichkeit ab. Es muss daher mit einer Testbatterie gearbeitet werden. Die Kombination verschiedener Tests kann eventuell zu einer Überschätzung des von einer Testsubstanz ausgehenden Risikos bzw. der Einschätzung ihrer Wirkstärke führen.

Eine Testbatterie sollte aus Tests, die eine hohe Spezifität (d.h. wenig „true false positives“) besitzen, bestehen. Bei Integration verschiedener Tests in eine Testbatterie sollte dies ein essentielles Kriterium sein, da bei Verwendung mehrerer Tests mit geringer Spezifität sonst quasi jede getestete Chemikalie als Allergen identifiziert werden würde.

Wie bereits mehrfach erwähnt, besteht die Gefahr der Übernahme für den Menschen falscher Annahmen bezüglich der sensibilisierenden Eigenschaften einer Substanz auf Basis der Validierung der *in vitro* Testmethoden gegenüber Ergebnissen aus dem LLNA und den Meerschweinchentests (Basketter und Kimber, 2010b).

#### 1.4 *in silico*-Methoden/Expertensysteme

Es wird vermehrt versucht Modelle zur Erkennung von Struktur–Wirkungsbeziehungen (SAR, englisch: structur activity relationship) bzw. Modelle quantitativer Struktur–Wirkungsbeziehungen (QSAR) einzusetzen, um Aussagen über das sensibilisierende Wirkpotential ein Substanz zu treffen.

Um die Qualität von (Q)SAR Modellen zu gewährleisten und um diese auch regulatorisch verwerten zu können, wurden von der OECD fünf Validitätskriterien aufgestellt (OECD, 2004; 2007). Diese besagen:

- Es muss ein definierter Endpunkt betrachtet werden.
- Dem Modell soll ein eindeutiger Algorithmus zugeordnet sein.
- Die Anwendungsdomäne (AD) muss klar definiert werden.
- Das Modell muss genügend gute Ergebnisse bei interner (Anpassungsgüte, Robustheit) und externer Validierung (Prädiktivität) erzielen.
- Es sollte, falls möglich, eine mechanistische Erklärung gegeben werden.

Expertensysteme beinhalten SARs, QSARs oder beides und sind entweder wissensbasiert (Zuordnung zu chemischer Klasse mit bekanntem Wirkmechanismus (lokales Modell)) oder aber empirisch, statistisch fundiert (globales Modell). Manchmal findet sich eine Hybridversion beider Herangehensweisen (Patlewicz und Worth, 2008; van Loveren et al., 2008; Appendix A. Abstracts: Patlewicz G.).

Die Basis für viele solcher Modelle bietet der mechanistische Schritt der Haptenisierung, dieser wird auch durch die chemische Reaktivität einer Substanz beeinflusst (siehe auch 1.3.2.1). Laut Aptula und Roberts (2006) kann eine Substanz



auf Basis ihres chemischen Reaktionsmechanismus in eine der folgenden fünf Grundklassen eingeteilt werden: Michael Akzeptoren,  $S_NAr$  Elektrophile,  $S_N2$  Elektrophile, Schiff Basenbildner und acylierende Agenzien. Falls keine der genannten funktionellen Gruppen innerhalb einer Substanz identifiziert werden kann, wird sie meist als nicht sensibilisierend angesehen. So wichtig diese Zuordnung zu solch mechanistischen Domänen ist, anhand ihrer kann keine Aussage bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke der Substanz getroffen werden (Aptula und Roberts, 2006). Insgesamt ist die Zuordnung zu mechanistischen Domänen jedoch grundsätzlich zur Entwicklung von QSAR Modellen anwendbar (Validitätskriterium: definierter Mechanismus) bzw. erlaubt die Gruppierung von Chemikalien anhand ihres Mechanismus, um die Möglichkeit einer Datenübertragung zu prüfen. Dies wird beispielsweise in der OECD-Toolbox angewandt (Gerberick et al., 2008).

Die Zuordnung zu einer der mechanistischen Domänen bedeutet jedoch noch nicht zwangsläufig, dass die Substanz ein hautsensibilisierendes Potential besitzt. Die Hydrophobizität trägt darüber hinaus dazu bei. Ein Beispiel: Primäre Alkylbromide ( $S_N2$  Elektrophil) mit Kettenlängen von 11 und mehr Kohlenstoffatomen wirken im Tierversuch (LLNA) sensibilisierend wohingegen die C4-homologe Substanz dies nicht tut.

Für das vorliegende Projekt wurden verschiedene (Q)SAR Modelle bzw. Expertensysteme auf ihre Eignung überprüft und die Ergebnisse in einer kurzen Übersicht wiedergegeben. Einen Überblick über QSAR-Modelle liefern auch z.B. Patlewicz und Worth (2008) sowie Vandebriel und van Loveren (2010).

#### **1.4.1 DEREK (für Windows; QMRF Nummer: Q13-34-36-315)**

DEREK („Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge“; LHASA Ltd, UK) ist ein wissens-basiertes (Q)SAR System. Die beinhalteten 65 SARs beschreiben Regeln in Bezug auf chemische Reaktivität (ausgehend von der Zuordnung der zu untersuchenden Chemikalie in mechanistische Domänen, sowie empirische Daten). Die chemische Reaktivität wird, wie zuvor bei den *in vitro* Testungen, als Maß für die Haptenbildung angesehen und bildet nach der Hautpenetration den nächsten mechanistisch wichtigen Schritt einer Hypersensibilisierungsreaktion ab. Werden innerhalb der zu untersuchenden Substanz keine der hinterlegten Strukturmerkmale identifiziert, wird als Ergebnis „nothing to report“ festgehalten. Dies bedeutet jedoch nicht zwangsläufig, dass die Substanz kein sensibilisierendes Potential besitzt.

Die Hauptkritikpunkte des Modells sind neben den Kosten und der fehlenden Transparenz (siehe OECD-Validitätskriterien für QSAR-Modelle; AD nicht genügend charakterisiert; Trainingsset nicht zugänglich), dass nur wenige Regeln für Pro-Haptene enthalten sind und, dass keine Aussagen zur relativen Wirkstärke gemacht werden können (Dimitrov et al., 2005; Patlewicz und Worth, 2008).

#### **1.4.2 TOPKAT**

TOPKAT (TOxicity Prediction by K(C)omputer Assisted Technology“; Accelrys Corp., USA) ist ein statistisch ermitteltes Modell auf Basis von veröffentlichten GPMT-Daten (ca. 300 Substanzen), welches Kategorien des Sensibilisierungspotentials ermittelt

(„non/ weak/ moderat/ strong sensitiser“) und aussagt, ob die zu untersuchende Chemikalie in dem Anwendungsbereich der zugrunde liegenden Datenbasis enthalten ist.

Einer der Hauptkritikpunkte ist, neben dem Kostenpunkt, dass auf Basis der Verwendung von Meerschweinchendaten, die bekannte Tendenz der Überschätzung einer sensibilisierenden Wirkung im Vergleich zur realen Situation im Menschen vorliegt (Dimitrov et al., 2005). Überdies ist laut Patlewicz und Worth mindestens eines der OECD-Validitätskriterien, das des eindeutigen Algorithmus, nicht erfüllt und auch eine mechanistische Erklärung der verwendeten Deskriptoren fehlt (2008).

### **1.4.3 CAESAR**

CAESAR (Computer assisted evaluation of industrial chemical substances according to regulation), eine frei verfügbare Web Applikation (fuzzy partitioning model; sieben Deskriptoren), enthält unterschiedliche statistisch basierte Vorhersagemodelle auf Basis der Publikation von Gerberick et al. (2005). Diese Modelle aus dem EU geförderten Projekt wurden alle gemäß den OECD-Validitätskriterien entwickelt, um regulatorische Anwendbarkeit zu gewährleisten (Chaudhry et al., 2010). Im vorliegenden Projekt wird dieses Hautsensibilisierungsmodell nicht weiter verwendet, da das primäre, regulatorische Augenmerk auf die qualitative Einschätzung der Sensibilisierungsgefahr gelegt wurde und keine quantitativen Aussagen getroffen werden können. Das System ermöglicht für den Endpunkt dementsprechend nur binär Aussagen: sensibilisierend versus nicht-sensibilisierend. Das Modell ist somit zunächst nicht für die hier durchzuführende Wirkstärkenbewertung der Inhaltsstoffe verwendbar, findet jedoch Anwendung z.B. in einem Weight-of-evidence Ansatz bei Ellison et al. (2010) um eine Einstufung als hautsensibilisierend durchzuführen.

#### **– Vermerk**

Durch ein lokales QSAR ist es jedoch möglich, auch quantitative Aussagen zu treffen. Allerdings nur für Stoffe, deren vorhergesagter Reaktionsmechanismus die Michael Addition darstellt (QSAR basiert auf Enoch et al., 2008a). Die Anwendung im vorliegenden Projekt (innerhalb TOXTREE siehe 1.4.4)) ist nicht praktikabel, da nur zwei Inhaltsstoffen identifiziert wurden, von denen jeweils ein Metabolit über die Michael Addition proteinreaktiv ist (OECD-Toolbox 1.4.8)). Die Bewertung dieser Inhaltsstoffe konnte bereits ohne Berücksichtigung dieser Zusatzinformation durchgeführt werden (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.3).

### **1.4.4 TOXTREE (SMARTs Raster nach Enoch et al., 2008b)**

TOXTREE ist eine flexible und sehr benutzerfreundliche Open-Source Anwendung. Es ist ein Hybrid System und beinhaltet sowohl wissens-basierte als auch statistisch fundierte SARs (Gatnik und Worth, 2010). Die aktuelle Version (v2.1.0; vonEC, 2011) enthält in Bezug auf Hautsensibilisierung eine Sammlung von Strukturhinweisen (Enoch et al., 2008b), welche Substanzen (ähnlich wie in der OECD-Toolbox) auf Basis vorgefertigter zweidimensionaler Strukturregeln (SMARTs Raster; SMiles

Arbitrary Target Specification), ihrer sogenannten mechanistischen Domäne zuweist und somit eine Kategorienbildung auf Basis des gleichen Wirkmechanismus ihrer vorhergesagten Proteinreaktivität möglich macht. Das Fehlen einer solchen Zuordnung kann noch nicht als Fehlen eines Sensibilisierungspotentials gewertet werden sondern wird nur als pseudo-negatives Ergebnis (Ellison et al., 2010; kein bekannter sensibilisierender Wirkmechanismus auf Basis der Struktur erkannt, d.h. die Wahrscheinlichkeit, dass die Substanz sensibilisierend wirkt ist reduziert, Sensibilisierung kann aber über einen nicht abgeprüften Mechanismus eintreten). Es ist dementsprechend wichtig, solche Proteinbindungsergebnisse mit Ergebnissen anderer Modelle zu vergleichen, um die größtmögliche Ausschöpfung des momentanen Kenntnisstandes zur Hautsensibilisierung zu gewährleisten (Ellison et al., 2010).

Im vorliegenden Projekt wurde so für die zu bewertenden Inhaltsstoffe deren potentieller Mechanismus der Proteinreaktivität ermittelt. Dieser wird bei der substanzspezifischen Bewertung berichtet und mit Ergebnissen anderer *in silico* Systemen verglichen.

#### **1.4.5 TIMES-SS**

TIMES-SS ("Tissue MEtabolism Simulator platform used for predicting Skin Sensitization"; Mekenyan et al., 2004) ist ein Hybrid System. Das Expertensystem versucht, Struktur-Toxizitätsbeziehungen aufzuzeigen, sowie von der Struktur auf mögliche Metabolite zu schließen. Die Basis des Systems bildet die Gesamtschau an Daten zu circa 800 Substanzen aus dem LLNA, dem GPMT und der BgVV (letzteres bezieht sich auf Humandaten aus Kayser und Schlede, 2001). Das System ermöglicht eine Abschätzung der Sensibilisierungsgefahr der zu untersuchenden Substanz, sowie deren potentieller Metaboliten. Die beinhalteten QSAR-Modelle, welche auf der Identifizierung der mechanistischen Domäne beruhen, beziehen sich zudem nur auf bestimmte Substanzgruppen, wie z.B. auf Ketone, Schwefel-, Sulphon- und Phosphonsäureester, Aldehyde und konjugierte Doppelbindungen die O, S oder N beinhalten, und treffen somit nicht die Zielgruppe der Inhaltsstoffe von Epoxidharzkomponenten (Dimitrov et al., 2005). TIMES-SS entspricht allen OECD-Validitätskriterien.

Die Plattform ist in der ursprünglichen Form nicht frei verfügbar, sodass Kostengründe zunächst dafür verantwortlich sind, dass keine ausführlichen Ergebnisse für die zu bewertenden Inhaltsstoffe berichtet werden. Zudem sind Teile der Plattform (der Metabolismus Simulator) ebenfalls in der öffentlich zugänglichen OECD-Toolbox enthalten, sodass zunächst deren Möglichkeiten für das vorliegende Projekt ausgeschöpft wurden (1.4.8).

#### **1.4.6 Golla et al., 2009**

Die Autoren haben auf Basis großer Datensammlungen drei unterschiedliche globale Modelle mit statistisch basierten SARs für die Vorhersage von hautsensibilisierenden Eigenschaften, so wie sie im LLNA oder im GPMT erzielt würden bzw. von Kayser und Schlede in der BgVV Datensammlung (2001) berichtet wurden, aufgestellt.

Mit Hilfe der Modelle kann laut den Autoren ebenfalls eine Aussage über die Sensibilisierungsstärke der überprüften Chemikalien getroffen werden.

Tabelle 4. Wirkstärkenbewertung in den unterschiedlichen Modelldatensätzen nach Golla et al., 2009

LLNA		GPMT		BgVV	
Kategorie	Score	Kategorie	Score	Kategorie	Score
Nicht sensibilisierend	0	Nicht sensibilisierend	0	C (unbedeutendes Kontaktallergen)	0
Schwach	0,25	Schwach	0,33	B (Hinweis auf Kontaktallergene Wirkung)	0,5
Moderat	0,5	Moderat	0,66	A (stark, bedeutendes Kontaktallergen)	1
Sensibilisierend (nicht eingestuft)	0,625	Stark (nach Unilever)	0,83		
Stark	0,75	Stark	1		
Extrem	1				

Die oben dargestellte Skala erlaubt eine quantitative Wirkstärkenbewertung durchzuführen. Durch die getrennte Verwendung der unterschiedlichen Daten in den Modellen (Ergebnisse erzielt durch unterschiedliche Methoden, d.h. Maus versus Meerschweinchen versus Human Daten; im Gegensatz zur Entwicklung von TIMES-SS siehe 1.4.5) und das unterschiedliche Ranking sind Vergleiche möglich. Die Genauigkeit der Modelle liegt laut den Modellentwicklern bei mindestens 90 % (Accuracy of internal validation). Durch die Verwendung von weiteren Deskriptoren und nicht nur mechanistischer Domänen liefern sie größere Sicherheit in der Modellvorhersage (Golla et al., 2009).

Es gibt die Veröffentlichung, jedoch ist nicht klar, wie die Modelle anzuwenden sind. Es wurde keine Anwenderplattform geschaffen. Bisher wurden nur Daten für die Chemikalien des Tainingssets veröffentlicht und es ist zudem nicht geklärt, in wie fern eine externe Validierung durchgeführt wurde. Die Gesamtheit dieser Unklarheiten führt dazu, dass die Modelle im Projekt keine Anwendung finden.

#### 1.4.7 Molcode (QMRF Nr.: Q17-10-1-241)

Die lettische Firma MOLCODE entwickelte ein System, ähnlich dem von Golla. Dieser sogenannte neuronale Netzwerk Algorithmus wurde jedoch anhand anderer statistischer Methoden entwickelt und letztlich wurden weniger Deskriptoren verwendet als im obigen Modell (siehe 1.4.6).

Vorteile dieses Systems ist einerseits, dass durch die Verwendung weniger Deskriptoren das System insgesamt stabiler ist (die Vorhersagequalität leidet in

diesem Fall anscheinend nicht). Andererseits werden die OECD-Validitätskriterien für QSAR Systeme eindeutig erfüllt, dies ist auch anhand des sogenannten „QSAR Modell Reporting Format“ (QMRF), welches beim europäischen Forschungszentrum in Ispra (JRC) hinterlegt ist, zu sehen<sup>28</sup>. Aus diesem geht außerdem hervor, dass die Zuordnung zu einer sensibilisierenden Wirkstärkeklasse über den Vergleich mit LLNA-Daten möglich ist (Endpunkt: LLNA Score Index; S).

Dem LLNA Score Index werden dabei folgende Klassen zugeordnet (aus QMRF: Q17-10-1-241): extreme (1), strong (0,75); moderate (0,5); weak (0,25) oder non sensitising (0).

Negativ zu erwähnen ist, dass die Entwicklung allein auf Basis von Daten aus dem LLNA geschah. Die umfassende, vergleichende Bewertung, wie sie im System von Golla möglich scheint, kann somit nicht durchgeführt werden. Wiederum ist das System kostenpflichtig und die Berechnung der sensibilisierenden Wirkstärke, wie sie im LLNA zu erwarten wäre, wird für eine Substanz mit 550 € veranschlagt.

Für das vorliegende Projekt wurde Kontakt mit den Entwicklern aufgenommen und im Rahmen dieser Kommunikation konnten erste Ergebnisse für fünf der hier zu bewertenden Substanzen erhalten werden. Jedoch wurden nur die Wirkstärkeklassen mitgeteilt und die Tatsache, dass die Chemikalien innerhalb der Anwendungsdomäne des Systems liegt. Eine Dokumentierung und ausführliche Beschreibung der Ergebnisse bedarf jedoch wiederum einer Kostenübernahme.

#### 1.4.8 OECD QSAR Toolbox

Die OECD Toolbox bietet für den Endpunkt Sensibilisierung verschiedene Herangehensweisen an.

– *In vivo* Datenrecherche

Beispielsweise ist es möglich, vorhandene *in vivo* Daten zu recherchieren. Die folgenden Datenbanken wurden für das vorliegende Projekt durchsucht:

- Skin sensitisation (1290 Chemikalien gesammelt aus fünf unterschiedlichen Quellen, hauptsächlich LLNA und GPMT Daten; teilweise quantitative Auswertung durchgeführt; Stand Juli 2010)
- Skin sensitisation ECETOC (39 Chemikalien, Stand 2008)

Insgesamt wurde die veröffentlichte Primärliteratur bereits über die substanzspezifische Literatursuche identifiziert, und bis auf wenige unveröffentlichte Industrieergebnisse konnten dadurch keine zusätzlichen Erkenntnisse gewonnen werden.

– *In chemico* Datenrecherche

Weiterhin kann eine Datenbank, in der Messungen der Thiol-Reaktivität hinterlegt sind (*in chemico* Test zur chemischen Reaktivität, welche wichtig ist für den

---

<sup>28</sup> [http://qsardb.jrc.ec.europa.eu/qmrf/search\\_catalogs.jsp](http://qsardb.jrc.ec.europa.eu/qmrf/search_catalogs.jsp)

wichtigen, mechanistischen Teilschritt der Haptenisierung; siehe auch Abschnitt 1.1 und 1.3.2.1), durchsucht werden:

- GSH Experimental RC<sub>50</sub> (424 Chemikalien, Stand Januar 2011; Messung der Thiol-Reaktivität)

Es lagen jedoch keine Ergebnisse für Inhaltsstoffe von Epoxidharzkomponenten vor.

- Profiling auf Basis der chemischen Reaktivität

Zur Einschätzung der chemischen Reaktivität wurden zudem Module zur Abschätzung des voraussichtlichen Mechanismus, welcher zur Proteinbindung (siehe auch Haptenisierung unter Abschnitt 1.1) führt, herangezogen (d.h. Strukturhinweise, die zu einer Zuordnung in eine mechanistische Reaktivitätsdomäne führen und somit den Prozess der Proteinreaktivität näher beschreiben):

- Protein Binding by OASIS (67 Kategorien)
- Protein binding by OECD (122 Kategorien)
- Protein binding potency (104 Kategorien)

Innerhalb der Toolbox ist es möglich, einen Simulator des potentiellen Metabolismus in der Haut auf die zu untersuchenden Substanzen anzuwenden. Die Basis des Simulators wurde von Dimitrov und Kollegen (2005) publiziert und liefert ebenfalls die Basis für das kommerziell anzuwendende TIMES-SS System (siehe 1.4.5). Prinzipiell liegen dem Modell 203 mögliche Transformationen zugrunde, die auf Basis der Literatur und Experteneinschätzung in zwei Klassen eingeteilt werden können – geschwindigkeitsbestimmende und nicht-geschwindigkeitsbestimmende Reaktionen. Letztgenannte wurden verwendet, um beispielsweise die Hydrolyse von Salzen zu modellieren oder auch die Bindung an zelluläres Protein von hochreaktiven Gruppen, wie z.B. Thiocarbonsäuren. Phase I und Phase II Metabolismusreaktionen wurden meist als geschwindigkeitsbestimmende Reaktionen dargestellt. Diese beinhalten z.B. C-Hydroxylierung, Esterhydrolyse, Oxidationsreaktionen, Deaminierung, Oxiranhydratation. Im vorliegenden Projekt wurden die voreingestellten Optionen belassen und eine Aktivierung mittels Phase I, Phase II Metabolismus überprüft. Weitere Punkte waren Auto-Oxidation sowie Polymerisation. Zudem wurde die Voreinstellung „Strong Active“, „Model“ und „Midle Active“ belassen.

- Kategoriebildung und Datenübertragung (Read-across)

Insgesamt ist die Identifikation verschiedener mechanistischer oder struktureller Einheiten einer Substanz und ihrer Metaboliten dazu gedacht, dem Anwender die Möglichkeit zu geben, anhand dieser Merkmale eine Kategorie zu bilden. Mit der generellen Absicht, für eine Zielsubstanz den Endpunkt Sensibilisierung über sogenannten „Read Across“ (Übertragung der Daten von vielen Substanzen auf eine Zielsubstanz) zunächst qualitativ zu füllen. Finden sich in der gebildeten Kategorie überwiegend Hinweise, dass die Substanzen kein sensibilisierendes Potential besitzen, so wird diese Schlussfolgerung „negativ“ (d.h. nicht sensibilisierend) auf die Zielsubstanz übertragen. Liegen innerhalb einer so gebildeten Kategorie genügend experimentelle Daten vor, kann eventuell ebenfalls ein quantitativer Übertrag der sensibilisierenden Wirkstärke erfolgen. Laut Ellison et al. (2010) wird der Read-out in standardisierter Form, wie in Tabelle 5 gezeigt, dargestellt.

Tabelle 5. Standardisierte Werte der hautsensibilisierenden Wirkstärke aus der OECD-Toolbox mit den dazugehörigen tierexperimentellen Daten aus dem LLNA und dem GPMT, sowie die Verbindung zur Bewertung im vorliegenden Projekt

Vorliegendes Projekt	Standardisierter Wert aus der Toolbox	entspricht EC3 Wert (%) aus LLNA	entspricht Wert (%) an positiv getesteten Tieren im GPMT
<b>Kategorie HS</b> hohe Sensibilisierungsstärke	2	< 10	> 30
<b>Kategorie GMS</b> geringe bis mäßige bis hohe Sensibilisierungsstärke	1	10 > x < 100	1 > x < 30
	-1	> 100	0

Wird für eine Substanz kein Mechanismus zur Proteinbindung bestätigt, so kann keine Kategoriebildung erfolgen und schließlich keine quantitative Bewertung getroffen werden.

Der gesamte Prozess der Substanzcharakterisierung dient jedoch immer auch zur Überprüfung, ob die zu bewertende Substanz in die Anwendungsdomäne eines bestimmten quantitativen QSAR Modells fällt. So gibt es beispielsweise weiterführende Anwendungen für S<sub>N</sub>Ar-Elektrophile (Roberts et al., 2011) oder Michael Akzeptoren (Enoch et al., 2008a). Diese kommen jedoch im vorliegenden Projekt nicht zum Einsatz, da keine Inhaltsstoffe identifiziert wurden, die diese Art der chemischen Reaktivität gegenüber Nukleophilen aufzeigen (S<sub>N</sub>Ar-Elektrophile) bzw. eine Auswertung keinen Vorteil für deren Wirkstärkenbewertung bringt (Michael Akzeptoren; betrifft nur zwei Inhaltsstoffe: CAS Nr. 11070-44-3 und CAS Nr. 101-77-9; siehe FP-0324, Teilprojekt 5.3).

Ein Vorteil der Verwendung der Toolbox ist, dass die enthaltenen Systeme den Standards für die Validität gemäß den OECD Kriterien genügen.

Ein Problem wie bei allen globalen Modellen ist, dass die Vorhersage nicht korrekt wird, wenn es nicht gelingt, die richtige mechanistische Domäne zuzuordnen (Golla et al., 2009). Die Bewertung kann zudem nur erfolgen, wenn eine mechanistische Domäne innerhalb der Struktur des zu bewertenden Inhaltsstoffes gefunden wird. Generell unterliegt die Bewertung anhand solcher mechanistischer Domänen und dem daraus resultierenden Reaktivitätsmechanismus einem ständigen Wechsel. Durch die Erweiterung des Kenntnisstandes auf dem Gebiet der Wirkmechanismen müssen die Domänen „ständig“ überarbeitet werden, da neue Wirkmechanismen identifiziert werden und andere als nicht adäquat bzw. nicht korrekt identifiziert werden. Zudem ergibt sich beim Erkennen mehrerer funktionalen Einheiten die Schwierigkeit, den „richtigen“ Mechanismus zuzuordnen (Enoch et al., 2008b). Eine

kritische Überprüfung der Zuordnungen ist demnach erforderlich und kann teilweise nur mit hohem Zeitaufwand durchgeführt werden.

– QSAR Danish EPA Model A33

Die von MCASE (Multiple Computer Automates Structure Evolution program) entwickelten QSAR Modelle sind innerhalb der Danisch EPA QSAR Datenbank enthalten. Diese wiederum ist Teil der OECD-Toolbox. Für den Endpunkt Hautsensibilisierung ist das Modul A33 (QMRF Nummer: noch nicht vergeben)<sup>29</sup>. Das Modell wurde auf Basis der GPMT-Daten und humanen Erfahrungen zu 1034 Substanzen entwickelt. Es beruht auf der Kombination von Biophoren bzw. Biophoben (strukturelle Fragmente, denen eine bestimmte biologische Aktivität zugeordnet wird, in unserem Fall also eine sensibilisierende bzw. nicht-sensibilisierende Wirkung; d.h. es handelt sich um SARs, die nicht auf den mechanistischen Domänen basieren) und berücksichtigt ebenfalls physikalisch chemische Eigenschaften (Modulatoren), die sowohl positiv als auch negativ auf die vorhergesagte sensibilisierende Aktivität der Substanz einwirken können. Die biophore/biophoben Fragmente wurden auf Basis der hinterlegten Substanzdaten computergestützt entwickelt. Zu bewertende Chemikalien werden anhand des Vorhandenseins von bekannten Biophoren/Biophoben und Modulatoren bewertet. Unbekannte Fragmente werden mit Warnungen und somit Unsicherheit in der Vorhersage bezeichnet. Chemikalien, die keine bekannten Biophore beinhalten, werden als inaktiv angesehen. Im System werden den Biophoren und Modulatoren spezielle Koeffizienten zugeordnet. Die in der Substanz enthaltenen Strukturmerkmale und physiko-chemischen Eigenschaften werden charakterisiert und diese Werte miteinander multipliziert. Es ergibt sich ein Endergebnis für die Aktivität in sogenannten MultiCase Units. Diese Units (im Bereich von 0 bis 100) können dann einer Wirkstärke zugeordnet werden (Gatnik und Worth, 2010; Graham et al., 1996).

Generell gilt für das MCASE Modell jedoch auch, dass nicht alle Validitätskriterien der OECD erfüllt sind. Es fehlt der eindeutige Algorithmus und die ausführliche Darstellung des verwendeten Trainingssets (Patlewicz und Worth, 2008). Die Auslesegröße der CASE Units für die Biophore und Modulatoren sind nicht transparent. Ausgeschlossen von der Bewertung sind bedingt durch das Modelldesign (bewertet wird ein Fragment mit mindestens zwei C-Atomen), Moleküle, die nur ein C-Atom besitzen, sowie Metalle.

Die Anwendung dieser Applikation in der OECD-Toolbox bedarf einer genauen Einarbeitung, um die korrekte Anwendung aller Funktionsparameter zu gewährleisten. Da die Aussagekraft des Modells nicht eindeutig zu bestimmen ist, wird zunächst auf die Verwendung im vorliegenden Projekt verzichtet. Dies kann bei Bedarf in einem späteren Bearbeitungszeitpunkt jedoch nachgeholt werden.

---

<sup>29</sup> Das QMRF ist nur über die OECD-Toolbox einsehbar und wird deswegen zur Vollständigkeit als Anhang zur Vollständigkeit präsentiert.



#### 1.4.9 Generelle Vorteile von *in silico* Methoden

Im regulatorischen Kontext wird oft empfohlen mehr Gebrauch von *in silico* Modellen zu machen, jedoch wird meist nicht ausgeführt, wie Modelle anzuwenden sind. In der Publikation von Ellison et al. (2010) wird ein „Weight-of-evidence“ (WoE) –Ansatz erprobt, der vier *in silico* Modellen enthält, die ebenfalls hier vorgestellt wurden (OECD–Toolbox, DfW, CHAESAR, SMARTS Regeln inkludiert in TOXTREE). Die damit getroffenen Vorhersagen sind jedoch nur binärer Natur (sensibilisierend und nicht sensibilisierend), sodass die Auswertung nicht direkt übernommen werden kann. Das System zeigt jedoch deutlich, dass durch eine Kombination verschiedener Systeme eine qualitativ hochwertigere Aussage möglich ist. Im vorliegenden Projekt wird Gebrauch von der OECD–Toolbox und den in TOXTREE implementierten SMARTS Regeln gemacht (Begründung für Auswahl/nicht Auswahl siehe Beschreibung des jeweiligen Modells).

Ellison et al. (2010) führt aus, dass ein WoE–Ansatz in Kombination mit Ergebnissen aus *in chemico* und *in vitro* Assays genügend gute Vorhersagen bezüglich positiv getesteter Inhaltsstoffe machen kann. Die Kombination verschiedener Tests erhöht die Anzahl an korrekten Vorhersagen und minimiert die Zahl der falschen, jedoch nur unter der Bedingung, dass eine Kategorie „uneindeutig“ geschaffen wird. Die Inhaltsstoffe dieser Kategorie bedürfen genauer Analyse in Bezug auf weiterführende Tests.

Aptula und Roberts (2006) gehen weiter und sagen, dass die Wirkstärke einer Chemikalie, die ihrer mechanistischen Domäne zugeordnet werden konnte und deren weitere physiko-chemische Eigenschaften beachtet werden (z.B. Hydrophobizität), nur relativ zu der Wirkstärke von bekannten Kontaktallergenen aus derselben mechanistischen Domäne und mit ähnlichen Eigenschaften abgeleitet werden soll.

#### 1.4.10 Generelle Einschränkungen von *in silico* Methoden

Ein Problem aller globalen Modelle ist, dass, wenn es nicht gelingt, die richtige mechanistische Domäne zuzuordnen, die Vorhersage ebenfalls nicht korrekt sein kann (Golla et al., 2009). Aus den obigen Beschreibungen wurde deutlich, dass die Anwendbarkeit und der Nutzen der computergestützten Systeme sehr stark beeinflusst wird von ihrer Transparenz bei der Entwicklung, dem Erfüllen der Validitätskriterien gemäß OECD und dem Vorhandensein von benutzerfreundlichen Softwareoberflächen. Auch Patlewicz und Worth nennen ähnliche Gründe (limitierter Zugang zu den Trainingssets, Anwendungsdomäne nicht definiert, mechanistische Interpretation unklar) und sagen, dass Expertensysteme in ihrer Vielfalt von unschätzbarem Wert zur Bewertung sensibilisierender Eigenschaften von Chemikalien sind, dass ihre Verwendung jedoch auf die Bereitstellung von Zusatzinformation begrenzt sein sollte. Die Daten sollen, wie hier vorgesehen, in einem sogenannten Weight-of-evidence Ansatz angewandt werden (2008).

#### **1.4.11 Anmerkung**

Mekenyan et al. (2010) überprüften den Zusammenhang zwischen einem Strukturverdacht auf Genotoxizität und dem Strukturverdacht auf hautsensibilisierende Wirkung und kommen zu dem Schluss, dass hier eine hohe Übereinstimmung besteht. Die mechanistische Erklärung liegt wiederum in der Elektrophilie der untersuchten Substanze und somit deren chemischer Reaktivität gegenüber nukleophilen Zielen innerhalb des Organismus (DNA, Proteine). Kurze Zeit später veröffentlichte dieselbe Gruppe eine Publikation die besagt, dass praktisch alle in SAR-Modellen identifizierten positiven Mutagene (AMES-Test und Chromosomenaberration) ebenfalls hautsensibilisierendes Potential besitzen, dass der Umkehrschluss jedoch nicht zulässig ist. Nicht alle hautsensibilisierenden Substanzen sind demnach ebenfalls mutagen wirksam. Hauptverantwortlich werden von den Autoren die Unterschiede zwischen Haut- und Lebermetabolismus gemacht. Für die Bewertung der Wirkstärke von Epoxidharzinhaltsstoffe ist diese Information jedoch nicht hilfreich, da die Autoren eindeutig darauf hinweisen, dass diese Ergebnisse qualitativ regulatorisch verwertbar sind, jedoch keine quantitative Aussagekraft besitzen (Patlewicz et al., 2010).

## 2 Glossar



Accuracy	“The closeness of agreement between test method results and accepted reference values. It is a measure of test method performance and one aspect of relevance. The term is often used interchangeably with “concordance” to mean the proportion of correct outcomes of a test method.” (entnommen aus OECD, 2010a) d.h. Treffgenauigkeit eines Schätzers
ACD	allergic contact dermatitis; Allergische Kontaktdermatitis
AD	Applicability domain, Anwendungsdomäne
Autokrin	Freisetzung eines Signalmoleküls wirkt auf die produzierende Zelle, sowie benachbarte Zellen vom gleichen Typ
Biophob	In MCASE identifiziertes Strukturfragment, dass statistisch mit einer biologischen Aktivität assoziiert ist und auf diese <b>inaktivierend</b> wirkt.
Biophor	In MCASE identifiziertes Strukturfragment, dass statistisch mit einer biologischen Aktivität assoziiert ist und auf diese <b>aktivierend</b> wirkt.
COLIPA	Dachverband der europäischen Kosmetikhersteller (Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association)
Concordance	"This is a measure of test method performance for test methods that give a categorical result, and is one aspect of relevance. The term is sometimes used interchangeably with accuracy, and is defined as the proportion of all chemicals tested that are correctly classified as positive or negative. Concordance is highly dependent on the prevalence of positives in the types of test chemicals being examined." (entnommen aus OECD, 2010a)
Dendritische Zelle	im Text abgekürzt als DZ oder DC („dendritic cell“)
DSA <sub>05</sub>	“induction dose per skin area (DSA) that produced a positive response in 5% of the tested population” (Flächendosis/Induktionsdosis pro Hautbereich)
EE-Kultur	Epidermis Äquivalenzmodell („epidermal equivalent“) vertrieben von der CellSystems Biotechnologie Vertrieb GmbH
FCA	„Freund’s Complete Adjuvant“ im Gegensatz zu „Freund’s Incomplete Adjuvant“

Freund-Adjuvans	durch Hitze abgetötete Mykobakterien in Mineralöl, zur unspezifischen Aktivierung des Immunsystems, dadurch erhöhte Empfindlichkeit der Testmethode (entspricht FCA)
GPMT	Guinea pig maximisation test (Maximierungstest am Meerschweinchen)
Hapten	reaktive (d.h. elektrophile) Substanz mit geringem Molekulargewicht, die nach kovalenter Bindung an ein Trägerprotein immunologisch wirksam ist
ICCVAM	Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods
<i>In chemico</i>	Testmethode, die im abiotischen System die chemische Reaktivität misst
<i>In silico</i>	Computerbasierte Vorhersage
<i>In vitro</i>	Bioassay auf zellulärer Ebene
<i>In vivo</i>	Tierversuche und Humanbefunde
Keap1	Sensor-/Repressorprotein v.a. anti-oxidative Stressantwort und Entzündung; Kelch-like ECH-associated protein 1
Komponente	Benennung einer einzelnen Zubereitungen eines Mehrkomponentensystems (oder Epoxidharzproduktes, z.B. Härter, Harz, ggf. Füllstoff)
Langerhans-Zelle	im Text abgekürzt als LZ oder LC (Langerhans cell); dendritische Zellen in der Epidermis; machen 2-5 % der Zellen der Epidermis aus
LLNA	Local lymph node assay
MTT-Test	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT); Colorimetrischer Test zur Bestimmung des Anteils lebender Zellen im Vergleich zu einer Kontrollprobe von Zellen. Der enzyminduzierte Farbumschlag des gelben Tetrazoliumsalses nach violett wird gemessen (Mosmann, 1983).
NICEATM	National Toxicology Program Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods
Nrf2	Transkriptionsfaktor v.a. anti-oxidative Stressantwort und Entzündung, induziert Gene, die im Promotor das ARE besitzen, dies sind v.a. Phase II Metabolismus detoxifizierende Gene; nuclear factor-erythroid 2-related factor 2
Inhaltsstoffe	Einzelstoffe innerhalb einer Komponente (einer Zubereitung), z.B. Benzylalkohol etc.

Parakrin	Eine Zelle produziert und sezerniert ein Signalmolekül, das durch Diffusion direkt auf eine benachbarte Zelle einwirkt
Pre-Hapten	ein nicht-reaktives Agens, das erst nach chemischer Transformation (z.B. Oxidation an Luft) zu einem Hapten wird und eine sensibilisierende Wirkung entfaltet
Pro-Hapten	ein nicht-reaktives Agens, das erst nach metabolischer Aktivierung (spezifische oder unspezifische enzymatische Transformation) zu einem Hapten wird und seine sensibilisierende Wirkung entfaltet
QMRF	QSAR Model Reporting Format
QSAR	quantitative Struktur-Wirkungsbeziehung (QSAR)
Relevance	“Description of relationship of the test to the effect of interest and whether it is meaningful and useful for a particular purpose. It is the extent to which the test correctly measures or predicts the biological effect of interest. Relevance incorporates consideration of the accuracy (concordance) of a test method.” (entnommen aus OECD, 2010a)
Reliability	“Measures of the extent that a test method can be performed reproducibly within and between laboratories over time, when performed using the same protocol. It is assessed by calculating intra- and inter-laboratory reproducibility.” (entnommen aus OECD, 2010a)
real-time RT-qPCR	Mittels der sogenannten real time reverser Transkriptase-Polymerasekettenreaktion kann die Genexpression eines zu untersuchenden Gens quantitative bestimmt werden.
SAR	Struktur-Wirkungsbeziehungen (SAR, englisch: structur activity relationship)
Sensitivität	“The proportion of all positive/active test chemicals that are correctly classified by the test. It is a measure of accuracy for a test method that produces categorical results, and is an important consideration in assessing the relevance of a test method.” (entnommen aus OECD, 2010a)
Spezifität	“The proportion of all negative/inactive test chemicals that are correctly classified by the test. It is a measure of accuracy for a test method that produces categorical results and is an important consideration in assessing the relevance of a test method.” (entnommen aus OECD, 2010a)

### 3 Anhang

#### 3.1 QSAR Danish EPA Model A33

	<b><u>QMRP identifier (JRC Inventory):</u></b> <i>To be entered by ECB</i>	
	<b>QMRP Title:</b> <i>MultiCASE commercial model A33 for skin sensitization, Danish National Food Institute.</i>	
	<b>Printing Date:</b> <i>16-12-2009</i>	

#### 1. QSAR identifier

##### 1.1. QSAR identifier (title):

MultiCASE commercial model A33 for skin sensitization, Danish National Food Institute.

##### 1.2. Other related models:

##### 1.3. Software coding the model:

MultiCASE MC4PC

[www.multicase.com](http://www.multicase.com)

#### 2. General information

##### 2.1. Date of QMRP:

15. December 2007.

##### 2.2. QMRP author(s) and contact details:

[1]Tine Ringsted; Danish National Food Institute; Mørkhøj Bygade 19, 2860 Søborg, Denmark; [tiri@food.dtu.dk](mailto:tiri@food.dtu.dk)

[2]Gunde Egeskov Jensen; National Food Institute; Mørkhøj Bygade 19, 2860 Søborg, Denmark; [gunje@food.dtu.dk](mailto:gunje@food.dtu.dk)

[3]Eva Bay Wedebye; National Food Institute; Mørkhøj Bygade 19, 2860 Søborg, Denmark; [ebawe@food.dtu.dk](mailto:ebawe@food.dtu.dk)

[4]Jay Russel Niemelä; National Food Institute; Mørkhøj Bygade 19, 2860 Søborg, Denmark; [jarn@food.dtu.dk](mailto:jarn@food.dtu.dk)

[5]Nikolai Nikolov; National Food Institute; Mørkhøj Bygade 19, 2860 Søborg, Denmark; [nign@food.dtu.dk](mailto:nign@food.dtu.dk)

##### 2.3. Date of QMRP update(s):

December 2009

##### 2.4. QMRP update(s):

Eva Bay Wedebye, Tine Ringsted and others listed in 2.2. Many sections updated.

##### 2.5. Model developer(s) and contact details:

MultiCASE Inc. 23811 Chagrin Blvd Ste 305, Beachwood, OH, 44122, USA [www.multicase.com](http://www.multicase.com)

**2.6.Date of model development and/or publication:**

Commercial model bought in 1999.

**2.7.Reference(s) to main scientific papers and/or software package:**

[1]Software: MC4PC from MultiCASE Inc., commercial model A33

[2]Graham C, Gealy R,Macina OT,Karol MH, Rosenkranz HS. QSAR for allergic contact dermatitis. Quant.Struct.Act.Relat (1996) 15:224-229

[3]Gealy,R.; Graham,C.; Sussman,N.B.; Macina,O.T.; Rosenkranz,H.S.; Karol,M.H. Evaluating clinical case report data for SAR modeling of allergic contact dermatitis Hum.Exp.Toxicol. (1996) 15(6):489-493

[4]Rosenkranz,H.S.; Klopman,G.; Zhang,Y.P.; Graham,C.; Karol,M.H.

Relationship between allergic contact dermatitis and electrophilicity Environ.Health Perspect. (1999) 107(2):129-132

**2.8.Availability of information about the model:**

The data set is commercially available from MultiCASE Inc.

**2.9.Availability of another QMRF for exactly the same model:**

**3.Defining the endpoint - OECD Principle 1**

**3.1.Species:**

Humans or guinea pigs.

**3.2.Endpoint:**

4.Human health effects 4.6.Skin sensitisation

**3.3.Comment on endpoint:**

GPMT tests or allergic contact dermatitis (ACD) in humans.

**3.4.Endpoint units:**

MultiCASE CASE units

**3.5.Dependent variable:**

Skin sensitisation, positive or negative

**3.6.Experimental protocol:**

OECD guideline 406 Skin sensitisation

**3.7.Endpoint data quality and variability:**

n/a

**4.Defining the algorithm - OECD Principle 2**

**4.1.Type of model:**

AI system: Fragment based statistical system which creates a number of sub models derived by multiple linear regression.

#### **4.2.Explicit algorithm:**

Multiple explicit algorithms operate within the MultiCASE model

#### **4.3.Descriptors in the model:**

- [1]Fragment descriptors,
- [2]Distance descriptors,
- [3]Physical descriptors,
- [4]Electronic descriptors,
- [5]Quantum mechanical descriptors

#### **4.4.Descriptor selection:**

Automated selection.

#### **4.5.Algorithm and descriptor generation:**

MC4PC is a fragment-based statistical model system. The methodology involves breaking down the structures of the training set into all possible fragments from 2 to 10 heavy (non-hydrogen) atoms in length. Two-dimensional distances between heavy atoms are also included in the analysis. Fragments from the entire training set are combined into gross activity categories. A structural fragment is considered as a biophore if it has a statistical significant association with chemicals in the active category. It is considered a biophobe if it has a statistically significant relation with the inactive category. Within each biophore modulators of the activity, such as substructures, molecular orbital energies and two-dimensional distance descriptors, of the biophores are identified. Statistical equations based on relevant descriptors are established within each statistical significant biophore. The program was set to maximum specificity (details available upon request).

#### **4.6.Software name and version for descriptor generation:**

MC4PC v. 2005

#### **4.7.Descriptors/Chemicals ratio:**

The model uses primarily fragment descriptors, specific to a group of structurally related chemicals from the training set, therefore estimations of the number of used descriptors may be difficult.

In general, we estimate that the model uses an order of magnitude less descriptors than there are observations. It should be noted that due to MultiCASE's complex decision making scheme, overfitting is rare, compared to simpler linear models. Warnings are issued in case of statistically insufficient number of observations, which is not the case in the present model.

### **5.Defining the applicability domain - OECD Principle 3**

#### **5.1.Description of the applicability domain of the model:**

Applicability domain of MultiCASE models is expressed in terms of fragments unknown to the system and statistical significance of the



known biophores and biophobes. Descriptors may also be taken into account. Failure to comply with the model domain is not absolute but may be graded, depending on the number and nature of the involved fragments. Thus, different applications may define the applicability domain in different ways. The Danish QSAR group has accepted the strictest possible definition of applicability domain for its MultiCASE models, namely, only chemicals without any unknown fragments are accepted. This applicability domain definition was applied when determining the validation result.

**5.2.Method used to assess the applicability domain:**

Only chemicals with no warnings when predicted are within the domain. Warnings are given to chemicals with unknown fragments or/and statistical insignificance.

**5.3.Software name and version for applicability domain assessment:**

MultiCASE v. 2005.

**5.4.Limits of applicability:**

Discrete organics as defined by the model. See 5.2

**6.Internal validation - OECD Principle 4**

**6.1.Availability of the training set:**

No

**6.2.Available information for the training set:**

CAS RN:No

Chemical Name:No

Smiles:No

Formula:No

INChI:No

MOL file:No

**6.3.Data for each descriptor variable for the training set:**

No

**6.4.Data for the dependent variable for the training set:**

No

**6.5.Other information about the training set::**

1033 chemicals are in the training set: 316 positive (active), 22 marginals and 695 negative (inactive).

**6.6.Pre-processing of data before modelling:**

n/a

**6.7.Statistics for goodness-of-fit:**

98-100% concordance.

**6.8. Robustness - Statistics obtained by leave-one-out cross-validation:**

Not performed. (It is not a preferred measurement for evaluating large models).

**6.9. Robustness - Statistics obtained by leave-many-out cross-validation:**

MC4PC five-fold 2 \* 50 % cross-validation performed by DK National Food Institute gave:

Sensitivity: 69.9%

Specificity: 95.4%

Concordance: 90.7%

The cross-validation is done by randomly removing 50% of the training set, where the 50% contains the same ratio of positive and negatives as the training set. Then creating a model on the remaining 50% and use it to predict the removed 50%. After making a model on remaining 50% of the training set a new model is made on the removed 50% of the training set and this model is used to predict the other 50%. Repeating this five times.

**6.10. Robustness - Statistics obtained by Y-scrambling:**

Not performed.

**6.11. Robustness - Statistics obtained by bootstrap:**

Not performed.

**6.12. Robustness - Statistics obtained by other methods:**

Not performed.

**7. External validation - OECD Principle 4**

**7.1. Availability of the external validation set:**

No

**7.2. Available information for the external validation set:**

CAS RN: No

Chemical Name: No

Smiles: No

Formula: No

INChI: No

MOL file: No

**7.3. Data for each descriptor variable for the external validation set:**

No

**7.4. Data for the dependent variable for the external validation set:**

---

No

**7.5. Other information about the external validation set:**

Not available.

**7.6. Experimental design of test**

---

**set:**

Not performed.

**7.7.Predictivity - Statistics obtained by external validation:**

Not available.

**7.8.Predictivity - Assessment of the external validation set:**

Not available.

**7.9.Comments on the external validation of the model:**

Not available.

**8.Providing a mechanistic interpretation - OECD Principle 5**

**8.1.Mechanistic basis of the model:**

The model identifies substructures (fragments) and for each set of molecules containing a specific fragment further identifies additional parameters (modulators e.g. logP and molecular orbital energies). Many predictions may indicate modes of action that are obvious for persons with expert knowledge for the endpoint.

**8.2.A priori or a posteriori mechanistic interpretatio:**

A posteriori mechanistic interpretation. The information in 8.1 may provide mechanistic interpretation.

**8.3.Other information about the mechanistic interpretation:**

**9.Miscellaneous information**

**9.1.Comments:**

The model can be used to predict sensitizing effect (ACD humans or GPMT).

**9.2.Bibliography:**

OECD Guidelines

**9.3.Supporting information:**

Training set(s)

---

Test set(s)

---

Supporting information

---

**10.Summary (ECB Inventory)**

**10.1.QMRF**

**number:** To be entered by ECB

**10.2.Publication**

**date:** To be entered  
by ECB

**10.3.Keywords:**

To be entered by  
ECB

**10.4.Comments:**

To be entered by ECB

## 4 Literatur

Ade, N.; Leon, F.; Pallardy, M.; Peiffer, J.-L.; Kerdine-Romer, S.; Tissier, M.-H.; Bonnet, P.-A.; Fabre, I.; Ourlin, J.-C. (2009)

HMOX1 and NQO1 genes are upregulated in response to contact sensitizers in dendritic cells and THP-1 cell line: role of the Keap1/Nrf2 pathway  
*Toxicological Sciences*, 107, 451-460

Aeby, P.; Ashikaga, T.; Bessou-Touya, S.; Schepky, A.; Gerberick, F.; Kern, P.; Marrec-Fairley, M.; Maxwell, G.; Ovigne, J.M.; Sakaguchi, H.; Reisinger, K.; Tailhardat, M.; Martinozzi-Teissier, S.; Winkler, P. (2010)

Identifying and characterizing chemical skin sensitizers without animal testing: Colipa's research and method development program  
*Toxicology In Vitro*, 24, 1465-1473

Aeby, P.; Python, F.; Goebel, C. (2007)

Skin sensitization: understanding the in vivo situation for the development of reliable in vitro test approaches

*ALTEX - Alternativen zu Tierexperimenten*, 24, Spec. No., 3-5

Aeby, P.; Wyss, C.; Beck, H.; Griem, P.; Scheffler, H.; Goebel, C. (2004)

Characterization of the sensitizing potential of chemicals by in vitro analysis of dendritic cell activation and skin penetration

*Journal of Investigative Dermatology*, 122, 1154-1164

Akkan, Z.; Kalberlah, F.; Oltmanns, J.; Schneider, K. (2004)

Beurteilung der Wirkstärke hautsensibilisierender Chemikalien anhand des Local Lymph Node Assay. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Fb 1009  
Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin Dortmund/Berlin/Dresden, Wirtschaftsverlag NW Bremerhaven

Aliahmadi, E.; Gramlich, R.; Grützkau, A.; Hitzler, M.; Krüger, M.; Baumgrass, R.; Schreiner, M.; Wittig, B.; Wanner, R.; Peiser, M. (2009)

TLR2-activated human langerhans cells promote Th17 polarization via IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  and IL-23  
*European Journal of Immunology*, 39, 1221-1230

Antonopoulos, C.; Cumberbatch, M.; Mee, J.B.; Dearman, R.J.; Wei, X.Q.; Liew, F.Y.; Kimber, I.; Groves, R.W. (2008)

IL-18 is a key proximal mediator of contact hypersensitivity and allergen-induced Langerhans cell migration in murine epidermis

*Journal of Leukocyte Biology*, 83, 361-367, zitiert nach Corsini et al., 2009

Anzai, T.; Ullmann, L.G.; Hayashi, D.; Satoh, T.; Kumazawa, T.; Sato, K. (2010)

Effects of strain differences and vehicles on results of local lymph node assays  
*Experimental Animals*, 59, 245-249

Aptula, A.O.; Roberts, D.W. (2006)

Mechanistic applicability domains for nonanimal-based prediction of toxicological end points: general principles and application to reactive toxicity

*Chemical Research in Toxicology*, 19, 1097-1105

Arkusz, J.; Stepnik, M.; Sobala, W.; Dastyk, J. (2010)

Prediction of the contact sensitizing potential of chemicals using analysis of gene expression changes in human THP-1 monocytes

*Toxicology Letters*, 199, 51-59

Ashikaga, T.; Sakaguchi, H.; Sono, S.; Kosaka, N.; Ishikawa, M.; Nukada, Y.; Miyazawa, M.; Ito, Y.; Nishiyama, N.; Itagaki, H. (2010)

A comparative evaluation of in vitro skin sensitisation tests: the human cell-line activation test (h-CLAT) versus the local lymph node assay (LLNA)  
*ATLA, Alternatives to Laboratory Animals*, 38, 275-284

Ashikaga, T.; Yoshida, Y.; Hirota, M.; Yoneyama, K.; Itagaki, H.; Sakaguchi, H.; Miyazawa, M.; Ito, Y.; Suzuki, H.; Toyoda, H. (2006)

Development of an in vitro skin sensitization test using human cell lines: the human Cell Line Activation Test (h-CLAT). I. Optimization of the h-CLAT protocol  
*Toxicology In Vitro*, 20, 767-773, zitiert nach Sakaguchi et al., 2010

Babu, R.J.; Chatterjee, A.; Singh, M. (2004)

Assessment of skin irritation and molecular responses in rat skin exposed to nonane, dodecane and tetradecane  
*Toxicology Letters*, 153, 255-266

Ball, N.; Cagen, S.; Carrillo, J.-C.; Certa, H.; Eigler, D.; Emter, R.; Faulhammer, F.; Garcia, C.; Graham, C.; Haux, C.; Kolle, S.N.; Kreiling, R.; Natsch, A.; Mehling, A. (2011)

Evaluating the sensitization potential of surfactants: Integrating data from the local lymph node assay, guinea pig maximization test, and in vitro methods in a weight-of-evidence approach  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 60, 389-400

Basketter, D.; Darlenski, R.; Fluhr, J.W. (2008)

Skin irritation and sensitization: mechanisms and new approaches for risk assessment. 2. Skin sensitization  
*Skin Pharmacology and Physiology*, 21, 191-202

Basketter, D.A. (2008)

Skin sensitization: strategies for the assessment and management of risk  
*British Journal of Dermatology*, 159, 267-273

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, 39-43

Basketter, D.A.; Kimber, I. (2009)

Updating the skin sensitization in vitro data assessment paradigm in 2009  
*Journal of Applied Toxicology*, 29, 545-550

Basketter, D.A.; Kimber, I. (2010a)

Contact Hypersensitivity  
In: McQueen, C.A., *Comprehensive Toxicology*, Elsevier Oxford, 397-411

Basketter, D.A.; Kimber, I. (2010b)

Skin sensitization, false positives and false negatives: experience with guinea pig assays  
*Journal of Applied Toxicology*, 30, 381-386

Basketter, D.A.; Kimber, I. (2011)

Skin irritation, false positives and the local lymph node assay: a guideline issue?  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 61, 137-140

Bauch, C.; Eltze, T.; Fabian, E.; Kolle, S.N.; Pachel, C.; Ramirez, T.; Wiench, B.; Wruck, C.J.; van Ravenzwaay, B.; Landsiedel, R. (2011a)

In-house Validation of four in vitro methods to replace the LLNA: MUSST, h-CLAT, KeratinoSens® and DPRA. P414

Poster präsentiert auf der DGPT-Tagung 30.03.2011 – 01.04.2011, Frankfurt am Main

Bauch, C.; Kolle, S.N.; Fabian, E.; Pachel, C.; Ramirez, T.; Wiench, B.; Wruck, C.J.; Ravenzwaay, B.V.; Landsiedel, R. (2011b)

Intralaboratory validation of four in vitro assays for the prediction of the skin sensitizing potential of chemicals

*Toxicology In Vitro*, 25, 1162-1168

Bergström, M.A.; Luthman, K.; Nilsson, J.L.; Karlberg, A.T. (2006)

Conjugated dienes as prohaptens in contact allergy: in vivo and in vitro studies of structure-activity relationships, sensitizing capacity, and metabolic activation

*Chemical Research in Toxicology*, 19, 760-769

Boukamp, P.; Petrussevska, R.T.; Breitkreutz, D.; Hornung, J.; Markham, A.; Fusenig, N.E. (1988)

Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line

*Journal of Cell Biology*, 106, 761-771

Brand, R.M.; Charron, A.R.; Dutton, L.; Gavlik, T.L.; Mueller, C.; Hamel, F.G.; Chakkalakal, D.; Donohue, T.M. (2004)

Effects of chronic alcohol consumption on dermal penetration of pesticides in rats

*Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 67, 153-161

Buehler, E.V. (1965)

Delayed contact hypersensitivity in the guinea pig

*Archives of Dermatology*, 91, 171-177

Chaudhry, Q.; Piclin, N.; Cotterill, J.; Pintore, M.; Price, N.R.; Chretien, J.R.; Roncaglioni, A. (2010)

Global QSAR models of skin sensitizers for regulatory purposes

*Chemistry Central Journal*, 4, Suppl. 1, S5

Corsini, E.; Mitjans, M.; Galbiati, V.; Lucchi, L.; Galli, C.L.; Marinovich, M. (2009)

Use of IL-18 production in a human keratinocyte cell line to discriminate contact sensitizers from irritants and low molecular weight respiratory allergens

*Toxicology In Vitro*, 23, 789-796

Dearman, R.J.; Kimber, I.; Api, A.M.; Lalko, J. (2011)

Changes in the level of expression and frequency of B220 positive lymphocytes may discriminate more accurately between contact allergens and skin irritants

*Toxicology*, 290, 134-135

Dietz, L.; Esser, P.R.; Schmucker, S.S.; Goette, I.; Richter, A.; Schnolzer, M.; Martin, S.F.; Thierse, H.J. (2010)

Tracking human contact allergens: from mass spectrometric identification of peptide-bound reactive small chemicals to chemical-specific naive human T-cell priming

*Toxicological Sciences*, 117, 336-347

Dimitrov, S.D.; Low, L.K.; Patlewicz, G.Y.; Kern, P.S.; Dimitrova, G.D.; Comber, M.H.I.; Phillips, R.D.; Niemela, J.; Bailey, P.T.; Mekenyan, O.G. (2005)

Skin sensitization: modeling based on skin metabolism simulation and formation of protein conjugates

*International Journal of Toxicology*, 24, 189-205

Divkovic, M. (2006)

Kennziffer FP-0324, Teilprojekt 5.1 „Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung“, FoBiG, Freiburg, Dezember 2012

Hapten-protein binding: what do we know?

*ALTEX - Alternativen zu Tierexperimenten*, 23, Spec. Iss., 229-233

dos Santos, G.G.; Spiekstra, S.W.; Sampat-Sardjoepersad, S.C.; Reinders, J.; Scheper, R.J.; Gibbs, S. (2011)

A potential in vitro epidermal equivalent assay to determine sensitizer potency

*Toxicology In Vitro*, 25, 347-357

Dotson, G.S.; Chen, C.P.; Gadagbui, B.; Maier, A.; Ahlers, H.W.; Lentz, T.J. (2011)

The evolution of skin notations for occupational risk assessment: a new NIOSH strategy

*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 61, 53-62

Draize, J.; Woodard, G.; Calvery, H. (1944)

Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes

*Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 82, 377-390

Draize, J.H. (1959)

Dermal toxicity

In: Association of Food Drug Officials of the United States, Appraisal of the Safety of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics, Topeka, Kansas, 46-59

Dunn, B.J.; Rusch, G.M.; Siglin, J.C.; Blaszcak, D.L. (1990)

Variability of a mouse ear swelling test (MEST) in predicting weak and moderate contact sensitization

*Fundamental and Applied Toxicology*, 15, 242-248

EAHC, Executive Agency for Health and Consumers (2011)

The Critical Review of Methodologies and Approaches to Assess the Inherent Skin Sensitization Potential (skin allergies) of Chemicals. No. 2009 61 04

[http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/docs/service\\_contract\\_20096104\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/docs/service_contract_20096104_en.pdf)

EC, European Commission (2006)

Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC

OJ L 396, 30.12.2006

EC, European Commission (2011)

Toxtree

[http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our\\_labs/computational\\_toxicology/qsar\\_tools/to](http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/computational_toxicology/qsar_tools/to)

ECETOC, European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (2003)

Technical Report No. 87. Contact Sensitisation Classification According to Potency  
Brussels Belgium

Ehling, G.; Hecht, M.; Heusener, A.; Huesler, J.; Gamer, A.O.; van Loveren, H.; Maurer, T.; Riecke, K.; Ullmann, L.; Ulrich, P.; Vandebriel, R.; Vohr, H.-W. (2005a)

An European inter-laboratory validation of alternative endpoints of the murine local lymph node assay: First round

*Toxicology*, 212, 60-68

Ehling, G.; Hecht, M.; Heusener, A.; Huesler, J.; Gamer, A.O.; van Loveren, H.; Maurer, T.; Riecke, K.; Ullmann, L.; Ulrich, P.; Vandebriel, R.; Vohr, H.-W. (2005b)



Kennziffer FP-0324, Teilprojekt 5.1 „Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung“, FoBiG, Freiburg, Dezember 2012

An European inter-laboratory validation of alternative endpoints of the murine local lymph node assay:  
Second round  
*Toxicology*, 212, 69-79

Ellison, C.M.; Madden, J.C.; Judson, P.N.; Cronin, M.T.D. (2010)  
Using in silico tools in a weight of evidence approach to aid toxicological assessment  
*Molecular Informatics*, 29, 97-110

Emter, R.; Ellis, G.; Natsch, A. (2010)  
Performance of a novel keratinocyte-based reporter cell line to screen skin sensitizers in vitro  
*Toxicology and Applied Pharmacology*, 245, 281-290

Enoch, S.J.; Cronin, M.T.; Schultz, T.W.; Madden, J.C. (2008a)  
Quantitative and mechanistic read across for predicting the skin sensitization potential of alkenes acting via Michael addition  
*Chemical Research in Toxicology*, 21, 513-520

Enoch, S.J.; Madden, J.C.; Cronin, M.T. (2008b)  
Identification of mechanisms of toxic action for skin sensitisation using a SMARTS pattern based approach  
*SAR and QSAR in Environmental Research*, 19, 555-578

Enoch, S.J.; Roberts, D.W.; Cronin, M.T. (2009)  
Electrophilic reaction chemistry of low molecular weight respiratory sensitizers  
*Chemical Research in Toxicology*, 22, 1447-1453, zitiert nach Emter et al., 2010

EPA, Environmental Protection Agency (2011)  
Estimation Programs Interface Suite™ for Microsoft® Windows, v 4.10.  
Online: <http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuite.htm>, Druckdatum: 2011  
U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA

EU, Europäische Union (2011)  
Verordnung (EU) Nr. 286/2011 der Kommission vom 10. März 2011 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen zwecks Anpassung an den technischen und wissenschaftlichen Fortschritt  
*Amtsblatt der Europäischen Union. L 83, 54, 1-57*

Fransson, J.; Heffler, L.C.; Tengvall Linder, M.; Scheynius, A. (1998)  
Culture of human epidermal Langerhans cells in a skin equivalent  
*British Journal of Dermatology*, 139, 598-604

Fukuyama, T.; Ueda, H.; Hayashi, K.; Tajima, Y.; Shuto, Y.; Kosaka, T.; Harada, T. (2008)  
Sensitizing potential of chromated copper arsenate in local lymph node assays differs with the solvent used  
*Journal of Immunotoxicology*, 5, 99-106, zitiert nach ICCVAM, 2009

Gad, S.C.; Dunn, B.J.; Dobbs, D.W.; Reilly, C.; Walsh, R.D. (1986)  
Development and validation of an alternative dermal sensitization test: the mouse ear swelling test (MEST)  
*Toxicology and Applied Pharmacology*, 84, 93-114

Gamer, A.O.; Nies, E.; Vohr, H.-W. (2008)  
Local lymph node assay (LLNA): comparison of different protocols by testing skin-sensitizing epoxy resin system components  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52, 290-298

Kennziffer FP-0324, Teilprojekt 5.1 „Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung“, FoBiG, Freiburg, Dezember 2012

Garcia, C.; Ball, N.; Cagen, S.; Carrillo, J.-C.; Certa, H.; Eigler, D.; Esch, H.; Graham, C.; Haux, C.; Kreiling, R.; Mehling, A. (2010)

Comparative testing for the identification of skin-sensitizing potentials of nonionic sugar lipid surfactants

*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58, 301-307

Garrigue, J.L.; Nicolas, J.F.; Fraginals, R.; Benezra, C.; Bour, H.; Schmitt, D. (1994)

Optimization of the mouse ear swelling test for in vivo and in vitro studies of weak contact sensitizers

*Contact Dermatitis*, 30, 231-237

Gatnik, M.F.; Worth, A. (2010)

Review of Software Tools for Toxicity Prediction. EUR 24489 EN

European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection

Gerberick, F.; Aleksic, M.; Basketter, D.; Casati, S.; Karlberg, A.T.; Kern, P.; Kimber, I.; Lepoittevin, J.P.; Natsch, A.; Ovigne, J.M.; Rovida, C.; Sakaguchi, H.; Schultz, T. (2008)

Chemical reactivity measurement and the predictive identification of skin sensitizers

*ATLA, Alternatives to Laboratory Animals*, 36, 215-242

Gerberick, G.F.; Ryan, C.A.; Kern, P.S.; Schlatter, H.; Dearman, R.J.; Kimber, I.; Patlewicz, G.; Basketter, D.A. (2005)

Compilation of historical local lymph node data for the evaluation of skin sensitization alternatives

*Dermatitis*, 16, 157-202

Gerberick, G.F.; Vassallo, J.D.; Bailey, R.E.; Chaney, J.G.; Morrall, S.W.; Lepoittevin, J.P. (2004)

Development of a peptide reactivity assay for screening contact allergens

*Toxicological Sciences*, 81, 332-343

Gerberick, G.F.; Vassallo, J.D.; Foertsch, L.M.; Price, B.B.; Chaney, J.G.; Lepoittevin, J.P. (2007)

Quantification of chemical peptide reactivity for screening contact allergens: a classification tree model approach

*Toxicological Sciences*, 97, 417-427

Gildea, L.A.; Ryan, C.A.; Foertsch, L.M.; Kennedy, J.M.; Dearman, R.J.; Kimber, I.; Gerberick, G.F. (2006)

Identification of gene expression changes induced by chemical allergens in dendritic cells: opportunities for skin sensitization testing

*Journal of Investigative Dermatology*, 126, 1813-1822

Golla, S.; Madihally, S.; Robinson, R.L.; Gasem, K.A.M. (2009)

Quantitative structure-property relationship modeling of skin sensitization: A quantitative prediction

*Toxicology In Vitro*, 23, 454-465

Gould, J.C.; Taylor, S. (2011)

Hazard identification of strong dermal sensitizers

*Toxicology Mechanisms and Methods*, 21, 86-92

Graham, C.; Gealy, R.; Macina, O.T.; Karol, M.H.; Rosenkranz, H.S. (1996)

QSAR for allergic contact dermatitis

*Quantitative Structure-Activity Relationships*, 15, 224-229

Guy, R.H.; Potts, R.O. (1993)

Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model

*American Journal of Industrial Medicine*, 23, 711-719

Hennen, J.; Aeby, P.; Goebel, C.; Schettgen, T.; Oberli, A.; Kalmes, M.; Blömeke, B. (2011)

Kennziffer FP-0324, Teilprojekt 5.1 „Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung“, FoBiG, Freiburg, Dezember 2012

Cross talk between keratinocytes and dendritic cells: impact on the prediction of sensitization  
*Toxicological Sciences*, 123, 501-510

Hoffmann, S. (2006)  
ECVAM Skin Irritation Validation Study Phase II: Analysis of the Primary Endpoint MTT and the Secondary Endpoint IL1- $\alpha$   
European Commission, JRC, Joint Research Centre, IHCP - Institute of Health and Consumer Protection, Ispra, Italy

Hooyberghs, J.; Schoeters, E.; Lambrechts, N.; Nelissen, I.; Witters, H.; Schoeters, G.; Van Den Heuvel, R. (2008)  
A cell-based in vitro alternative to identify skin sensitizers by gene expression  
*Toxicology and Applied Pharmacology*, 231, 103-111

ICCVAM, Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (2010)  
ICCVAM Test Method Evaluation Report on Using the LLNA for Testing Pesticide Formulations, Metals, Substances in Aqueous Solutions, and Other Products. NIH Publication No. 10-7512  
<http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/immunotox/LLNA-app/TMER.htm>  
National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC

ICCVAM, Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (2011)  
ICCVAM Test Method Evaluation Report: Usefulness and Limitations of the Murine Local Lymph Node Assay for Potency Categorization of Chemicals Causing Allergic Contact Dermatitis in Humans. NIH Publication No. 11-7709  
National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC  
[http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/immunotox\\_docs/LLNA-pot/TMER.pdf](http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/immunotox_docs/LLNA-pot/TMER.pdf)

Jowsey, I.R.; Basketter, D.A.; Westmoreland, C.; Kimber, I. (2006)  
A future approach to measuring relative skin sensitising potency: a proposal  
*Journal of Applied Toxicology*, 26, 341-350

Jowsey, I.R.; Clapp, C.J.; Safford, B.; Gibbons, B.T.; Basketter, D.A. (2008)  
The impact of vehicle on the relative potency of skin sensitising chemicals in the local lymph node assay  
*Cutaneous and Ocular Toxicology*, 27, 67-75

Kandárová, H.; Hayden, P.; Klausner, M.; Kubilus, J.; Kearney, P.; Sheasgreen, J. (2009)  
In vitro skin irritation testing: Improving the sensitivity of the EpiDerm skin irritation test protocol  
*ATLA, Alternatives to Laboratory Animals*, 37, 671-689

Kayser, D.; Schlede, E. (2001)  
Chemikalien und Kontaktallergie - Eine bewertende Zusammenstellung  
Grundwerk -Komplettfassung vollst. überarb. - 2001 Urban und Vogel München

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 and Chemical Toxicology*, 41, 1799-1809

Kimber, I.; Dearman, R.J.; Basketter, D.A.; Ryan, C.A.; Gerberick, G.F.; McNamee, P.M.; Lalko, J.; Api, A.M. (2008)  
Dose metrics in the acquisition of skin sensitization: thresholds and importance of dose per unit area  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52, 39-45

Kimber, I.; Mitchell, J.A.; Griffin, A.C. (1986)  
Development of a murine local lymph node assay for the determination of sensitizing potential

*Food and Chemical Toxicology*, 24, 585-486

Kissenpfennig, A.; Malissen, B. (2006)  
Langerhans cells - revisiting the paradigm using genetically engineered mice  
*Trends in Immunology*, 27, 132-139

Klecak, G. (2004)  
Test methods for allergic contact dermatitis in animals  
In: Zhai, H.; Maibach, H.I., *Dermatotoxicology*, 6. ed., Informa Healthcare,

Kligman, A.M. (1966)  
The identification of contact allergens by human assay. III. The maximization test: a procedure for screening and rating contact sensitizers  
*Journal of Investigative Dermatology*, 47, 393-409

Kreiling, R.; Hollnagel, H.M.; Hareng, L.; Eigler, D.; Lee, M.S.; Griem, P.; Dreeßen, B.; Kleber, M.; Albrecht, A.; Garcia, C.; Wendel, A. (2008)  
Comparison of the skin sensitizing potential of unsaturated compounds as assessed by the murine local lymph node assay (LLNA) and the guinea pig maximization test (GPMT)  
*Food and Chemical Toxicology*, 46, 1896-1904

Lambrechts, N.; Nelissen, I.; Van Tendeloo, V.; Witters, H.; Van Den Heuvel, R.; Hooyberghs, J.; Schoeters, G. (2011)  
Functionality and specificity of gene markers for skin sensitization in dendritic cells  
*Toxicology Letters*, 203, 106-110

Lambrechts, N.; Vanheel, H.; Nelissen, I.; Witters, H.; van den Heuvel, R.; van Tendeloo, V.; Schoeters, G.; Hooyberghs, J. (2010)  
Assessment of chemical skin-sensitizing potency by an in vitro assay based on human dendritic cells  
*Toxicological Sciences*, 116, 122-129

Larsen, J.M.; Bonefeld, C.M.; Poulsen, S.S.; Geisler, C.; Skov, L. (2009)  
IL-23 and T(H)17-mediated inflammation in human allergic contact dermatitis  
*Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123, 486-492

Lass, C.; Merfort, I.; Martin, S.F. (2010)  
*In vitro* and *in vivo* analysis of pro- and anti-inflammatory effects of weak and strong contact allergens  
*Experimental Dermatology*, 19, 1007-1013

Loveless, S.E.; Api, A.M.; Crevel, R.W.; Debruyne, E.; Gamer, A.; Jowsey, I.R.; Kern, P.; Kimber, I.; Lea, L.; Lloyd, P.; Mehmood, Z.; Steiling, W.; Veenstra, G.; Woolhiser, M.; Hennes, C. (2010)  
Potency values from the local lymph node assay: application to classification, labelling and risk assessment  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 56, 54-66

Magnusson, B.; Kligman, A.M. (1969)  
The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test  
*Journal of Investigative Dermatology*, 52, 268-276

Martin, S.F.; Esser, P.R.; Schmucker, S.; Dietz, L.; Naisbitt, D.J.; Park, B.K.; Vocanson, M.; Nicolas, J.-F.; Keller, M.; Pichler, W.J.; Peiser, M.; Luch, A.; Wanner, R.; Maggi, E.; Cavani, A.; Rustemeyer, T.; Richter, A.; Thierse, H.-J.; Sallusto, F. (2010)  
T-cell recognition of chemicals, protein allergens and drugs: towards the development of in vitro assays  
*Cellular and Molecular Life Sciences*, 67, 4171-4184

Kennziffer FP-0324, Teilprojekt 5.1 „Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung“, FoBiG, Freiburg, Dezember 2012

Marzulli, F.N.; Maibach, H.I. (1973)  
Antimicrobials: experimental contact sensitization in man  
*Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 24, 399-421

Marzulli, F.N.; Maibach, H.I. (1974)  
The use of graded concentrations in studying skin sensitization: experimental contact sensitization in man  
*Food and Cosmetics Toxicology*, 12, 219-227

Matzinger, P. (1994)  
Tolerance, danger, and the extended family  
*Annual Review of Immunology*, 12, 991-1045

Matzinger, P. (2007)  
Friendly and dangerous signals: is the tissue in control?  
*Nature Immunology*, 8, 11-13

Maxwell, G.; Aeby, P.; Ashikaga, T.; Bessou-Touya, S.; Diembeck, W.; Gerberick, F.; Kern, P.; Marrec-Fairley, M.; Ovigne, J.M.; Sakaguchi, H.; Schroeder, K.; Tailhardat, M.; Teissier, S.; Winkler, P. (2011)  
Skin sensitisation: the Colipa strategy for developing and evaluating non-animal test methods for risk assessment  
*ALTEX - Alternativen zu Tierexperimenten*, 28, 50-55

Maxwell, G.; Mackay, C. (2008)  
Application of a systems biology approach to skin allergy risk assessment  
*ATLA, Alternatives to Laboratory Animals*, 36, 521-556

Mekenyan, O.; Patlewicz, G.; Dimitrova, G.; Kuseva, C.; Todorov, M.; Stoeva, S.; Kotov, S.; Donner, E.M. (2010)  
Use of genotoxicity information in the development of Integrated Testing Strategies (ITS) for skin sensitization  
*Chemical Research in Toxicology*, 23, 1519-1540

Mekenyan, O.G.; Dimitrov, S.D.; Pavlov, T.S.; Veith, G.D. (2004)  
A systematic approach to simulating metabolism in computational toxicology. I. The TIMES heuristic modelling framework  
*Current Pharmaceutical Design*, 10, 1273-1293, zitiert nach Dimitrov et al., 2005

Meschkat, E.; Barratt, M.D.; Lepoittevin, J. (2001a)  
Studies of the chemical selectivity of hapten, reactivity, and skin sensitization potency. 1. Synthesis and studies on the reactivity toward model nucleophiles of the (13)C-labeled skin sensitizers hex-1-ene- and hexane-1,3-sultones  
*Chemical Research in Toxicology*, 14, 110-117, zitiert nach Basketter und Kimber, 2009

Meschkat, E.; Barratt, M.D.; Lepoittevin, J. (2001b)  
Studies of the chemical selectivity of hapten, reactivity, and skin sensitization potency. 2. nmr studies of the covalent binding of the (13)c-labeled skin sensitizers 2-[13C]- and 3-[13C]hex-1-ene- and 3-[13C]hexane-1,3-sultones to human serum albumin  
*Chemical Research in Toxicology*, 14, 118-126, zitiert nach Basketter und Kimber, 2009

Mosmann, T. (1983)  
Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays  
*Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63

Kennziffer FP-0324, Teilprojekt 5.1 „Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung“, FoBiG, Freiburg, Dezember 2012

Moss, G.P.; Dearden, J.C.; Patel, H.; Cronin, M.T. (2002)  
Quantitative structure-permeability relationships (QSPRs) for percutaneous absorption  
*Toxicology In Vitro*, 16, 299-317

Natsch, A. (2010)  
The Nrf2-Keap1-ARE toxicity pathway as a cellular sensor for skin sensitizers - functional relevance and a hypothesis on innate reactions to skin sensitizers  
*Toxicological Sciences*, 113, 284-292

Natsch, A.; Bauch, C.; Foertsch, L.; Gerberick, F.; Norman, K.; Hilberer, A.; Inglis, H.; Landsiedel, R.; Onken, S.; Reuter, H.; Schepky, A.; Emter, R. (2011)  
The intra- and inter-laboratory reproducibility and predictivity of the KeratinoSens assay to predict skin sensitizers in vitro: Results of a ring-study in five laboratories  
*Toxicology In Vitro*, 25, 733-744

Natsch, A.; Emter, R. (2008)  
Skin sensitizers induce antioxidant response element dependent genes: application to the *in vitro* testing of the sensitization potential of chemicals  
*Toxicological Sciences*, 102, 110-119

Natsch, A.; Emter, R.; Ellis, G. (2009)  
Filling the concept with data: integrating data from different *in vitro* and *in silico* assays on skin sensitizers to explore the battery approach for animal-free skin sensitization testing  
*Toxicological Sciences*, 107, 106-121

Neves, B.M.; Goncalo, M.; Figueiredo, A.; Duarte, C.B.; Lopes, M.C.; Cruz, M.T. (2011)  
Signal transduction profile of chemical sensitizers in dendritic cells: an endpoint to be included in a cell-based *in vitro* alternative approach to hazard identification?  
*Toxicology and Applied Pharmacology*, 250, 87-95

Niklasson, I.B.; Broo, K.; Jonsson, C.; Luthman, K.; Karlberg, A.-T. (2009)  
Reduced sensitizing capacity of epoxy resin systems: a structure-activity relationship study  
*Chemical Research in Toxicology*, 22, 1787-1794

Niklasson, I.B.; Delaine, T.; Luthman, K.; Karlberg, A.T. (2011)  
Impact of a heteroatom in a structure-activity relationship study on analogues of phenyl glycidyl ether (PGE) from epoxy resin systems  
*Chemical Research in Toxicology*, 24, 542-548

Nosbaum, A.; Vocanson, M.; Rozieres, A.; Hennino, A.; Nicolas, J.F. (2009)  
Allergic and irritant contact dermatitis  
*European Journal of Dermatology*, 19, 325-332

Nukada, Y.; Ashikaga, T.; Sakaguchi, H.; Sono, S.; Mugita, N.; Hirota, M.; Miyazawa, M.; Ito, Y.; Sasa, H.; Nishiyama, N. (2011)  
Predictive performance for human skin sensitizing potential of the human cell line activation test (h-CLAT)  
*Contact Dermatitis*, 65, 343-353

OECD, Organisation for Economic Co-Operation and Development (1992)  
OECD Guideline for Testing of Chemicals. Skin Sensitisation. No. 406. Adopted: 17<sup>th</sup> July 1992

OECD, Organisation for Economic Co-Operation and Development (2002)  
OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Skin Sensitization: Local Lymph Node Assay. No. 429, Adopted: 24<sup>th</sup> April 2002

Kennziffer FP-0324, Teilprojekt 5.1 „Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung“, FoBiG, Freiburg, Dezember 2012

OECD, Organisation for Economic Co-Operation and Development (2004)  
The Report from the Expert Group on (Quantitative) Structure-Activity Relationships [(Q)SARs] on the principles for the Validation of (Q)SARs. 2nd Meeting of the ad hoc Expert Group on QSARs, OECD Headquarters, 20-21 September, 2004. OECD Series on Testing and Assessment No. 49  
Paris, France  
<http://www.oecd.org/env/hazard/qsar>

OECD, Organisation for Economic Co-Operation and Development (2007)  
Guidance Document on the Validation of (Quantitative) Structure-Activity [(Q)SAR] Models. OECD Environment Health and Safety Publications  
Series on Testing and Assessment No. 69. ENV/JM/MONO(2007)2  
Paris, France  
<http://www.oecd.org/dataoecd/55/35/38130292.pdf>

OECD, Organisation for Economic Co-Operation and Development (2010a)  
OECD Guideline for the Testing of Chemicals. In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. No. 439, Adopted: 22 July 2010  
<http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECD-TG439.pdf>

OECD, Organisation for Economic Co-Operation and Development (2010b)  
OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Skin Sensitization: Local Lymph Node Assay. No. 429, Adopted: 22 July 2010

OECD, Organisation for Economic Co-Operation and Development (2010c)  
OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Skin Sensitization: Local Lymph Node Assay: BrdU-Elisa. No. 442B, Adopted: 22 July 2010

OECD, Organisation for Economic Co-Operation and Development (2010d)  
OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Skin Sensitization: Local Lymph Node Assay: DA. No. 442A, Adopted: 22 July 2010

Patlewicz, G.; Mekenyan, O.; Dimitrova, G.; Kuseva, C.; Todorov, M.; Kotov, S.; Stoeva, S.; Donner, E.M. (2010)  
Can mutagenicity information be useful in an Integrated Testing Strategy (ITS) for skin sensitization? *SAR and QSAR in Environmental Research*, 21, 619-656

Patlewicz, G.; Worth, A. (2008)  
Review of Data Sources, QSARs and Integrated Testing Strategies for Skin Sensitisation. JRC Scientific and Technical Reports. EUR 23225 EN  
European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection, Luxembourg

Potts, R.O.; Guy, R.H. (1992)  
Predicting skin permeability  
*Pharmaceutical Research*, 9, 663-669

Python, F.; Goebel, C.; Aeby, P. (2007)  
Assessment of the U937 cell line for the detection of contact allergens  
*Toxicology and Applied Pharmacology*, 220, 113-124

Regnier, M.; Staquet, M.J.; Schmitt, D.; Schmidt, R. (1997)  
Integration of Langerhans cells into a pigmented reconstructed human epidermis  
*Journal of Investigative Dermatology*, 109, 510-512

Roberts, D.W. (2011)  
Interconversion between local lymph node assay EC3 units

*Contact Dermatitis*, 65, 59

Roberts, D.W.; Aptula, N.O.; Patlewicz, G.Y. (2011)  
Chemistry-based risk assessment for skin sensitization: quantitative mechanistic modelling for the S<sub>N</sub>Ar domain  
*Chemical Research in Toxicology*, 24, 1003-1011

Ryan, C.A.; Gildea, L.A.; Hulette, B.C.; Dearman, R.J.; Kimber, I.; Gerberick, G.F. (2004)  
Gene expression changes in peripheral blood-derived dendritic cells following exposure to a contact allergen  
*Toxicology Letters*, 150, 301-316

Sakaguchi, H.; Ashikaga, T.; Miyazawa, M.; Kosaka, N.; Ito, Y.; Yoneyama, K.; Sono, S.; Itagaki, H.; Toyoda, H.; Suzuki, H. (2009)  
The relationship between CD86/CD54 expression and THP-1 cell viability in an in vitro skin sensitization test - human cell line activation test (h-CLAT)  
*Cell Biology and Toxicology*, 25, 109-126

Sakaguchi, H.; Ashikaga, T.; Miyazawa, M.; Yoshida, Y.; Ito, Y.; Yoneyama, K.; Hirota, M.; Itagaki, H.; Toyoda, H.; Suzuki, H. (2006)  
Development of an in vitro skin sensitization test using human cell lines; human Cell Line Activation Test (h-CLAT). II. An inter-laboratory study of the h-CLAT  
*Toxicology In Vitro*, 20, 774-784

Sakaguchi, H.; Ryan, C.; Ovigne, J.M.; Schroeder, K.R.; Ashikaga, T. (2010)  
Predicting skin sensitization potential and inter-laboratory reproducibility of a human Cell Line Activation Test (h-CLAT) in the European Cosmetics Association (COLIPA) ring trials  
*Toxicology In Vitro*, 24, 1810-1820

Schoeters, E.; Verheyen, G.R.; Nelissen, I.; Van Rompay, A.R.; Hooyberghs, J.; Van Den Heuvel, R.L.; Witters, H.; Schoeters, G.E.; Van Tendeloo, V.F.; Berneman, Z.N. (2007)  
Microarray analyses in dendritic cells reveal potential biomarkers for chemical-induced skin sensitization  
*Molecular Immunology*, 44, 3222-3233

Schreiner, M. (2010)  
Evaluation und Weiterentwicklung eines in vitro Testverfahrens zur Bestimmung des sensibilisierenden Potenzials von Kontaktallergenen. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Doctor medicinae (Dr. med.)  
vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

Schreiner, M.; Peiser, M.; Briechle, D.; Stahlmann, R.; Zuberbier, T.; Wanner, R. (2007)  
A loose-fit coculture of activated keratinocytes and dendritic cell-related cells for prediction of sensitizing potential  
*Allergy*, 62, 1419-1428

Schreiner, M.; Peiser, M.; Briechle, D.; Stahlmann, R.; Zuberbier, T.; Wanner, R. (2008)  
A new dendritic cell type suitable as sentinel of contact allergens  
*Toxicology*, 249, 146-152

Schultz, T.W.; Rogers, K.; Aptula, A.O. (2009)  
Read-across to rank skin sensitization potential: subcategories for the Michael acceptor domain  
*Contact Dermatitis*, 60, 21-31

Seidle, T.; Spielmann, H. (2011)



Kennziffer FP-0324, Teilprojekt 5.1 „Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung“, FoBiG, Freiburg, Dezember 2012

Alternative Testing Strategies. Progress Report 2011 & AXLR8-2 Workshop Report on a 'Roadmap to Innovative Toxicity Testing'

AXLR8 Administration, Freie Universität Berlin, Institute of Pharmacy

<http://axlr8.eu/assets/axlr8-progress-report-2011.pdf>

Shelanski, H.A. (1951)

Experience with and considerations of the human patch test method

*Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 2, 324-331

Shelanski, H.A.; Shelanski, W.V. (1953)

A new technique of human patch tests

*Proc Sci Sect Toilet Goods Association*, 19, 46-49

Spielmann, H.; Hoffmann, S.; Liebsch, M.; Botham, P.; Fentem, J.H.; Eskes, C.; Roguet, R.; Cotovio, J.; Cole, T.; Worth, A.; Heylings, J.; Jones, P.; Robles, C.; Kandarova, H.; Gamer, A.; Remmele, M.; Curren, R.; Raabe, H.; Cockshott, A.; Gerner, I.; Zuang, V. (2007)

The ECVAM international validation study on *in vitro* tests for acute skin irritation: report on the validity of the EPIKIN and EpiDerm assays and on the Skin Integrity Function Test

*ATLA, Alternatives to Laboratory Animals*, 35, 559-601

Spielmann, H.; Seidle, T.; Kral, V.; Schäfer-Korting, M.; Schoeters, G.; Rowan, A. (2010)

Alternative Testing Strategies. Progress Report 2010. Replacing, reducing and refining use of animals in research

AXLR8 Administration, Freie Universität Berlin, Institute of Pharmacy

<http://axlr8.eu/axlr8-2010-progress-report.pdf>

Strobl, C.; Malley, J.; Tutz, G. (2009)

An Introduction to Recursive Partitioning: Rationale, Application and Characteristics of Classification and Regression Trees, Bagging and Random Forests. Technical Report Number 55

Department of Statistics, University of Munich

<http://epub.ub.uni-muenchen.de/10589/1/partitioning.pdf>

van Loveren, H.; Cockshott, A.; Gebel, T.; Gundert-Remy, U.; de Jong, W.H.; Matheson, J.; McGarry, H.; Musset, L.; Selgrade, M.K.; Vickers, C. (2008)

Skin sensitization in chemical risk assessment: Report of a WHO/IPCS international workshop focusing on dose-response assessment

*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 50, 155-199

Vandebriel, R.J.; van Loveren, H. (2010)

Non-animal sensitization testing: state-of-the-art

*Critical Reviews in Toxicology*, 40, 389-404

Vocanson, M.; Cluzel-Tailhardat, M.; Poyet, G.; Valeyrie, M.; Chavagnac, C.; Levarlet, B.; Courtellemont, P.; Rozieres, A.; Hennino, A.; Nicolas, J.F. (2008)

Depletion of human peripheral blood lymphocytes in CD25+ cells allows for the sensitive *in vitro* screening of contact allergens

*Journal of Investigative Dermatology*, 128, 2119-2122

Vohr, H.-W.; Ahr, H.J. (2005)

The local lymph node assay being too sensitive?

*Archives of Toxicology*, 79, 721-728

Voss, J.G. (1958)

Skin sensitization by mercaptans of low molecular weight

*Journal of Investigative Dermatology*, 31, 273-279

Kennziffer FP-0324, Teilprojekt 5.1 „Beschreibung von Ansätzen zur Charakterisierung der sensibilisierenden Wirkstärke und Prüfung von deren Eignung“, FoBiG, Freiburg, Dezember 2012

Wang-Fan, W.; Ullmann, L. (2008)

The performance of five standard vehicles in LLNA test  
*RCC Ltd / Researcher*, No. 27, 4-6

Wanner, R.; Sonnenburg, A.; Quatchadze, M.; Schreiner, M.; Peiser, M.; Zuberbier, T.; Stahlmann, R. (2010)

Classification of sensitizing and irritative potential in a combined in-vitro assay  
*Toxicology and Applied Pharmacology*, 245, 211-218

Warbrick, E.V.; Dearman, R.J.; Ashby, J.; Schmezer, P.; Kimber, I. (2001)

Preliminary assessment of the skin sensitizing activity of selected rodent carcinogens using the local lymph node assay  
*Toxicology*, 163, 63-69

Wright, Z.; Basketter, D.A.; Blaikie, L.; Cooper, K.J.; Warbrick, E.V.; Dearman, R.J.; Kimber, I. (2001)  
Vehicle effects on skin sensitizing potency of four chemicals: assessment using the local lymph node assay

*International Journal of Cosmetic Science*, 23, 75-84

Zuang, V.; Barroso, J.; Bremer, S.; Casati, S.; Ceridono, M.; Coecke, S.; Corvi, R.; Eskes, C.; Kinsner, A.; Pellizzer, C.; Prieto, P.; Worth, A.; Kreysa, J. (2010)

ECVAM Technical Report on the Status of Alternative Methods for Cosmetics Testing (2008-2009). A report prepared in the framework of Directive 2003/15/EC (7th Amendment to the Cosmetics Directive). EUR 24413 EN

European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection, Ispra, Italy

[http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/pdf/animal\\_testing/at\\_ecvam\\_2008-2009\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/pdf/animal_testing/at_ecvam_2008-2009_en.pdf)

Forschungsvorhaben

## **Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke**

gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen  
Unfallversicherung (DGUV)

Kennziffer FP-0324

### **Teilprojekt 5.1a**

#### **Beschreibung der im Projekt durchgeführten *in vitro* Testung**

Dezember 2012

Endbericht

Bearbeitung:  
Dr. Karin Heine, Dr. Fritz Kalberlah, Dr. Martin Hassauer  
Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG)  
Klarastr. 63, 79106 Freiburg

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>B 3</b>
1.1	Projektbezogene <i>in vitro</i> Testung .....	B 3
<b>2</b>	<b>Beschreibung der angewandten Tests.....</b>	<b>B 10</b>
2.1	KeratinoSens™.....	B 10
2.2	h-CLAT .....	B 10

# 1 Einleitung

## 1.1 Projektbezogene *in vitro* Testung

Beim vorläufigen Ranking der Epoxidharzinhaltstoffe wurden wesentliche Datenlücken identifiziert (Zwischenbericht Februar 2012), so dass eine Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke in vielen Fällen nicht möglich war. Eine andiskutierte Möglichkeit, diese Datenlücken zu schließen, war die Durchführung verschiedener *in vitro* Testungen. Im Rahmen der finanziellen Möglichkeiten des Projekts wurden einige *in vitro* Tests initiiert (2. Begleitkreistreffen). Es sollte versucht werden, die Datenlage so verbessern zu können, dass zumindest eine relative Bewertung innerhalb einer technisch vergleichbaren Gruppe machbar ist. Folgende Möglichkeiten für eine gezielte *in vitro* Testung zur Verbesserung der Datenlage wurden gesehen (3 Testreihen siehe Tabelle 1, Tabelle 2 und Tabelle 3; weitere Details bezüglich der Eignung der vorgeschlagenen Testungen, sowie Begründungen sind in Teilbericht 5.3 „Bewertung“ bei den gruppenspezifischen Zusammenfassungen dokumentiert):

Tabelle 1. Aliphatische, cycloaliphatische und sonstige Härter

Substanz	CAS-Nr.	Gruppe (Subgruppe)	Kategorie <sup>1</sup>	Relevanz <sup>2</sup>	Anmerkung	Vorhandene <i>in vitro</i> Tests		
TESTREIHE 1:	Testvorschlag KeratinoSens™ und h-CLAT					DPRA	KeratinoSens™	h-CLAT
Ethylendiamin (EDA)	107-15-3	Härter (aliphatisch)	HS	2/1/n=9	Referenz <sup>3</sup>	Emter 2010 Bauch 2011	Emter 2010 Bauch 2011 Natsch 2009	Bauch 2011 <sup>4</sup> Skaguchi, 2009
Diethylentriamin (DETA)	111-40-0	Härter (aliphatisch)	HS	2/1/n=65		Emter 2010	Emter 2010	
Dipropylentriamin	56-18-8	Härter (aliphatisch)	U → GMS	2/1/n=2				
Trimethylhexamethylendiamin	25620-58-0	Härter (aliphatisch)	HS	1/1/n=320				
Triethylentetramin	112-24-3	Härter (aliphatisch)	HS	1/1/n=138				
N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan	109-55-7	Härter (aliphatisch)	U → GMS	2/1/n=18		Gerberick, 2004b		Nukada 2011
Tetraethylenpentamin	112-57-2	Härter (aliphatisch)	GMS	2/1/n=94	REACH 2013			
Pentaethylenhexamin	4067-16-7	Härter (aliphatisch)	GMS	2/1/n=24				

<sup>1</sup> Stand Zuordnung 3.12.2012

<sup>2</sup> Das Relevanzkriterium wurde durch unterschiedliche Quellen befüllt. Einerseits die Einschätzung der BG ETEM und der Deutschen Bauchemie aus der Expertenbefragung zur Relevanzabschätzung (durchgeführt September/Oktober 2011; **Kategorie 1**: relevant/Häufig verwendet; **Kategorie 2**: mäßig relevant/selten verwendet; **Kategorie 3**: nicht relevant/nicht verwendet) und andererseits die im IVDK Bericht enthaltene Auswertung zur Anzahl der Nennungen von der GISBAU ausgewerteten Datenblättern zu Epoxidharzsystemen (N=x). Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Auswertung durch Kersting, 2011).

<sup>3</sup> Beispiel: EDA und DETA: Beide Inhaltsstoffe wurden anhand der jeweils verfügbaren Daten in die Kategorie HS eingeordnet. Die Gesamtheit der Ergebnisse verdeutlicht jedoch auch, dass die Wirkstärke von DETA im Vergleich zu EDA als geringer anzusehen ist, trotzdem müssen beide der Kategorie HS zugeordnet werden. Letztlich heißt dies, dass es sehr wahrscheinlich auch innerhalb der Kategorien noch Wirkstärkenunterschiede gibt. Diese Unterschiede führen dazu, dass ähnliche Inhaltsstoffe jeweils relativ zueinander in Bezug gesetzt werden sollten.

<sup>4</sup> Zusätzlich Ergebnisse aus dem MUSST

Substanz	CAS-Nr.	Gruppe (Subgruppe)	Kategorie <sup>1</sup>	Relevanz <sup>2</sup>	Anmerkung	Vorhandene <i>in vitro</i> Tests		
N-Aminoethyl-piperazin (AEP)	140-31-8	Härter (cycloaliph.)	U	2/1/n=65				
3-Cyclohexyl-aminopropylamin	3312-60-5	Härter (cycloaliph.)	U	2/1/n=65				
N-cyanethyliertes Trimethylhexamethyldiamin	93941-62-9	Härter (sonstige)	U	2/1/n=65				
m-Xylyldiamin /Acrylonitril Adduct	73050-11-0	Härter (sonstige)	U	2/1/n=65				
1,10-Diamino-4,7,dioxadecan	2997-01-5	Härter (sonstige)	U	2/1/n=65				
2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol	90-72-2	Härter (Phenole)	U	2/1/n=65				

Tabelle 2. Phthalsäureanhydride (Härter, heißhärtender Epoxidharzsysteme)

Substanz	CAS-Nr.	Gruppe (Subgruppe)	Kategorie <sup>5</sup>	Relevanz <sup>6</sup>	Anmerkung	Vorhandene <i>in vitro</i> Tests		
<b>TESTREIHE 2:</b>	<b>Testvorschlag DPRA und h-CLAT</b>					<b>DPRA</b>	<b>KeratinoSens™</b>	<b>h-CLAT &amp; MUSST</b>
Phthalsäureanhydrid	85-44-9	Säureanhydride	HS → SHS	3/3	Referenz	Gerberick, 2004b	Bauch 2011 Natsch 2009	Bauch 2011
Tetrahydro-phthalsäureanhydrid	85-43-9	Säureanhydride	HS	1/3				
Hexahydro-phthalsäureanhydrid	85-42-7	Säureanhydride	HS	1/3				
Methyltetrahydro-phthalsäureanhydrid	11070-44-3	Säureanhydride	U	1/3				
Methylhexahydro-phthalsäureanhydrid	25550-51-0	Säureanhydride	U	1/3				

<sup>5</sup> Stand Zuordnung 3.12.2012

<sup>6</sup> Siehe Fußnote 2. Jedoch keine GISBAU Auswertung, da die Säureanhydride als Härter heißhärtender Systeme im Baugewerbe praktisch nicht vorkommen.



Tabelle 3. Reaktivverdünner

Substanz	CAS-Nr.	Gruppe (Subgruppe)	Kategorie <sup>7</sup>	Relevanz <sup>8</sup>	Anmerkung	Vorhandene <i>in vitro</i> Tests		
						DPRA	KeratinoSens™	h-CLAT
<b>TESTREIHE 3:</b>	<b>Testvorschlag DPRA und KeratinoSens™</b>					<b>DPRA</b>	<b>KeratinoSens™</b>	<b>h-CLAT</b>
Butyl-GE	2426-08-6	RV (GE)	GMS	3/1/n=0	Referenz	Emter, 2010 Niklasson, 2009 Natsch 2009	Delaine 2009 Natsch 2009 Emter 2010	Nukada 2009; FP-0324
(2-Ethylhexyl-GE)	2461-15-6	RV (GE)	U	3/1/n=33	REACH2013			
p-tert-Butylphenol-GE	3101-60-8	RV (GE)	U	2/1/n=54	REACH2013			
C12/C14-Mono-GE	68609-97-2	RV (GE)	U → GMS	1/1/n=458			FP-0324	FP-0324
Phenyl-GE	122-60-1	RV (GE)	HS	2/1/n=0	Referenz	Niklasson, 2009	Delaine 2009 FP-0324	FP-0324
Isomerengemisch Kresyl-GE	26447-14-3	RV (GE)	HS	3/3/n=24	Referenz			
o-Kreslyglycidylether <sup>9</sup>	2210-79-9	RV (GE)	HS					FP-0324
1,4-Butanol-DGE	2425-79-8	RV (DGE)	HS	1/1/n=29	Referenz		FP-0324	FP-0324
Neopentylglykol-DGE	17557-23-2	RV (DGE)	U	3/1/n=26			FP-0324	FP-0324
1,6-Hexandiol-DGE	16096-31-4	RV (DGE)	HS	1/1/n=321			FP-0324	FP-0324
Dipropylenglykol-DGE	41638-13-5	RV (DGE)	U	3/1/n=15				
Polypropylenglykol- DGE <sup>3</sup>	26142-30-3	RV (DGE)	U	-			FP-0324	FP-0324

<sup>7</sup> Stand Zuordnung 3.12.2012; Detaillierte Besprechung der Ergebnisse der projektspezifischen *in vitro* Testung siehe Teilbericht 5.3.

<sup>8</sup> Siehe Fußnote 2.

<sup>9</sup> Ursprünglich nicht für die Testung vorgesehen (Details siehe unten)

Substanz	CAS-Nr.	Gruppe (Subgruppe)	Kategorie <sup>7</sup>	Relevanz <sup>8</sup>	Anmerkung	Vorhandene <i>in vitro</i> Tests		
Trimethylolpropan-TGE	30499-70-8	RV (TGE)	U → HS	3/1/n=26			FP-0324	FP-0324
Cyclohexandimethanol- divinylether	17351-75-6	RV (sonstige)	U	3/3/n=0	In Ursprungsliste nicht eindeutig benannt			
Cyclohexandimethanol- diglycidylether	14228-73-0	RV (DGE)	U	Nicht bewertet			FP-0324	FP-0324

FP-0324: diese Inhaltsstoffe sind Teil der in diesem Projekt durchgeführten *in vitro* Testung, siehe auch

Würden für alle aufgeführten Epoxidharzinhaltsstoffe jeweils zwei Tests durchgeführt werden, ergäben sich insgesamt 64 *in vitro* Testungen. Dies war im vorliegenden Rahmen des Projekts nicht umsetzbar.

Nach Einbezug der Angaben zur Verwendungshäufigkeit der Deutschen Bauchemie (September 2011 und Juni 2012; siehe auch Teilbericht 5.2, Abschnitt 1) wurde die Testung als „proof-of-principle“ zunächst nur an Inhaltsstoffen aus der Gruppe der Reaktivverdünner durchgeführt. Die im Vergleich zu oben leicht veränderte Testreihe ist in Tabelle 4 zu sehen.

Tabelle 4. Finale Liste der für die *in vitro* Testung vorgesehenen Epoxidharzinhaltsstoffe

Substanz	CAS-Nr.	Gruppe (Subgruppe)	KeratinoSens Substanz Nr.	h-CLAT Substanz Nr.	Kategorie <sup>1</sup>	Anmerkung
Butyl-GE	2426-08-6	RV (GE)	-	1	GMS	Referenz
(2-Ethylhexyl-GE)	2461-15-6	RV (GE)	-	-	U	REACH2013
p-tert-Butylphenol-GE	3101-60-8	RV (GE)	-	-	U	REACH2013
C12/C14-Mono-GE	68609-97-2	RV (GE)	1	2	U → GMS	
Phenyl-GE	122-60-1	RV (GE)	2	3	HS	Referenz
o-Kresylglycidylether	2210-79-9	RV (GE)	-	4	HS	Referenz
1,4-Butanol-DGE	2425-79-8	RV (DGE)	3	5	HS	Referenz
Neopentylglykol-DGE	17557-23-2	RV (DGE)	4	6	U	
1,6-Hexandiol-DGE	16096-31-4	RV (DGE)	5	7	U → HS	
Polypropylenglykol-DGE	26142-30-3	RV (DGE)	6	8	U	Nachdem Di-PG-DGE nicht erhältlich war
Trimethylolpropan-TGE	30499-70-8	RV (TGE)	7	9	U	
Cyclohexandimethanol-divinylether	17351-75-6	RV (sonstige)	-	-	U	In Ursprungsliste nicht eindeutig benannt
Cyclohexandimethanol-diglycidylether	14228-73-0	RV (DGE)	8	10	U	

1: Stand der Zuordnung vor Durchführung der *in vitro* Testung

Die Veränderungen ergaben sich, da die vorgesehenen Testsubstanzen teilweise nicht käuflich zu erwerben waren und dementsprechend auf andere Inhaltsstoffe zurückgegriffen wurde. Zudem wurde aufgrund von Beschränkungen im verfügbaren Testrahmen nur eine Auswahl der Reaktivverdünner überprüft.<sup>10</sup> Die erzielten Ergebnisse sind jeweils bei dem betreffenden Inhaltsstoff aufgeführt und werden im Teilbericht 5.3 „Bewertung“, Abschnitt 1.4 diskutiert.

## **2 Beschreibung der angewandten Tests**

### **2.1 KeratinoSens™**

Die grundsätzliche Beschreibung der Testmethode findet sich in Teilprojekt 5.1, Abschnitt 1.3.3.2. Das Testprotokoll und der finale Bericht des Testlabors sind im Anhang 1 und Anhang 2 abgelegt.

### **2.2 h-CLAT**

Die grundsätzliche Beschreibung der Testmethode findet sich in Teilprojekt 5.1, Abschnitt 1.3.4.2. Der finale Bericht des Testlabors ist im Anhang 3 abgelegt.

---

<sup>10</sup> Unser Dank gilt dem Kooperationspartner Prof. Dr. Geier und Herrn Prof. Dr. Vohr, die bei der Beschaffung der Testmaterialien behilflich waren, sowie Herrn Prof. Dr. Vohr (h-CLAT) und Dr. Natsch (KeratinoSens™) für die Durchführung der Testung als nicht kommerziell kalkulierter Forschungsaufwand.

Forschungsvorhaben

## **Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke**

gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen  
Unfallversicherung (DGUV)

Kennziffer FP-0324

### **Teilprojekt 5.2**

#### **Datenanalyse zur sensibilisierenden Wirkstärke von Einzelstoffen aus Epoxidharzsystemen**

Dezember 2012

Endbericht

Bearbeitung:

Dr. Karin Heine, Dr. Fritz Kalberlah, Dr. Martin Hassauer  
Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG)  
Klarastr. 63, 79106 Freiburg

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Expertenbefragung bezüglich Relevanz der einzelnen Inhaltsstoffe .....</b>	<b>C 3</b>
1.1	Hintergrund.....	C 3
1.2	Ergebnis .....	C 4
1.3	Diskussion und Schlussfolgerung .....	C 10
1.3.1	Neue Inhaltsstoffe .....	C 10
1.3.2	Widersprüchliche Ergebnisse aus unterschiedlichen Industriezweigen .....	C 11
1.3.3	Mengenangaben der Deutschen Bauchemie zur Verwendung bestimmter Inhaltsstoffe .....	C 11
<b>2</b>	<b>Stoffdatenanalyse .....</b>	<b>C 15</b>
2.1	Hintergrund.....	C 15
2.2	Ergebnis .....	C 15
2.2.1	EP-Harze.....	C 16
2.2.2	Härter, aromatische Amine .....	C 27
2.2.3	Härter, aliphatische Amine: .....	C 28
2.2.4	Härter, cycloaliphatische Polyamine: .....	C 45
2.2.5	Härter, sonstige.....	C 51
2.2.6	Säureanhydride.....	C 55
2.2.7	tertiäre Amine.....	C 62
2.2.8	Phenole.....	C 62
2.2.9	Reaktivverdünner .....	C 64
2.2.10	Neue Substanzen aus Expertenbefragung .....	C 81
2.3	Diskussion und Schlussfolgerung.....	C 84
2.3.1	Datenlage.....	C 84
<b>3</b>	<b>Abkürzungen/Glossar .....</b>	<b>C 90</b>
<b>4</b>	<b>Proteinbindungsreaktion – mechanistische Domänen.....</b>	<b>C 92</b>
<b>5</b>	<b>Literatur .....</b>	<b>C 94</b>

# 1 Expertenbefragung bezüglich Relevanz der einzelnen Inhaltsstoffe

## 1.1 Hintergrund

### – Datenherkunft

Die zu bewertenden Substanzen entstammen aus einer Liste des Gefahrstoffinformationssystems der Berufsgenossenschaft der Bauwirtschaft (GISBAU) für Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen. Zunächst wurden solche Substanzen für eine Bewertung vorgesehen, für die eine Hersteller-Einstufung als hautsensibilisierendes Agens vorliegt (d.h. der R43 vergeben ist). Genannt waren zunächst 50 Inhaltsstoffe (vgl. Tabelle 1).

2,4,6-Tris(dimethyl-aminomethyl)phenol<sup>1</sup> war bisher nicht als sensibilisierend gekennzeichnet. Die Substanz wurde aber innerhalb der Registrierung gemäß Verordnung EG Nr. 1907/2006 (REACH) von der herstellenden Industrie in die Kategorie 1B für hautsensibilisierende Eigenschaften eingeordnet und der Gefahrenhinweis H317 vergeben.

Die letzten 7 Substanzen<sup>2</sup> der generierten Gesamtliste wurden innerhalb der Abfrage bezüglich der Relevanz von Inhaltsstoffen für die Industrie neu genannt (Details siehe Tabelle 2).

Insgesamt stehen nun 58 identifizierte Inhaltsstoffe zur Bewertung. Bei der Auswahl ist zu bedenken, dass diese zunächst nur auf Grund der Relevanz in der Bauwirtschaft erfolgte und andere Branchen nicht explizit einbezieht.

### – Expertenbefragung

Deshalb wurde eine Abfrage bei Fachleuten aus Industrie und Behörden mit dem Ziel durchgeführt, Inhaltsstoffe von Epoxidharzkomponenten zu identifizieren, die entweder von großer Bedeutung für die jeweiligen Industriezweige (inkl. anderer Branchen außer der Bauwirtschaft) sind oder aber deren Verwendung zurückgegangen ist, sodass kaum noch Exposition gegenüber den jeweiligen Inhaltsstoffen anzunehmen ist. Eine grobe Abschätzung der Verbreitung eines bestimmten Inhaltsstoffes kann auch anhand der Anzahl der Nennungen eines Inhaltsstoffes in Sicherheitsdatenblättern von Epoxidharzprodukten erfolgen (ersichtlich in GISBAU Gesamtliste der Epoxidharzinhaltsstoffe). Diese grobe Schätzung sollte durch die Expertise der verschiedenen Fachbereiche erweitert werden, um die relevanten Stoffe zu identifizieren. Zur Durchführung dieser Bewertung wurden drei Relevanzkategorien eingeführt. Diese decken den Bereich von „relevant/sehr häufig verwendet“ (Kategorie 1), über „mäßig relevant/selten verwendet“ (Kategorie 2) bis hin zu „nicht relevant/nicht verwendet“ (Kategorie 3) ab. Auf dieser Grundlage sollten Substanzen ohne relevante Verwendung (d.h. Kategorie 3) von der Gesamtliste gestrichen werden, um den Fokus auf die Inhaltsstoffe von Belang zu richten.

---

<sup>1</sup> Substanz unterhalb der einfach gezackten Linie in Tabelle 1.

<sup>2</sup> Substanzen unterhalb der doppelten gezackten Linie in Tabelle 1.

– Zusatzinformation der Deutschen Bauchemie

In der zweiten Begleitkreissitzung wurde von den Auftragnehmern nochmals darauf hingewiesen, dass ein Hinweis auf die industriell und gewerblich angewandten Inhaltsstoffmengen wichtig wäre, um die Prävalenz (Häufigkeit der humanen Beobachtungen) besser in Relation mit der sensibilisierenden Wirkstärke des jeweiligen Inhaltsstoffes zu setzen. Die Vertretung der Deutschen Bauchemie sagte zu, nochmals einen Versuch zu unternehmen, die gewünschte Mengenzuordnung durchzuführen (Ergebnis siehe Tabelle 2).

## 1.2 Ergebnis

Ausgehend von der zu bearbeitenden Liste wurde den unterschiedlichen Vertretern der Industrie, deren Verbänden und Berufsgenossenschaften, sowie einer Arbeitsgruppe des Bundesministeriums für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA) und der österreichischen Allgemeinen Unfallversicherungsanstalt (AUVA), eine Stoffliste mit Namen und CAS Nr. der jeweiligen Inhaltsstoffe zur Verfügung gestellt. Dies war verbunden mit der Bitte, die Relevanz und die sensibilisierende Wirkstärke der aufgeführten Substanzen, zu beurteilen. Bis Anfang November 2011 gingen insgesamt acht Meldungen ein. Die erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Die Vertreter der Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie (BG RCI) berichteten nach Auswertung der MEGA-Datenbank, dass keine Messwerte für die fraglichen Listenstoffe gefunden wurden und schlussfolgerten, dass diese Stoffe im Bereich der Chemischen Industrie bisher keine Rolle gespielt haben.

In der Spalte mit dem Titel „Gesamtauswertung“ ist eine Relevanzkategorie aufgeführt, wenn alle Bewerter dieses Inhaltsstoffes eine einheitliche Meinung äußerten. Auf diese Weise konnten 12 Inhaltsstoffe identifiziert werden, die von allen als relevant (Kategorie 1) angesehen wurde. Eine (1) Substanz wurde durchgängig nur als mäßig relevant betrachtet. Jedoch konnte auf Basis dieser Betrachtung kein Konsens bezüglich irrelevanter Inhaltsstoffe gefunden werden, sodass eine Eingrenzung der zu bewertenden Liste nicht möglich war. Die Kategorie 3 (nicht relevant) wurde von den unterschiedlichen Bewertern zwischen 0 und 39-mal genannt. Die Nennung der Kategorie 2 erfolgte in den unterschiedlichen Bewertungen zwischen 0 und 17-mal. Und die Kategorie 1 wurde von den 5 Bewertern, die die Inhaltsstoffliste durchgängig eingestuft haben, zwischen 10 und 42-mal vergeben.



Tabelle 1. Relevanz von Inhaltsstoffen aus Epoxidharzkomponenten (Zusammenfassung – Ergebnisse der Expertenbefragung)

Substanz	CAS Nr.	BAuA	Honeywell	Huntsman	AUVA	BGETEM	Henkel (Flooring)	Deutsche Bauchemie	Gesamtauswertung
<b>EP-Harze</b>									
Bisphenol A-Harze	025068-38-6	1	1		1	1	1	1	1
Reaktionsprodukt Bisphenol A Epichlorhydrin	25085-99-8	1	1			1	1	3	
Bisphenol A-Epichlorhydrin MW 340	001675-54-3	3	1			1	3	1	
Bisphenol F-Harze	009003-36-5	1	1			1	1	1	1
Bisphenol-F-Epichlorhydrin	028064-14-4	3	1			1	1	1	
<b>Härter</b>									
<b>Härter, aromatische Amine</b>			1						
4,4'-Diaminodiphenylmethan	000101-77-9	3	1	3		3	3	3	
<b>Härter, aliphatische Amine:</b>									
Ethylendiamin (1,2-Diamonethan, auch als Hydrochlorid)	000107-15-3	2	1			2	3	1	
Diethylentriamin (2,2'-iminodi(ethylamine))	000111-40-0	2	1			2	3	1	
Dipropylentriamin	000056-18-8	2	1			2	3	1	
Trimethylhexamethylendiamin (TMD, TMDA)	025620-58-0	2	1			1	3	1	
Triethylentetramin	000112-24-3	2	1			1	3	1	
N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan (Dimethylaminopropylamine)	000109-55-7	2	1			2	3	1	
Tetraethylenpentamin	000112-57-2	2	1			2	3	1	
Pentaethylenhexamin (3,6,9,12-tetraazatetradecamethylenediamine)	004067-16-7		1			2	3	1	
Polyethylenpolyamin	068131-73-7		1			3	3	1	
Polyethylenamine	026336-38-9		1			2	3	1	

Substanz	CAS Nr.	BAuA	Honeywell	Huntsman	AUVA	BGETEM	Henkel (Flooring)	Deutsche Bauchemie	Gesamtauswertung
<b>Härter, cycloaliphatische Polyamine:</b>									
4,4'-Diaminocyclohexylmethan (4,4'-Methylen-bis(cyclohexylamin))	001761-71-3	2	1			2	3	1	
Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)-ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methane	136210-32-7		1			2	3	1	
N-Aminoethylpiperazin, 2-Piperazin-1-ylamin	000140-31-8	1	1			1	1	1	1
Isophorondiamin (IPD), 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamin	002855-13-2	1	1			1	1	1	1
3-Cyclohexyl-aminopropylamin	003312-60-5	1	1			3	3	1	
1,2-Diaminocyclohexan (DCH)	000694-83-7	1	2			2	2	1	
<b>Härter, sonstige</b>									
N-cyanethyliertes Trimethylhexamethylendiamin	093941-62-9		2			3	3	1	
m-Xylylendiamin (Xylylendiamin, MXDA)	001477-55-0	1	1			1	1	1	1
m-Xylylendiamin / Acrylonitril Adduct	73050-11-0		2			3	3	1	
N-(2-Aminoethyl)-3-amino-propyltrimethoxysilan	001760-24-3	2	2			2	3	1	
1,10-Diamino-4,7,dioxadecan (Polyoxyalkylenamin)	002997-01-5	1	2			3	3	1	
<b>Härter, Polyaminaddukte:</b>									
<b>Härter, Polyaminoamide:</b>			2						
<b>Härter, Mannichbasen:</b>			2						
<b>Säureanhydride</b>			2						

Substanz	CAS Nr.	BAuA	Honeywell	Huntsman	AUVA	BGETEM	Henkel (Flooring)	Deutsche Bauchemie	Gesamt- auswertung
Phthalsäureanhydrid	000085-44-9	1	2			3	3	3	
Tetrahydrophthalsäureanhydrid	000085-43-8	1	2			1	3	3	
Hexahydrophthalsäureanhydrid	000085-42-7	1	2			1	3	3	
Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid	011070-44-3	1	2			1	3	3	
Methylhexahydrophthalsäureanhydrid	025550-51-0	1				1	3	3	
<b>tertiäre Amine</b>									
3-((6-Aminotrimethyl- hexyl)amino)propionitril	093941-62-9	siehe oben	siehe oben	siehe oben		siehe oben	siehe oben	siehe oben	siehe oben
<b>Phenole</b>									
tert-Butylphenol	000098-54-4	1	1			1	2	1	
Bisphenol A	000080-05-7	1	1			1	2	1	
<b>Säuren</b>									
<b>Reaktivverdünner</b>									
Butyl-glycidylether	002426-08-6	1	1			3	3	1	
1,4-Butandiol-diglycidylether	002425-79-8	1	1			1	3	1	
Neopentylglykol-diglycidylether	017557-23-2	2	1			3	3	1	
2-Ethylhexylglycidylether	002461-15-6	1	1			3	3	1	
1,6-Hexandiol-diglycidylether	016096-31-4	1	1			1	1	1	1
Versätsäureglycidylester (z.B. Cardura E 10) 2,3-Epoxypropyl neodecanoat	026761-45-5	1	1			2	3	1	
Trimethylolpropan-triglycidylether	030499-70-8	1	1			3	3	1	
C12/C14-Monoglycidylether	068609-97-2	1	1		1	1	1	1	1
Polypropylenglykoldiglycidylether (= Polyoxy-propylen-diglycidylether)	026142-30-3	1	1			2	3	1	

Substanz	CAS Nr.	BAuA	Honeywell	Huntsman	AUVA	BGETEM	Henkel (Flooring)	Deutsche Bauchemie	Gesamt-auswertung
Polypropylene glycol chloromethyloxirane polymer	009072-62-2	1	1			2	3	1	
Dipropylene glycol diglycidyl ether	041638-13-5	1	1			3	3	1	
Cyclohexandimethanol-diglycidyl(divinyl)ether	017351-75-6	2	1			3	3	3	
p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether (p-tert-Butylphenylglycidylether)	003101-60-8	3	1			2	3	1	
Phenylglycidylether	000122-60-1	3	1			2	3	1	
o-Kresylglycidylether	002210-79-9	1	1			2	3	3	
Kresylglycidylether, Isomerengemisch	026447-14-3	1	1			3	3	3	
2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol	000090-72-2	1	1			1	3	1	
Poly[oxy(methyl-1,2-ethanediyl)], ?-(2-aminomethylethyl)-?-(2-aminomethylethoxy)-	9046-10-0	1						1	1
PolyPropylenEthyleneDiamin									
,12-Octadecadienoic acid (9Z,12Z)-, dimer, polymer with N-(2-aminoethyl)-1,2-ethanediamine	37189-83-6	1							1
2,2'-dimethyl-4,4'methylenebis(cyclohexylamine)	6864-37-5	1							1
Polyaminoamido- imidazolines		1							1
Asparaginsäureester					2				2
Bisphenol-F-Epoxidharz	55492-52-9						1		1

Kategorie 1 (hellblaue Markierung): relevant/Häufig verwendet; Kategorie 2 (hellrote Markierung): mäßig relevant/selten verwendet; Kategorie 3 (hellorange Markierung): nicht relevant/nicht verwendet; graue Markierung: Hinweis auf Doppelnennung desselben Inhaltsstoffes

Tabelle 2. Eingesetzte Mengen einzelner Epoxidharzinhaltsstoffe laut Deutscher Bauchemie



lfd. Nr.	Substanz	Oberflächenschutz (Bau)
1	Epoxidharz (Bisphenol A)	+
2	Cycloaliphatisches Epoxidharz	-
3	Ethylendiamin-di-HCl	-
4	Diethylentriamin	0
5	Triethylentetramin	0
6	Hexamethylentetramin	0
7	4,4'-Diaminodiphenylmethan	-
8	Isophorondiamin	+
9	Phenylglycidylether	-
10	Butylglycidylether	-
11	Epoxidharz (Bisphenol F)	+
12	m-Xylilendiamin	+
13	Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch)	0
14	N-Aminoethylpiperazin	0
15	Dipropylentriamin	-
16	Triethylenglycoldiamin	0
17	2,4,6-Tri-(dimethylaminomethyl)phenol	0
18	Aminoethylethanolamin	-
19	4,4'-Methylenbis(cyclohexylamin)	0
20	1,4-Butandiol diglycidylether	+
21	1,6-Hexandiol diglycidylether	+
22	C12/C14-Alkylglycidylether	+
23	Versäureglycidylester	+
24	Trimethylolpropan triglycidylether	0
25	p-tert-Butylphenylglycidylether	0
26	1,2-Diaminocyclohexan (Isomerengemisch)	0

Agenda: eingesetzte Menge    += viel  
   0    = wenig  
   -    = sehr wenig/gar nicht

## 1.3 Diskussion und Schlussfolgerung

### 1.3.1 Neue Inhaltsstoffe

Für die letzten 7 Substanzen der Liste (unterhalb der doppelten gezackten Linie in Tabelle 1)

- Poly[oxy(methyl-1,2-ethanediyl)], ?-(2-aminomethylethyl)-?-(2-aminomethyl-ethoxy), CAS Nr.: 9046-10-0 (Jeffamine D xxx. Polyoxypropylendiamin)
- PolyPropylenEthyleneDiamin (Jeffamine ED);
- 12-Octadecadienoic acid (9Z,12Z)-, dimer, polymer with N-(2-aminoethyl)-1,2-ethanediamine, CAS Nr.: 37189-83-6 (Polyamidoamine Versamid xxx);
- 2,2'-dimethyl-4,4'-methylenebis(cyclohexylamine), CAS Nr.: 6864-37-5 (Laromin C260);
- Polyaminoamido- imidazolines (Versamid 140. Untergruppe);
- Asparaginsäureester und
- Bisphenol-F-Epoxidharz, CAS Nr.: 55492-52-9

wurde zunächst keine systematische Datenerhebung durchgeführt.

Die genannten Substanzen wurden nicht von Anfang an in der zu bewertenden Ausgangsliste aufgeführt, da sie das Kriterium der Einstufung als sensibilisierend nicht erfüllen. Diese Substanzen spielen jedoch teilweise durchaus eine Rolle in Epoxidharzsystemen. Dies geht aus der Anzahl der Nennung in Sicherheitsdatenblättern hervor (z.B. Jeffamin D230). Es könnte allerdings sein, dass wie im Fall des Laromin C260 eine korrosive Wirkung dazu führte, eine sensibilisierende Wirkung nicht näher zu untersuchen und die Substanz auch nicht als hautsensibilisierend einzustufen. Fünf der sieben neuen Stoffe wurden von der BAuA genannt und auch die Deutsche Bauchemie nennt einen der „BAuA“-Stoffe (CAS Nr. 9046-10-0). Die Firma Henkel (Bereich Flooring) nennt ein weiteres Bisphenol-F-Epoxidharz mit CAS Nr. 55492-52-9. Nach Informationen von Herrn Prof. Geier und Herrn Dr. Lessmann bezeichnet dies ein bestimmtes Isomer des Bisphenol-F-diglycidylethers, nämlich o,o'-DGEBF. Die bereits berücksichtigte CAS Nr. 9003-36-5 (ohne nähere Definition) steht für Epoxidharze "aus der Umsetzung von Phenol, Formaldehyd und Epichlorhydrin". Laut Dr. Lessmann kann, je nach Reaktionsbedingungen, durchaus ein Anteil an o,o'-Isomer enthalten sein; dies ist jedoch nicht zwingend der Fall. Es sollte in Betracht gezogen werden, die Suche nach Literatur und die Bewertung auf beide CAS Nr. auszudehnen.

Die Bewertung der AUVA erfolgte schriftlich per E-Mail und wurde in die Relevanzkategorien „übersetzt“. Nach Auswertung von 26 Sicherheitsdatenblättern wurde mitgeteilt, dass Bisphenol A Harze (CAS Nr. 25068-38-6) und C12/C14 Monoglycidylether (CAS Nr. 68609-97-2) besonders häufig gefunden wurden. Zudem konnte in einem Produkt eines Lackherstellers ein Asparaginsäureester als Bestandteil mit sensibilisierender Wirkstärke identifiziert werden. Die zunächst verwendete CAS Nr. 123-86-4 steht jedoch für n-Butylacetat. Die definitive Substanzidentität konnte nicht geklärt werden.

Die ergänzten Substanzen wurden im Rahmen des 2. Begleitkreistreffens (April 2012) zum Projekt nochmals zur Diskussion gestellt und ein Beschluss über das Ausführen einer detaillierten Einzelstoffbewertung wurde getroffen.

Eine abschließende Stellungnahme für die Bewertung der 7 fraglichen Substanzen innerhalb des Projekts findet sich im Abschnitt 2.2.10.

### **1.3.2 Widersprüchliche Ergebnisse aus unterschiedlichen Industriezweigen**

Die Bewertung von 4,4'-Diaminophenylmethan (MDA) als „sehr relevant“ scheint beispielsweise fraglich. Die Substanz ist auf der Kandidatenliste der „substances of very high concern“ (SVHC; dies sind beispielsweise CMR-Stoffe oder Substanzen, die die Umwelt maßgeblich gefährden (PBT/ vPvB)), die schrittweise in den Anhang XIV, dem Verzeichnis der zulassungspflichtigen Stoffe, gemäß der europäischen Chemikaliengesetzgebung übergeht. Eine weitere Verwendung des Inhaltsstoffes ist nur mit einer Zulassung möglich (REACH; EC, 2006). Während verschiedene Industriezweige die Verwendung also aufgrund dieser erhöhten Ansprüche in Zukunft nicht mehr als relevant erachten, bleibt der Inhaltsstoff bei einzelnen Industrie einschätzungen immer noch im Bereich der obersten Relevanzkategorie.

Allgemein werden niedermolekulare, aliphatische Amine aus Härtern von der BGETEM, Henkel und auch der BAuA als mäßig oder sogar gar nicht relevant bezeichnet. Ein möglicher Grund dafür wurde von der BAuA genannt: die genannten Amine werden nie als Stoff an sich verwendet, sondern immer als Addukt mit einem Epoxidharz. Diese Harze können jedoch noch freies Amin enthalten. Der Handschuhhersteller Honeywell und die Deutsche Bauchemie befürworten dagegen eine Einstufung in die höchste Relevanzkategorie als sehr relevant und häufig verwendet.

### **1.3.3 Mengenangaben der Deutschen Bauchemie zur Verwendung bestimmter Inhaltsstoffe**

Die bereits erwähnt, ist die Abschätzung der eingesetzten Mengen der zu bewertenden Inhaltsstoffe von großer Bedeutung, um die Ergebnisse von Reihentestungen am Menschen zumindest semi-quantitativ auszuwerten (siehe Teilbericht 5.4.1). Neben dem Versuch zumindest eine grobe Abschätzung der Verwendungshäufigkeit über die Anzahl der Nennungen in Sicherheitsdatenblättern zu erlangen, wurde deswegen auch großen Wert auf die zusätzliche Mengenabschätzung aus dem Baugewerbe gelegt. Zunächst wurden die Angaben der deutschen Bauchemie aus Tabelle 2 (Juni 2012) mit dem Ergebnis aus der ersten Expertenbefragung (September 2011) verglichen. Weiterhin wurde die Auswertung des IVDKs anhand der GISBAU Datenblätter (decken ebenfalls Verwendung im Baugewerbe ab) den Aussagen der Deutschen Bauchemie gegenüber gestellt (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3. Relevanz- und Mengenbewertung der Deutschen Bauchemie und Vergleich mit der Bewertung des IVDK anhand der Information aus der GISBAU Datenbank

Lfd. Nr.	Zugeordnete CAS Nr.	Ergebnis der Deutschen Bauchemie <sup>1</sup>		IVDK Bewertung anhand GISBAU Datenblättern <sup>2</sup>	GISBAU-SiDaBs N = 3.692 / davon 635 nach 2005	Kommentar
		erste Expertenbefragung	Juni 2012 (Oberflächenschutz, Bau)			
1	25068-38-6	1	+	nb, da „obligater“ Bestandteil von ES	1754/364	
2	5493-45-8 (90014-99-6)	nb	-	nb, da nicht Bestandteil von FP 324		= Hexahydrophthalsäurediglycidylester (Araldite CY 184)
3	107-15-3	1	-	sehr selten	9/0	
4	111-40-0	1	0	selten	65/10	
5	112-24-3	1	0	(relativ) häufig	138/21	, aber weniger häufig als 25620-58-0
6	100-97-0	nb	0	nb, da nicht Bestandteil von FP 324		
7	101-77-9	3	-	Keine Rolle	6/0	
8	2855-13-2	1	+	Weit verbreitet	1009/165	
9	122-60-1	1	-	Keine Rolle	0/0	
10	2426-08-6	1	-	Keine Rolle	0/0	
11	9003-36-5	1	+	nb, da fast „obligater“	591/155	plus 165/23 für CAS 28064-14-4



				Bestandteil von ES		
12	1477-55-0	1	+	Sehr häufig	608/122	
13	25620-58-0	1	0	Häufig, weit verbreitet	320/57	
14	140-31-8	1	0	Weit verbreitet	160/28	
15	56-18-8	1	-	Keine Rolle	2/0	
16	929-59-9	nb	0	nb, da nicht Bestandteil von FP 324		
17	90-72-2	1	0	häufig	348/81	
18	111-41-1	nb	-	nb, da nicht Bestandteil von FP 324		
19	1761-71-3	1	0	Selten	23/11	
20	2425-79-8	1	+	Selten	29/11	
21	16096-31-4	1	+	Weit verbreitet	321/63	
22	68609-97-2	1	+	Weit verbreitet	458/116	Müsste eigentlich „sehr häufig“ sein
23	26761-45-5	1	+	Mäßig häufig	170/18	Müsste eigentlich „häufig“ sein
24	30499-70-8	1	0	Selten	26/4	
25	3101-60-8	1	0	Selten	54/16	
26	694-83-7	1	0	Selten	69/7	

1: relevant/häufig verwendet, 3: nicht relevant/nicht verwendet, nb: nicht bewertungsrelevant, da nicht in Projektliste enthalten; eingesetzte Mengen: +: viel, 0: wenig, -: sehr wenig/gar nicht

2: IVDK-Kategorieuordnung: sehr weit verbreitet, sehr häufig = Nennung in > 350 SiDaBs; weit verbreitet, häufig = Nennung in 100-350 SiDaBs; selten = Nennung in 10-100 SiDaBs; sehr selten, spielt keine Rolle = Nennung in < 10 SiDaBs, nb: nicht bewertet

Bei den Angaben von Juni 2012 sind einige Substanzen gelistet (Ild Nr. 2, 6, 16, 18, grau hinterlegt in Tabelle 3), die bisher nicht Gegenstand des vorliegenden Projekts sind (d.h. diese Inhaltsstoffe waren nicht in der ursprünglichen Bewertungsliste aufgeführt und wurden nicht bis zur Frist vor dem zweiten Begleitkreistreffen nachgemeldet). Für diese Substanzen werden keine substanzspezifischen Auswertungen bzw. Wirkstärkeneinordnungen getroffen.

Beim Vergleich der Aussage bezüglich der Relevanz einzelner Inhaltsstoffe (Auswertung September 2011) und der mengenmäßigen Verwendung (Auswertung Juni 2012) finden sich teilweise große Unterschiede (Bsp. Substanz Nr. 15). Bei der Gegenüberstellung der Daten zwischen der Auswertung im Juni 2012 und der IVDK Auswertung zeigt sich insgesamt eine gute Übereinstimmung der Daten.

Einzig bei den Nummern 5, 13, 14, 17 und 20 (straffiert hinterlegt) gibt es Diskrepanzen zwischen den Angaben zur Häufigkeit von der Deutschen Bauchemie und der Nennung in den GISBAU-Sicherheitsdatenblättern. Eine Erklärung hierfür liegt nicht vor. Es bleibt anzumerken, dass sowohl die Einschätzungen aus dem Baugewerbe, als auch die Auswertung der GISBAU Datenbank eher grobe Schätzungen sind. Sie liefern kein exaktes Bild von der quantitativen Verbreitung der einzelnen Komponenten, die Tonnagen der einzelnen Produkte auf dem Markt bleiben weiter unbekannt. Diese semi-quantitativen Angaben werden mit großer Vorsicht im Teilbericht 5.4.1 angewandt, um die Häufigkeit des Nachweises in Allergietests unter dem Blickwinkel der Relevanz am Markt einzuordnen.

## 2 Stoffdatenanalyse

### 2.1 Hintergrund

Die Suche nach vorhandenen Daten für die zu bewertenden Inhaltsstoffe war auf zwei Säulen gestützt. Die Suche nach veröffentlichter Literatur wurde einerseits

- substanzspezifisch und andererseits
- methodenorientiert

durchgeführt.

Bei der substanzspezifischen Suche wurde im Literatursuchportal PubMed (NLM, 2012) zunächst nach Artikeln, die mit den Themen Allergie oder Sensibilisierung verschlagwortet waren, gesucht (Suchworte: „allergy OR allergic OR hypersensitiv\* OR sensitis\* OR sensitiz\*“). Diese Suche wurde dann mit der jeweiligen CAS-Nummer oder dem Namen der Substanz kombiniert. Aus den erzielten Treffern wurde die relevante Literatur (d.h. Informationen zur sensibilisierenden Eigenschaft der Substanz) bestellt und ausgewertet.

Bei der methodisch orientierten Suche wurde die einschlägige Literatur zur Beschreibung der Testsysteme für sensibilisierende Substanzeigenschaften gesichtet und für die Methodenbeschreibung ausgewertet. Wurden dabei Literaturstellen identifiziert, die Daten zu den im vorliegenden Projekt zu bewertenden Substanzen enthalten, so wurde diese in Bezug auf das mit dem jeweiligen Test erzielte Ergebnis ausgewertet.

Neben der Literatursuche wurde ebenfalls die sogenannte „Dissemination Database“ der Europäischen Chemikalienbehörde (ECHA) auf das Vorhandensein eines Registrierungsdossiers für den fraglichen Inhaltsstoff überprüft (ECHA, 2012). War dies der Fall, wurden die darin berichteten Studienergebnisse mit Bezug zu sensibilisierenden Eigenschaften einer Substanz gesichtet und ausgewertet.

Im Abschnitt 2.2 sind die gefundenen Daten jeweils pro Substanz aufgeführt und mit den entsprechenden Quellen versehen (Stand systematische Literatursuche November 2011; bei einigen Substanzen updates bis November 2012).

Auf Ergebnisse aus der projektbezogenen *in vitro* Testung mit verschiedenen Reaktivverdünnern wird an gegebener Stelle verwiesen.

### 2.2 Ergebnis

Anmerkung: Humanbefunde („*In vivo* (Schritt A)“) werden hier nicht berichtet, da die Bearbeitung durch den Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK; Prof. Geier) erfolgt (siehe eigenständiger Teilbericht „Literaturstudie über allergologische Humanbefunde zu Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen“; FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Nachfolgend sind alle bisher ermittelten Ergebnisse aus *in vivo* (ohne Humanbefunde), *in vitro* oder *in silico* Experimenten jeweils substanzspezifisch in Kurzform aufgelistet. Soweit möglich, wurden, wie in Teilbericht 5.1 beschrieben, *in silico* Anwendungen zur Bereitstellung von zusätzlichen Daten durchgeführt. Für alle

Inhaltsstoffe mit verfügbarer Struktur (SMILES Code) wurden die Module TOXTREE, sowie die QSAR Toolbox Modelle zur Proteinbindung (OECD und OASIS) und ggf. der Metabolismus-Simulator angewandt. Letzteres nur, wenn keine direkte Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes gefunden wurde. Nicht jedes negative Ergebnis (d.h. keine Aussage) wird substanzspezifisch explizit erwähnt. Steht für einen Inhaltsstoff ein SMILES zur Verfügung und in der Rubrik „*in silico* (Schritt D)“ wurde „derzeit keine Information“ vermerkt, so bedeutet dies, dass durch keines der oben genannten Modelle eine Information über den möglichen Reaktivitätsmechanismus bzw. mögliche Metaboliten des Inhaltsstoffes gefunden werden konnte.

## 2.2.1 EP-Harze

### 2.2.1.1 Generelle Anmerkung zu den genannten Epoxidharzen (als Inhaltsstoffe)

Die zu bewertenden Epoxidharze im Projekt sind Reaktionsprodukte entweder aus Bisphenol A oder Bisphenol F und Epichlorhydrin. Eine Übersicht der jeweiligen Grundstrukturen sind in Abbildung 1 bzw. Abbildung 2 gegeben und in Tabelle 4 finden sich unterschiedliche Testmaterialien, die den Harzen zugeordnet werden.

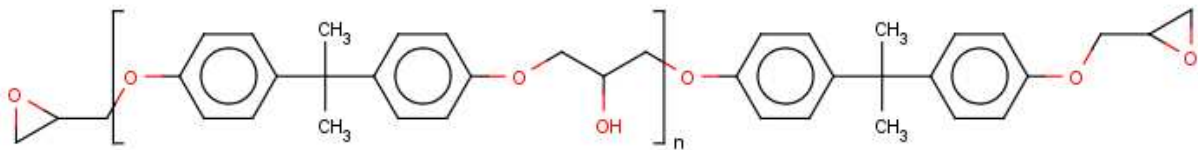


Abbildung 1. Reaktionsprodukte aus Bisphenol A und Epichlorhydrin (Bisphenol A-Harze)

Im einfachsten Fall liegt  $n = 0$  vor und somit der Bisphenol A Diglycidylether (BADGE/DGEBA). Dessen Molekulargewicht liegt bei 340.

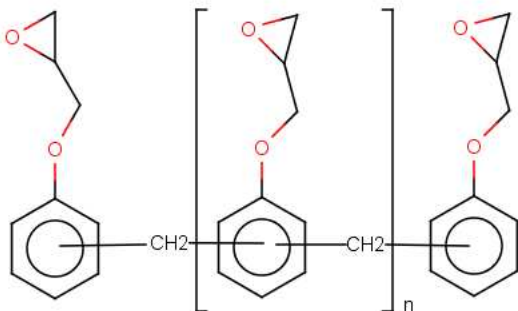


Abbildung 2. Reaktionsprodukte aus Bisphenol F und Epichlorhydrin (Bisphenol F-Harze)

Im einfachsten Fall liegt  $n = 0$  vor und somit der Bisphenol F Diglycidylether (DGEBF). Das Molekulargewicht liegt bei 312.

Tabelle 4. Übersicht der als Testmaterial verwendeten Epoxidharze, deren Handelsnamen und - soweit möglich - Aussagen zu deren Molekulargewicht (MW)

Im Bericht unter CAS Nr.	Handelsname	Generelle Substanzbeschreibung (teilweise aus SDS) und Schlussfolgerung
<b>25068-38-6</b>	EPIKOTE828	Reaktionsprodukt aus Bisphenol A und Epichlorhydrin; „Liquid Epoxy resin“, MW < 700
	DER 331	= Bisphenol A-Diglycidylether Gemisch verschiedener Längen
	Destilliertes* DER 331	= Bisphenol A-Diglycidylether
	DER 662	Festes Bisphenol A-Diglycidylether-Polymer → da „fest“ ist MW >900 anzunehmen; Quelle: Thorgeirsson und Fregert, 1977
	EPON828	Flüssiges Reaktionsprodukt aus Bisphenol A und Epichlorhydrin → da „flüssig“ ist MW <900 anzunehmen; Quelle: Thorgeirsson und Fregert, 1977
	Epidian5	DGEBA-Polymer, keine weitere Information
	Bisphenol A Harz („technisches Gemisch“)	= DGEBA Gemisch unterschiedlicher Längen
<b>1675-54-3</b>	DGEBA	Bisphenol A-Diglycidylether (MW 340)
	DGEBA destilliert*	DGEBA
	DER 332	„High purity DGEBA“; Pures DGEBA hätte „Epoxide equivalent weight“ (EEW) von 170; DER 332 hat EEW von max. 178
<b>9003-36-5</b>	EPIKOTE862	Flüssiges Reaktionsprodukt aus Bisphenol F und Epichlorhydrin
	TK 12225/D (DGEBF-Harz)	Keine weitere Information
	EPIKOTE 155	Polyglycidylether des Phenolformaldehyds Novolac
	Bisphenol F p,p'-Diglycidylether (DGEBF)	Monomer (d.h. n = 0, CAS Nr. 2095-03-6) hat MW 312
	DER 354	Durchschnittlich n = 0,2 → d.h. MW ~ 345
	DEN 438 Epoxy Novolac Resin	Durchschnittlich n = 1,6 → d.h. MW ~ 580

\* Die Bedeutung der Aussage „destilliert“ ist aus Sicht der Autoren nicht eindeutig. Einerseits könnte sich dies auf die Reduktion von Verunreinigungen in den untersuchten Reaktionsgemischen beziehen, andererseits eventuell auch auf die Verwendung von DGEBA Gemischen kürzerer Länge.

### 2.2.1.2 Bisphenol A-Harze 025068-38-6

Hersteller-Einstufung: 36/38-43-51/53

IUCLID Datensatz der Substanzregistrierung unter REACH (EC, 2006) verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

In einem Versuch an Hartley Meerschweinchen wurden die Tiere gemäß dem GPMT-Protokoll mit Bisphenol A-Harzen unterschiedlichen Molekulargewichts (MW) behandelt. Für einen schnellen Überblick über die verwendeten Bedingungen und die erzielten Ergebnisse sind diese nachfolgend tabellarisch aufgeführt.

Tabelle 5. Bedingungen und Ergebnisse des GPMT nach Thorgeirsson und Fregert, 1977

MW des untersuchten Epoxidharz	Vehikel	Intradermale Induktion [% (w/v)]*	Topische Induktion [% (w/v)]*	Auslösebehandlung [% (w/v)]*	Ergebnis	
					Anzahl	%
340	Aceton	5	5	1	20	100
350	Aceton	5	5	1	20	100
480	Aceton	7	7	1,4	17	85
900	Aceton	12,9	12,9	2,6	11	55
1280	Aceton	18,3	18,3	3,7	6	30
1850	MEK	26,4	26,4	5,3	0	0

MW: Molekulargewicht; MEK: Methylethylketon

\* Es wurden jeweils äquimolare Konzentrationen der Epoxidharze mit unterschiedlichem MW verwendet.

Zusätzlich sind Ergebnisse über Kreuzreaktionen der unterschiedlichen Epoxidharze berichtet (Thorgeirsson und Fregert, 1977; Ergebnisse sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985; siehe ESR.006).

In einer Folgepublikation der Autorengruppe um Thorgeirsson wurden weitere Ergebnisse, die mit dem GPMT für die Bisphenol A-Harze unterschiedlichen Molekulargewichts durchgeführt wurden, berichtet.

Tabelle 6. Bedingungen und Ergebnisse des GPMT nach Thorgeirsson et al., 1978

MW des untersuchten Epoxidharz	Vehikel	Id. Induktion [% (w/v)]*	Topische Induktion [% (w/v)]*	Auslösebehandlung [% (w/v)]*	Ergebnis	
					Anzahl pos. / gesamt	%
340	Aceton	5	5	1 & 5	56/61	92
340	Aceton	0,5	0,5	1 & 5	10/15	67
624	Aceton	9,2	9,2	1,8 & 9,2	16/28	57
908	Aceton	13,5	13,5	2,7 & 13,5	0/30	0
1192	Aceton	17,5	17,5	3,7 & 17,5	0/15	0

MW: Molekulargewicht; Id: intradermal; pos.: positive

\* Ausgehend von der bekannten Eignung der intradermalen Induktion mit 5 % und der Auslösebehandlung mit 1 bzw. 5 % des MW340 Epoxidharzes wurden jeweils äquimolare Konzentrationen der Epoxidharze mit höheren Molekulargewichten verwendet.

Neben dem Standard-GPMT wurden von Thorgeirsson et al. (1978) die sensibilisierenden Eigenschaften des Epoxidharzligomers mit dem MW 340 in Meerschweinchen mit Hilfe anderer Versuchsprotokolle untersucht. In der ersten Versuchsserie wurden 10 Tiere durch topische Substanzapplikation sensibilisiert. Hierzu erfolgte die Induktion durch zweimalige Patchapplikation (Tag 0 und Tag 3, jeweils 24 h, okklusive) mit 20 % (w/v) der unverdünnten Testsubstanz. Die Auslösebehandlung erfolgte nach zweiwöchiger Ruhephase auf die zuvor unbehandelte Flanke wie im GPM Test beschrieben. Keines der so behandelten Tiere zeigte eine positive Hautreaktion.

Die geschorenen Flanken der 17 Tiere aus der zweiten Serie wurden zunächst mit 10 % Natriumlaurylsulfat in Vaseline eingerieben. 24 Stunden später erfolgte eine Patchapplikation (20 % (w/v), 48 h, okklusive). Die Auslösebehandlung erfolgte wie oben. Hier zeigte sich in 3 der 17 Tiere eine positive Reaktion (17,5 %). Wurde das Sensibilisierungsprotokoll in denselben Tieren nochmals wiederholt, zeigte sich zum Schluss bei 8 der 17 Tiere eine positive Hautreaktion (47 %).

Das dritte Sensibilisierungsprotokoll innerhalb der Publikation sah eine Induktion durch eine einmalige intradermale Injektion vor. Es wurde 20 % (w/v) der Testsubstanz in Aceton und mit Freund-Adjuvans injiziert. Die Auslösebehandlung erfolgte nach einer zweiwöchigen Ruhephase wie im GPM Test beschrieben. Zum Studienende zeigten 3 der 10 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion (30 %).

Zusätzlich wurden Ergebnisse über die Kreuzreaktivität der verschiedenen Epoxidharzproben berichtet (GPMT-Protokoll; Thorgeirsson et al., 1978; Ergebnisse sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985; siehe ESR.013).

Ein weiterer GPMT wurde unter Verwendung von männlichen und weiblichen Meerschweinchen des „P“-Stammes durchgeführt. Die intradermale Induktionskonzentration betrug 5 % der Prüfsubstanz (zwei unterschiedliche Chargen von EPIKOTE828, einem Reaktionsprodukt aus Bisphenol A und Epichlorhydrin) in Maisöl. Die topische Induktion wurde mit dem unverdünnten Testmaterial durchgeführt und die epidermale Auslösebehandlung erfolgte mit 50 %. Es wurden jeweils 20 Tiere in den Testgruppen verwendet. Im ersten Test starb nach Applikation der Prüfsubstanz ein Weibchen, im zweiten Test waren es sogar zwei weibliche Tiere. Die Hautreaktionen wurden direkt nach dem Entfernen des Okklusivverbandes bis hin zu 48 h danach bewertet. Die positiven Hautreaktionen schwankten zwischen den Chargen und über die Zeit zwischen 80 bis hin zu 100 % (unveröffentlichter Studienbericht, 1978; siehe ESR.012).

In einem “Repeated Insult Patch Test” (RIPT) nach Maguire, der die sensibilisierenden Eigenschaften von Ethylendiamin untersuchen sollte, wurde DER 331 (Diglycidylether von 2,2-Di(p,p'-hydroxyphenyl)propan, CAS Nr. 25085-99-8 bzw. 25068-38-6) als Positivkontrolle mitgeführt. An den untersuchten Hartley Meerschweinchen erfolgte die intradermale Induktion 4-mal in 10 Tagen mit 10 % DER 331 in einer 9:1 Lösung aus Dipropylenglykoldimethylether (Dowanol-50B; Dowanol DPM; CAS Nr. 34590-94-8) und Polyoxyethylen(20)- sorbitan- monooleat (Tween® 80; CAS Nr. 9005-65-6). Bei der dritten Induktionsapplikation wurde zusätzlich 0,2 ml Freund-Adjuvans appliziert. Nach 14-tägiger Ruhepause erfolgte die Auslösebehandlung. 9 der 10 getesteten Tiere zeigten eine positive Hautreaktion (Henck et al., 1980).

In einem Meerschweinchentest nach Maguire wurde DER 331 untersucht. Die verwendeten Hartley Meerschweinchen wurden zunächst intradermal und epikutan 4-mal innerhalb von 10 Tagen mit 10 % DER 331 in einer 9:1 Lösung aus Dowanol DPM und Tween<sup>®</sup> 80 behandelt. Eine Induktionsapplikation mit Freund-Adjuvans wird nicht erwähnt. Nach 14-tägiger Ruhepause erfolgte die Auslösebehandlung. 11 der 17 getesteten Tiere zeigten eine positive Hautreaktion (d.h. 65 %; unveröffentlichter Studienbericht, 1979; siehe ESR.008).

Ein anderer Studienbericht liefert nur wenige Details zur Versuchsdurchführung. Die gegebene Zusammenfassung besagt jedoch, dass die Prüfsubstanz (10 % von destilliertem DER 331) Meerschweinchen gemäß dem Maguire-Protokoll verabreicht wurde. Die Induktionsapplikationen wurden intradermal und epikutan verabreicht, die spätere Auslösebehandlung erfolgte epikutan unter okklusiven Bedingungen. Das verwendete Vehikel war eine 9:1 Lösung aus Dowanol DPM und Tween<sup>®</sup> 80. Eine Induktionsapplikation mit Freund-Adjuvans wird nicht erwähnt. Zu Studienende zeigten 11 der 14 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion (d.h. 78,5 %; unveröffentlichter Studienbericht, 1979; siehe ESR.015).

Nach einem ähnlichen Versuchsschema wurde ein anderes kommerzielles Bisphenol A-Epoxidharzprodukt geprüft. Bei 10 Hartley Meerschweinchen erfolgte die epidermale Induktion unter okklusiven Bedingungen 4-mal in 10 Tagen mit 10 % DER 662 (Bisphenol A-Diglycidylether-Polymer, festes Epoxidharz, CAS Nr. 25036-25-3) in einer 9:1 Lösung aus Dowanol DPM und Tween<sup>®</sup> 80. Nach 14-tägiger Ruhepause erfolgte die Auslösebehandlung. Keines der 10 Tiere zeigte eine positive Reaktion. DER 331 wurde als Positivkontrolle verwendet. Hier konnten leichte bis mittelschwere Hautreaktionen verzeichnet werden (unveröffentlichter Studienbericht, 1987, siehe ESR.004).

In verschiedenen Meerschweinchentest nach dem Buehler-Protokoll wurde DER 331 ebenfalls als Positivkontrolle verwendet. In einem ersten Versuch wurde die Induktion mit 15 % (w/v) in einer 9:1 Lösung aus Dowanol DPM und Tween<sup>®</sup> 80 durchgeführt. Die Auslösebehandlung erfolgte sehr wahrscheinlich mit derselben Konzentration. Zum Ablesezeitpunkt zeigten alle der 8 getesteten Tiere eine positive Hautreaktion. Es wurden keine Negativkontrolle mitgeführt (siehe ESR.002 zu CAS Nr.68609-97-2).

In einem weiteren Buehler Test wurde 10 % DER 331 in Diglykolmonoethylether wurde als Positivkontrolle verwendet, dabei fand sich in 8 der 10 verwendeten Tiere eine positive Hautreaktion. Die Tiere der Negativkontrolle zeigten keine Effekte (unveröffentlichter Studienbericht, 1993; siehe ESR.003 zu CAS Nr. 9003-36-5).

Ein weiterer Versuch mit Meerschweinchen (männliche und weibliche Tieren, Rasse Dunkin Hartley) wurde gemäß dem Buehler-Protokoll durchgeführt. Die topische Induktionsbehandlung erfolgte an Tag 0, 8 und 15 jeweils für 6 h unter okklusiven Bedingungen mit 50 % der Testsubstanz (Handelsname EPON828, Reaktionsprodukt aus Bisphenol A und Epichlorhydrin) in Diethylether. An Versuchstag 30 wurden die Tiere abermals epikutan unter okklusiven Bedingungen behandelt. Unter diesen Bedingungen wurden 24 h nach dem Ende der Auslösebehandlung keine Hautreaktionen, verursacht durch die Testsubstanz, gefunden. Alle Tiere der Positivkontrolle zeigten deutliche Hautreaktionen (unveröffentlichter Studienbericht, 1986; ESR.005).



Bei Rudzki und Krajewska (1979) wurden ebenfalls Meerschweinchen als Versuchstiere verwendet. In diesem nicht standardisierten Test wurden 10 Tiere durch insgesamt 34-maliges Aufbringen (an 6 Tagen pro Woche) des Bisphenol A-Harzes (20 % in Aceton, Handelsname Epidian 5) auf die geschorene Haut sensibilisiert. Die Auslösebehandlung erfolgte später mit 5 % des Harzes in Aceton. 7 der 10 sensibilisierten Tiere reagierten positiv auf die Auslösebehandlung. Wurden Meerschweinchen, die gegenüber Bisphenol A-Harz sensibilisiert wurden, mit Phenylglycidylether behandelt (1 % in Ethanol; siehe 0) so reagierte 1 der 10 Tiere positiv (Kreuzreaktivität).

Die sensibilisierende Wirkung von verschiedenen Bisphenol A-Harzen wurde ebenfalls im LLNA gemessen. Eine erste Prüfung wurde unter Verwendung von 0,3; 1 oder 3 % (w/w) der Testsubstanz in Aceton durchgeführt und ein EC<sub>3</sub> von 0,1 % ermittelt (EC<sub>1,5</sub> nicht bestimmt; Testsubstanz 1: Bisphenol A-Diglycidylether (technisch); Testsubstanz 2: Bisphenol A-Diglycidylether (destilliert) entspricht CAS Nr. 1675-54-3, es war kein EC<sub>3</sub> bestimmbar). In einer zweiten, unabhängigen Testung in Aceton mit 0,3; 1 oder 3 % der Prüfsubstanz (DGEBA (technisch)) in Aceton wurde ein EC<sub>1,5</sub> von 1,19 % bestimmt. Wurde anstelle von Aceton jedoch Aceton/Olivenöl verwendet, so wurde ein Stimulationsindex von 1,5 nicht überschritten (Gamer et al., 2008).

Im Registrierungsossier sind die Ergebnisse eines weiteren Standard-LLNA zusammenfassend dargestellt. Die weiblichen CBA/J Mäuse wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen der Prüfsubstanz (DER 331) in Aceton/Olivenöl (4:1) behandelt (verwendete Konzentrationen: 0,3 %, 1 %, 3 %, 10 % oder 30 %). Unter den geprüften Bedingungen wurden Stimulationsindices zwischen 0,9 und 11,8 ermittelt. Daraus wurde ein EC<sub>3</sub> Wert von 5,7 % errechnet (unveröffentlichter Studienbericht, 2006; siehe ESR.001).

Folgende Studienberichte werden der Vollständigkeit halber erwähnt, sind jedoch aufgrund ihrer mangelhaften Detailtiefe bzw. Aussagekraft nicht relevant für die Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke der Bisphenol A-Harze.

In einem Studienbericht aus dem Registrierungsossier, werden die Tiere 8-malig intradermal mit 0,1 ml einer „verdünnten Epoxidharzmischung“ (keine Angaben zu Vehikel oder Konzentration) induziert. Und nach dreiwöchiger Ruhephase wurde die Auslösebehandlung durchgeführt. Zu den Ablesezeitpunkten (24 und 48 h nach dem Ende der Auslösebehandlung) zeigten 19 der 20 untersuchten Tiere eine positive Hautreaktion (unveröffentlichter Studienbericht, 1963; siehe ESR.009).

Männliche Albinomeerschweinchen wurden gemäß dem Draize-Protokoll behandelt. Die 10 intradermalen Induktionen wurden mit einer 0,1%igen DER 331 Lösung in physiologischem Kochsalz durchgeführt. Nach einer zweiwöchigen Ruhephase schloss sich die intradermale Auslösebehandlung mit der gleichen Substanzkonzentration an. 24 Stunden nach der letzten Injektion zeigten 7 der 8 Tiere aus der Testgruppe eine positive Hautreaktion. In der Kontrollgruppe (erhielten nur die Auslösekonzentration) zeigten 4 der 8 Tiere eine positive Reaktion. Dies entspricht der beobachteten Hautreaktion einen Tag nach der ersten Induktionsbehandlung mit DER 331 (unveröffentlichter Studienbericht, 1977; siehe ESR.010).

Ähnlich obigem Versuch (Draize-Protokoll) wurden weitere Albinomeerschweinchen zunächst 10-mal innerhalb von 22 Tagen intradermal mit 0,1 % der DER 331 in 10%igem Ethanol behandelt. Nach zweiwöchiger Ruhephase wurde die Auslösebehandlung ebenfalls mit einer intradermalen Injektion durchgeführt. 24 Stunden später wurden die Hautreaktionen bewertet. In den 8 Versuchstieren wurde eine positive Reaktion gefunden. Jedoch war dies ebenfalls bei den 8 Kontrolltieren (Induktionsbehandlung mit Vehikel und nur Auslösebehandlung mit Testsubstanz) der Fall (unveröffentlichter Studienbericht, 1978; siehe ESR.016).

In einem nicht näher beschriebenen Test an Meerschweinchen wurde mit einem technischen Gemisch (wahrscheinlich DER 331), sowie verschiedenen aufgereinigten Proben jeweils in positives Ergebnis erzielt (Vehikel: 9:1 Lösung aus Dowanol DPM und Tween<sup>®</sup> 80; unveröffentlichter Studienbericht, 1978; siehe ESR.011).

10 Hartley Meerschweinchen wurden einmalig topisch gegenüber DER 331 sensibilisiert (24 h, okklusiv, keine Angabe über die verwendete Konzentration oder das Vehikel). Nach einer zweiwöchigen Ruhephase wurde die Auslösebehandlung an einer zuvor unbehandelten Stelle durchgeführt (epikutan, okklusiv). Mit den gegebenen Bedingungen wurde ein positives Ergebnis erzielt (unveröffentlichter Studienbericht, 1968; siehe ESR.014).

– *In vitro* (Schritt C)

Aus dem Registrierungsossier wurde für den  $\log K_{OW}$  ein Bereich von  $\geq 2.64$  bis  $\leq 3.78$  entnommen. Die Werte wurden experimentell bestimmt.

– *In silico* (Schritt D)

Der von TOXTREE identifizierte Mechanismus für die Proteinbindung lautet  $S_N2$ . Dieser Reaktivitätsmechanismus wurde durch das Modelle „Protein binding by OECD“ der OECD Toolbox 2.2 bestätigt. Das Modell „Protein binding by OASIS“ beschreibt für den Inhaltsstoff folgenden Mechanismus: „Protein alkylation by active cyclic agents“ (entspricht einem  $S_N2$  Mechanismus; siehe 2.2.1.4).

### **2.2.1.3 Reaktionsprodukt Bisphenol A Epichlorhydrin 25085-99-8**

Hersteller-Einstufung: 36/38-43-51/53

Die im obigen Abschnitt verwendete CAS Nummer 25068-38-6 bezeichnet den identischen Stoff wie die hier aufgeführte CAS Nummer 25085-99-8. Die Herstellern und Importeuren von Bisphenol A-Harzen kamen ihrer Registrierungspflicht unter REACH unter erstgenannter CAS Nummer nach. Die zu den Bisphenol A-Harzen vorliegenden Informationen sind unter den entsprechenden Überschriften im Abschnitt 0 aufgeführt.

### **2.2.1.4 Bisphenol A-Epichlorhydrin MW 340 001675-54-3**

Hersteller-Einstufung: 36/38-43

Die obige CS Nr. 1675-54-3 wird für die reinen Diglycidylether von Bisphenol A (DGEBA / BADGE; d.h. Reaktionsprodukt aus Bisphenol A und Epichlorhydrin mit dem MW 340) verwendet. Kommerziell wird dieses Produkt in Europa nicht oder nur

in sehr speziellen Nischenanwendungen verwendet. Der Name des kommerziellen Produkts, das in den USA zur Verfügung steht, lautet DER 332. Die CAS Nr. wird jedoch für Recherchen verwendet (persönliche Kommunikation mit Dr. Rouw, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin).

– *In vivo (Schritt B)*

Die im GPMT und weiteren Protokollen erzielten Ergebnisse der Autoren um Thorgeirsson für das niedermolekulare Reaktionsprodukt aus Bisphenol A und Epichlorhydrin wurden bereits unter 0 beschrieben (Thorgeirsson und Fregert, 1977; Thorgeirsson et al., 1978).

In einem GPMT wurden die Tiere (weiblich, Rasse Dunkin Hartley) zunächst mit 5 % (w/v) DGEBA intradermal behandelt. Am Tag 6 wurde eine leichte Hautreizung durch die topische Applikation von 10 % Natriumlaurylsulfat ausgelöst (Vehikel: Dimethylacetamid/Aceton/Ethanol 4:3:3 (v/v/v)). Am Versuchstag 7 erfolgte die epidermale Induktion mit 10 % (w/v). Die Auslösebehandlung erfolgte mit 15 % (w/v). Das verwendete Vehikel für die Prüfsubstanz war Propylenglykol. 24 h nach dem Entfernen des Okklusivverbandes zeigten 18 der 24 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion (75 %). In dieser Studie und einer Nachfolgerstudie wurde zudem eine Kreuzreaktivität mit verschiedenen Epoxidharz oligomeren und Phenylglycidylether belegt (Pontén et al., 2009; Pontén et al., 2002).

In einem weiteren GPMT wurden die Tiere intradermal mit 5 % DGEBA und topisch mit 50 % DGEBA induziert. Die topische Auslösebehandlung erfolgte nach einer zweiwöchigen Ruhephase ebenfalls mit 50 % DGEBA. Das verwendete Vehikel war Maisöl. Unter den getesteten Bedingungen zeigten alle der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion. Dies war bei keinem der Kontrolltiere der Fall (unveröffentlichter Studienbericht, 1999, siehe ESR.007 zu CAS Nr. 25068-38-6).

Männliche und weibliche Meerschweinchen des „P“-Stammes wurden in einem Versuch, dem Buehler-Protokoll ähnlich, mit DGEBA („aufgereinigt“) behandelt. Die Induktion erfolgte durch 3-malige Patchapplikation mit 51,4 % der Prüfsubstanz in Vaseline (24 h, okklusiv, 1Patch/Woche). Die Auslösebehandlung erfolgte nach einer zweiwöchigen Ruhephase mit einer nicht-reizenden Konzentration der Prüfsubstanz (25 %, 24 h). Die Hautreaktionen wurden direkt nach dem Entfernen des Okklusivverbandes überprüft, sowie 24 und 48 h später. Über die Zeit wurden in der Testgruppe zwischen 44 und 56 % der Tiere mit positiven Hautreaktionen befundet. Die Schwere der ausgelösten Reaktion erstreckte sich dabei von „leicht“ bis „deutlich, klar“ (Bewertungsskala 1 bis 3). Bei den Kontrolltieren war bis auf eine leichte Hautreaktion zum 24 h Ablesezeitpunkt in einem der 10 untersuchten Tiere keine Hautreaktion zu vermerken (unveröffentlichter Studienbericht, 1978; siehe ESR.002 zu CAS Nr. 25068-38-6).

Die sensibilisierende Wirkung von DGEBA („Bisphenol A-diglycidylether destilliert“) wurde ebenfalls im LLNA gemessen. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 0,3; 1 oder 3 % (w/w) der Testsubstanz in Aceton durchgeführt. Es konnte jedoch kein EC3 ermittelt werden. Aus derselben Publikation findet sich für das technische Gemisch ein Ergebnis unter 0 (Gamer et al., 2008).

In einem LLNA mit weiblichen CBA/Ca Mäusen wurde DGEBA (DER 332, „hochreiner Bisphenol A-diglycidylether“ in Aceton/Olivenöl (4:1)) in Konzentrationen

von 1, 3 und 10 % eingesetzt. Ab einer Versuchskonzentration von 3 % wurde der Grenzwert für ein positives Ergebnis (d.h. Stimulationsindex > 3) überschritten. Der daraus berechnete EC3 war 1,5 % (Warbrick et al., 2001; sekundär zitiert in Gerberick et al., 2005).

Weibliche Balb/c Mäuse wurden gemäß dem LLNA-Protokoll behandelt. Die geprüften Konzentrationen waren 0,003; 0,03; 0,1 und 0,3 % der Testsubstanz (DGEBA) in Diemthylformamid. Pro Konzentration wurden 6 Tiere eingesetzt. Neben der Lymphoproliferation wurde ebenfalls die Mausohrdicke bestimmt. Unter den gegebenen Bedingungen war in den Tieren, die mit 0,3 % behandelt worden waren, ein Anstieg der Schwellung von weniger als 10 % zu vermerken (im Screeningtest mit 3 bzw. 1%iger Testlösung waren es 289 % bzw. 26 %). Die verwendeten Konzentrationen der Hauptstudie lösten in keinem Fall eine Lymphozytenproliferation größer dem Schwellenwert für ein positives Ergebnis von 3 aus (SI bei 0.003%: 1,6; 0,03%: 1,4; 0,1%: 1,4 und 0,3 %: 0,9; unveröffentlichter Studienbericht, 2001; siehe ESR.003 zu CAS Nr. 25068-38-6).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 3,84 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~340 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00857 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -2,07.

Weiterhin wurden Untersuchungen an Keratinozyten im KeratinoSens™ durchgeführt. Die bestimmte  $I_{max}$  lag bei 13  $\mu$ M und die  $EC_{1,5} = 5 \mu$ M (Testdurchführung gemäß Standardprotokoll). Die  $IC_{50}$  lag bei 22  $\mu$ M (Marker der Zytotoxizität). Die mindestens 1,5fache Induktion der Luziferaseaktivität war bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen bereits signifikant (Delaine et al., 2011).

– *In silico (Schritt D)*

Die vorliegende Substanz war im Trainingsset der Entwicklung der SMARTS Muster enthalten (Enoch et al., 2008). Die identifizierte Reaktionsdomäne war ein  $S_N2$  Mechanismus (d.h. die Reaktivitätsdomäne wurde bereits durch Experten bestätigt, dies wird durch die Verwendung im Trainingsset deutlich). Folgerichtig wurde bei der Evaluierung potentieller Reaktivitätsmechanismen durch TOXTREE (hier sind die SMARTs Muster implementiert) wiederum der  $S_N2$  Mechanismus für die Proteinbindung des Inhaltsstoffes vorhergesagt. Dieser Reaktivitätsmechanismus wurde durch das Modelle „Protein binding by OECD“ der OECD Toolbox 2.2 bestätigt. Das Modell „Protein binding by OASIS“ beschreibt für den Inhaltsstoff folgenden Mechanismus: „Protein alkylation by active cyclic agents“ (entspricht einem  $S_N2$  Mechanismus).

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Der zu bewertende Inhaltsstoff erzielte auf Basis der verwendeten Daten im LLNA einen SS von 0,5 (d.h. Kategorie moderat; SS >0,25 bis 0,5; Daten aus Gerberick et al., 2005).

Vom Modell vorhergesagt wurde ein PSS („predicted SS“) von 0,37. Auf Basis der Humanbefunde (BgVV) wurde ein SS von 1 (d.h. bedeutendes Humanallergen, Kategorie A; SS: >0,5 bis 1) vergeben und ein PSS von 0,92 gefunden.

Die vorläufige Wirkstärkenbewertung durch die Firma MOLCODE, auf Basis der ermittelten QSAR-Ergebnisse (QMRf: Q17-10-1-241; Endpunkt LNA Score Index) stufte den Inhaltsstoff in die schwächste Wirkkategorie ein („weak“). Für die Substanz liegt der numerische Wert des LLNA Score Index im Bereich zwischen 0,11 und 0,22. Die Ergebnisse wurden aufgrund des eigentlich kostenpflichtigen Service nicht detaillierter aufgeführt bzw. beschrieben (persönliche Kommunikation mit PhD Eneli Härk, REACH and Regulative Affairs, MOLCODE).

### **2.2.1.5 Bisphenol F-Harze 009003-36-5**

Hersteller-Einstufung: 36/38-43-51/53

IUCLID Datensatz der Substanzregistrierung unter REACH (EC, 2006) verfügbar.

#### *– In vivo (Schritt B)*

In einem Meerschweinchentest (männliche und weibliche Tiere, Rasse Dunkin Hartley) nach dem GPMT-Protokoll wurde ein Reaktionsprodukt aus Bisphenol F und Epichlorhydrin (Handelsname: EPIKOTE 862) als Testmaterial verwendet. Die intradermale Induktionskonzentration betrug dabei 0,5 % in Maisöl. Die topische Induktion erfolgt mit der unverdünnten Testsubstanz (48 h, okklusiv) und nach einer zweiwöchigen Ruhephase wurde die Auslösebehandlung unter Verwendung einer 50%igen Lösung in Maisöl durchgeführt (24 h, semiokklusiv). Unter den gegebenen Bedingungen wurde bei allen der 19 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion gefunden. Während des Versuches starb ein Tier und am Versuchsende war an den Applikationsstellen bei 18 der 19 Tiere mindestens leichte bis hin zu sehr schweren Nekrosen zu sehen (unveröffentlichter Studienbericht, 1988; siehe ESR.004).

In einer Zusammenfassung eines Studienberichts aus dem Jahr 1985 werden die Meerschweinchen ebenfalls nach dem GPM Testprotokoll behandelt. Die Prüfsubstanz wurde als „TK 12225/D“ bezeichnet und stellt ein DGEBF-Harz dar. Den männlichen und weiblichen Pirbright-Hartley Meerschweinchen wurde zunächst 1 % der Testsubstanz in Sesamöl injiziert. Nach einer Woche folgte die topische Induktion mit 10 % in Vaseline (48 h, okklusiv), gefolgt von der Auslösebehandlung zwei Wochen später mit 0,3 % in Vaseline (24 h). Die Bewertung der Haut erfolgte 24 und 48 h nach Abnahme des Okklusivverbandes. Zu beiden Zeitpunkten zeigten 15 der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion (75 %). Bei den Kontrolltieren wurde kein Effekt verzeichnet (unveröffentlichter Studienbericht, 1985; siehe ESR.006).

Ein weiterer Bericht liefert die Ergebnisse eines dritten GPMT mit der Testsubstanz EPIKOTE 155 (Handelsname, Polyglycidylether des Phenolformaldehyds Novolac). Die verwendeten Versuchstiere waren männliche, sowie weibliche Dunkin Hartley Meerschweinchen. Zur intradermalen Induktion wurde eine 0,05%ige Lösung verwendet. Die 48-stündige topische Induktion erfolgte mit 10 % der Prüfsubstanz in Vaseline (okklusiv). Nach einer Behandlungspause von zwei Wochen wurde versucht die Hautreaktion durch Patchapplikation (5 %, 24 h, okklusiv) auszulösen. Das verwendete Vehikel der intradermalen Induktionsapplikation und der Auslösebe-

handlung ist unklar. Unter diesen Versuchsbedingungen wurde in keinem der untersuchten Tiere eine positive Hautreaktion gefunden (unveröffentlichter Studienbericht, 1981; siehe ESR.005).

In einem GPMT wurden die Tiere (weiblich, Rasse Dunkin Hartley) zunächst mit 4,6 % (w/v) DGEBF (Bisphenol F p,p'-Diglycidylether) intradermal behandelt. An Tag 6 wurde zunächst eine leichte Hautreizung durch die topische Applikation von 10 % Natriumlaurylsulfat ausgelöst (Vehikel: Dimethylacetamid/Aceton/Ethanol 4:3:3 (v/v/v)). An Versuchstag 7 erfolgte die epidermale Induktion mit 9,2 % (w/v). Die Auslösebehandlung erfolgte mit 15 % (w/v). Das verwendete Vehikel war Propylenglykol. 24 Stunden nach dem Entfernen des Okklusivverbandes zeigten alle der 24 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion. In dieser Studie und einer Nachfolgerstudie wurde zudem eine Kreuzreaktivität mit verschiedenen Epoxidharz oligomeren und Phenylglycidylether belegt (Pontén et al., 2009; Pontén et al., 2002).

Ein Versuch mit Meerschweinchen (männliche und weibliche Tieren, Rasse Dunkin Hartley) wurde gemäß dem Buehler-Protokoll durchgeführt. Die topische Induktionsbehandlung erfolgte an Tag 0, 7 und 14 jeweils für 6 h unter okklusiven Bedingungen mit der unverdünnten Testsubstanz (Handelsname „DEN 438 Epoxy Novolac Resin“). An Versuchstag 28 wurden die Tiere abermals epikutan unter okklusiven Bedingungen behandelt (75 % in Polyethylenglykol 200). Unter diesen Bedingungen wurden 24 und 48 h nach dem Ende der Auslösebehandlung die Haut beurteilt. Bei drei der 20 behandelten Tiere konnte eine positive Hautreaktion verzeichnet werden (15 %), nach 48 h war es nur noch ein Tier. Alle Tiere der Negativkontrolle waren ohne Hautreaktionen (unveröffentlichter Studienbericht, 1991; siehe ESR.002).

In einem Meerschweinchentest (männlichen Tiere, Rasse Hartley) nach dem Buehler-Protokoll wurde DER 354 (ein Reaktionsprodukt aus Bisphenol F und Epichlorhydrin) verwendet. Die Testsubstanz wurde 3-mal innerhalb von 3 Wochen unverdünnt auf die Haut aufgetragen (okklusiv). Die Auslösebehandlung erfolgte nach einer zweiwöchigen Ruhephase ebenfalls mit einer Patchapplikation der unverdünnten Testsubstanz. 48 Stunden nach Abnahme des Okklusivverbandes war bei 4 der 10 getesteten Tiere eine positive Hautreaktion zu sehen. 10 % DER 331 in Diglykolmonoethylether wurde als Positivkontrolle verwendet, dabei fand sich in 8 der 10 verwendeten Tiere eine positive Hautreaktion (Ergebnisse zu DER 331 auch unter 0 berichtet). Die Tiere der Negativkontrolle zeigten keine Effekte (unveröffentlichter Studienbericht, 1993; siehe ESR.003).

Die sensibilisierende Wirkung von Bisphenol F-Harz wurde auch an CBA/Ca Mäusen im LLNA untersucht. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 0,1; 0,3 oder 1 % (w/w) der Testsubstanz (DGEBF) in Aceton durchgeführt und ein EC<sub>3</sub> von 0,7 % ermittelt (EC<sub>1,5</sub> = 0,6). In einer zweiten, unabhängigen Testung in Aceton mit 0,3; 1 oder 3 % der Prüfsubstanz in Aceton wurde ein EC<sub>1,5</sub> von 2,33 bestimmt. Wurde anstelle von Aceton jedoch Aceton/Olivenöl verwendet, so wurde ein Stimulationsindex von 1,5 nicht überschritten (Gamer et al., 2008; Teilergebnisse ebenfalls in ESR.001 berichtet).

– *In vitro (Schritt C)*

Aus dem Registrierungsdossier wurde für den  $\log K_{OW}$  ein Bereich von  $\geq 2,7$  bis  $\leq 3,6$  entnommen. Die Werte wurden experimentell bestimmt.

Weiterhin wurden Untersuchungen an Keratinozyten im KeratinoSens™ durchgeführt. Die bestimmte  $I_{max}$  lag bei  $5 \mu\text{M}$  und die  $EC_{1,5} = 7 \mu\text{M}$  (Testdurchführung gemäß Standardprotokoll). Die  $IC_{50}$  lag bei  $23 \mu\text{M}$  (Marker der Zytotoxizität). Die mindestens 1,5fache Induktion der Luziferaseaktivität war bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen bereits signifikant (Delaine et al., 2011).

– *In silico (Schritt D)*

Wie auch für die DGEBA-Harze wurde von TOXTREE, dem OECD und dem OASIS Reaktivitätsmodell aus der QSAR Toolbox funktionelle Gruppen innerhalb der DGEBF-Harze gefunden, die auf einen  $S_N2$  Mechanismus als mögliche Erklärung für die Proteinreaktivität deuten (Anmerkung: Hinweis auf Bildung einer Schiff'schen Base scheint falsch; siehe auch Kapitel 2.3, Abschnitt 2. OECD QSAR Toolbox).

### **2.2.1.6 Bisphenol-F-Epichlorhydrin 028064-14-4**

Hersteller-Einstufung: 36/38-43-51/53

Die vorhandenen Informationen zu allen Bisphenol F-Harzen und auch dem DGEBF-Monomer sind unter der CAS Nr. 9003-36-5 in Abschnitt 2.2.1.5 aufgeführt.

## **2.2.2 Härter, aromatische Amine**

### **2.2.2.1 4,4'-Diaminodiphenylmethan 000101-77-9**

Hersteller-Einstufung: 45-39/23/24/25-43-48/20/21/22-68-51/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

In einem GPMT mit einer intradermalen und topischen Induktionsdosis von 5 % (w/v) der Testsubstanz in Aceton reagierten 3 von 15 getesteten Tieren (d.h. 20 %) nach Applikation der Auslösedosis von 2 % (w/v) positiv (Thorgeirsson, 1978b; siehe ESR.003, ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985).

Im Registrierungsdossier unter REACH liegt für die Substanz das Ergebnis eines weiteren Tests an männlichen Meerschweinchen vor. Die Tiere wurden innerhalb von 14 Tagen insgesamt 9-mal mit der 1 % der Testsubstanz im Vehikel Dipropylenglykoldimethylether (Dowanol-50B; CAS Nr. 34590-94-8) epikutan am Rumpf unter nicht-okklusiven Bedingungen behandelt. Nach dreiwöchiger Behandlungspause erfolgte eine einmalige Auslösebehandlung ebenfalls mit 1 % der Testsubstanz in Dowanol-50B in der Schulterregion. Nach 24 bzw. 48 Stunden zeigte sich bei keinem der 9 Versuchstiere eine positive Reaktion (unveröffentlichter Studienbericht, 1954; siehe auch ESR.002).

– *In vitro (Schritt C)*

Daten über die dermale Absorption des zu untersuchenden Härterers sind im Registrierungsdossier berichtet.

In einer Studie von 1993 (ähnlich einer OECD 428 *in vitro* Studie) wird berichtet, dass nach 72 Stunden die Substanz von Hautproben („full-thickness“; d.h. gesamte Epidermis und Dermis ohne Subcutis) des Menschen bzw. der Ratte absorbiert wurde (d.h. Aufnahme durch die Haut in die dahinterliegende Rezeptorflüssigkeit; unter nicht-okklusive Bedingungen Ratte: ~ 6 %; Mensch: ~ 13 %; okklusive Bedingungen Ratte: ~ 13 %; Mensch: ~ 33 %). Bei Ende der Experimente wurde deutlich, dass zudem Stoffmengen in den Hautschichten verblieben (d.h. Aufnahme in die Haut; unter nicht-okklusive Bedingungen Ratte: ~ 57 %; Mensch: ~ 24 %; okklusive Bedingungen Ratte: ~ 53 %; Mensch: ~ 37 %). Somit wurden wesentliche Mengen der Substanz in die Haut aufgenommen, die Absorption wurde aber von den Studienautoren als gering bezeichnet. Das Ausmaß der Absorption war bei menschlicher Haut größer als bei der Ratte. Okklusive Expositionsbedingungen erhöhten ebenfalls die absorbierte Menge (siehe ESR.001, ESR.002; Hotchkiss et al., 1993).

Weitere Einträge berichten eine dermale Aufnahme von 4,4'-Diaminodiphenylmethan in Hautproben haarloser Mäuse, Katzen, Beagle-Hunden oder Ratten (ESR.003 bis ESR.007, Quelle beispielsweise Hinz et al., 1991).

Weiterhin konnte im Programm KOWWIN der EPI Suite™ ein experimentelles Ergebnis für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) von 1,59 ermittelt werden. Auf Basis dieses Wertes und des Molekulargewichts von 198 g/mol schätzt das DERMWIN Modell (ebenfalls aus der EPI Suite™) für den Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) einen Wert von 0,00158 cm/h ab. Daraus resultiert ein log  $K_P$  von -2,8.

– *In silico (Schritt D)*

Für diesen Inhaltsstoff wurde weder in TOXTREE, noch in der OECD Toolbox eine Struktur ermittelt, die auf die bekannten Proteinreaktivitätsdomänen hinweist. Daraufhin wurde der in der Toolbox enthaltene Metabolismus-Simulator angewandt. Es wurden 6 potentielle Metabolite identifiziert. Das Toolbox Modell „Protein binding by OASIS“ besagt weiterhin, dass für 3 dieser 6 Metabolite des nicht-proteinreaktiven Inhaltsstoffes die Reaktivitätsdomäne „Michael addition on quinone type structures“ gilt und für einen der Metabolite wird „Nitroso protein binding“ vorhergesagt.

## 2.2.3 Härter, aliphatische Amine:

### 2.2.3.1 Ethylendiamin 000107-15-3

Hersteller-Einstufung: 10-21/22-34-42/43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

Im Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,5 %, Ethylendiamin in Wasser zeigten 14 der 20 getesteten



Tiere eine leichte bis mittelgradige positive Reaktionen (d.h. 70 %; Eriksen, 1979). Ein weiterer GPM Test mit 0,5%iger Induktionsdosis (in Wasser) fand bei 9 von 15 Versuchstieren ein positives Ergebnis (d.h. 60 %; Thorgeirsson, 1978b).

Anderen Meerschweinchen wurden intradermal mit 0,3 % Ethylendiamin in physiologischer Kochsalzlösung induziert (GPMT) und 9 von 10 Tieren zeigten nach Applikation der Auslösedosis ein positives Ergebnis (d.h. 90 %; Goodwin et al., 1981).

In einem "Repeated Insult Patch Test" (RIPT) nach Maguire an Meerschweinchen erfolgte die intradermale Induktion 4-mal in 10 Tagen mit 10 % Ethylendiamin in einer 9:1 Lösung aus Dipropylenglykoldimethylether (Dowanol-50B; CAS Nr. 34590-94-8) und Tween<sup>®</sup> 80 (CAS Nr. 9005-65-6). Bei der dritten Induktionsapplikation wurde zusätzlich 0,2 ml Freund-Adjuvans appliziert. Nach 14-tägiger Ruhepause erfolgte die Auslösebehandlung und alle der 10 getesteten Tiere zeigten eine Hautreaktion an (Henck et al., 1980).

Im Registrierungsossier zu Ethylendiamin wurde eine weitere Studie mit Meerschweinchen genannt (GPMT). Die Tiere wurden intradermal mit 5 % der Prüfsubstanz in Wasser behandelt. Die epikutane Induktion erfolgte mit einer je 10%igen Lösung und die Auslösebehandlung wiederum mit 5 %. Mit Studienende zeigten 9 von 20 Tieren ein positives Ergebnis (d.h. 45 %). Um die relative Wirkstärke der verschiedenen Testsubstanzen miteinander vergleichen zu können normalisierten die Autoren die erzielten Ergebnisse anhand der verwendeten epikutanen Induktionsdosis, sowie der Auslösedosis (die intradermale Induktion wurde in allen Fällen mit 5 % durchgeführt). Für Ethylendiamin ergab sich ein normalisiertes Ergebnis von 0,9 (Maximum 2; Leung und Auletta, 1997; siehe ESR.001).

Modjtahedi et al. unterzogen Ethylendiamin-dihydrochlorid (CAS Nr. 333-18-6) einer vergleichenden Untersuchung in verschiedenen Tests. In einem GPMT betrug die intradermal und topische Induktionsdosis 25%. Drei der 15 behandelten Tiere zeigten zum Studienende eine positive Hautreaktion. Im Buehler Test wurde nach Applikation einer 30%igen Induktionsdosis zum Ablesezeitpunkt nur eines der 15 behandelten Tiere positiv bewertet. Im "Open epicutaneous Test" (OET, ein Nicht-Adjuvans Test) wurde an 20 aufeinanderfolgenden Tagen durch Applikation von jeweils 0,1 ml einer 30, 10 oder 3%igen Lösung auf ein 8 cm<sup>2</sup> große Stelle der Flanke induziert. Nach zweimaliger Auslösebehandlung mit einer 5%igen Substanzlösung reagierten bei der Gruppe, die mit der 3%igen Lösung sensibilisiert wurde, 4 der 15 Tiere positiv (d.h. 27 %; Modjtahedi et al., 2011).

Neben den Versuchen mit Meerschweinchen gibt es zusätzlich Untersuchungen an Mäusen. Die Laboratorien eines LLNA-Ringversuchs mit Ethylendiamin-dihydrochlorid (CAS Nr. 333-18-6) in Aceton/Wasser (3:1) erzielten durchweg negative Ergebnisse (Stimulationsindices von kleiner 3). Ein Labor verwendete als Vehikel Aceton/Olivenöl, erzielte jedoch auch damit keinen SI von > 3. Ein EC3 Wert konnte somit nicht abgeleitet werden. Da die höchste getestete Konzentration 2,5 % betrug, kann davon ausgegangen werden, dass ein potentieller EC3 Wert demnach mindestens > 2,5 % ist. Wurde anstelle des Ethylendiamin-dihydrochlorid nur dessen freie Base in Aceton/Olivenöl (4:1; nur gering löslich) getestet, so wurde ein positives Ergebnis erzielt und ein EC3 von 2,2 % berichtet. Unter Verwendung von

Aceton/Wasser zeigte die freie Base ein negatives Ergebnis (Kimber et al., 1998; Ergebnis ebenfalls in ICCVAM, 2009, Gerberick et al., 2005 und Natsch et al., 2009).

Die sensibilisierende Eigenschaft von Ethylendiamin wurde in einem Versuchsprotokoll ähnlich dem MEST untersucht (Änderungen: Tape Stripping der Epidermis nur an Tag 0; Okklusion der epikutanen Applikationsstelle; Verwendung radioaktiven Materials ( $[^{125}\text{I}]$ -Iodo-desoxyuridin, ein synthetisches Nukleosidanalogen) zur Messung proliferierender Zellen zusätzlich zur Bestimmung der Ohrdicke). Für die Induktion wurde eine 5%ige Ethylendiaminlösung in Aceton verwendet. Das Ergebnis der Studie zeigte nach der Auslösebehandlung (1 % in Aceton) keine Auswirkungen, es wurde weder eine Inkorporation von radioaktivem Material noch die Schwellung des Mausohres beobachtet (Cornacoff et al., 1988).

– *In vitro* (Schritt C)

### 1. Bioverfügbarkeit:

Aus EPI Suite™ wurde ein experimentelles Ergebnis für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) von -2,04 entnommen. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von 60 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0000292 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -4,53.

### 2. Haptenisierung

In der Publikation von Bauch et al. (2011) wurde der optimierte DPRA<sup>3</sup> angewandt und Ethylendiamin als positiv eingestuft. In der Publikation bedeutet dies, dass die mittlere Depletion beider getesteten Peptide (Lysin und Cystein) > 6,4 % beträgt. In einer Nachfolgepublikation der selben Autorengruppe (Bauch et al., 2012) wurden die Ergebnisse differenzierter berichtet. Im Versuch mit Lysin wurde eine Peptiddepletion von 0,7 % gemessen, mit Cystein ergab sich eine Peptiddepletion von 18,6 %. Die mittlere Peptiddepletion betrug demnach 9,7 %.

Unter Verwendung eines Cystein-haltigen Peptids konnte von Natsch und Kollegen (2009) nur ein Rückgang des Peptidvorkommens von ~ 15 % verzeichnet werden. Die Studienautoren bewerten das Ergebnis als negativ. In einer Nachfolgearbeit derselben Autorengruppe wurde zusätzlich zur Peptidreaktivität (siehe vorherige Methode) eine LC-MS Analyse durchgeführt, um eine eventuelle Adduktbildung zu bestätigen (Emter et al., 2010). Im Fall von Ethylendiamin wurde ein 10,7%iger Peptidrückgang gemessen, aber eine Adduktbildung konnte nicht nachgewiesen werden.

### 3. Keratinozytenreaktion

Im ARE-Luciferase Test, dem Vorläufertest des KeratinoSens™ wurde ein  $I_{\max}$  von 1,2 bestimmt und eine  $EC_{1,5}$  von > 1000  $\mu\text{M}$  ermittelt (Natsch et al., 2009).

Bauch und Kollegen (2011) berichten im KeratinoSens™ ein positives Testergebnis für Ethylendiamin. In der genannten Publikation bedeutet dies, dass eine  $I_{\max}$  von > 1,5 beobachtet wurde. In der Nachfolgepublikation (Bauch et al., 2012) wird die  $EC_{1,5}$  im KeratinoSens™ bei 549  $\mu\text{M}$  angegeben.

---

<sup>3</sup> DPRA: Direct Peptide Reactivity Assay

Im KeratinoSens™ nach Emter et al. (2010) war die  $I_{max} = 13,2$  und die  $EC_{1,5} = 99,9$   $\mu\text{M}$ , dabei zeigten die 4 durchgeführten Test (Durchführung immer dreifach) jeweils einen statistisch signifikanten  $EC_{1,5}$  Wert. Eine  $IC_{50}$  von  $> 2000$   $\mu\text{M}$  bewies die geringe Zytotoxizität der Substanz im vorliegenden Test. Weiterhin konnte eine deutliche Konzentrations-Wirkungsbeziehung festgestellt werden. Der ermittelte ARE  $EC_2$  Wert lag bei  $188,2$   $\mu\text{M}$  und der ARE  $EC_3$  Wert bei  $453,4$   $\mu\text{M}$ .

#### 4. Reifung und Migration von DCs

Die Reifung der humanen Monozyten U937 wird im MUSST erfasst. Ethylendiamin wurde von Bauch (2011) auf Basis der erzielten Ergebnisse in diesem Test als sensibilisierend eingestuft. Diese Einstufung erfolgte, wenn mindestens eine 1,2fache Induktion der Oberflächenexpression von CD86 vorlag. Die Versuchsdurchführung wich leicht von der Originaltestbeschreibung ab, die Induktion von CD86 wurde nur zu einem Zeitpunkt gemessen und es wurden keine weiteren Marker bestimmt. In der Nachfolgepublikation (Bauch et al., 2012) wird die  $EC_{1,2}$  im MUSST bei  $412$   $\mu\text{M}$  angegeben.

Dieselbe Autorengruppe untersuchte ebenfalls die Reifung von THP-1 Zellen (h-CLAT). Das Studienergebnis für Ethylendiamin war positiv, d.h. es lag mindestens eine 1,5fache Induktion der Oberflächenexpression von CD86 und/oder CD54. Getestet wurden acht Konzentrationen ausgehend von einer 1,2fachen CV75 (Konzentration bei der noch 75% der Zellen leben; Bauch et al., 2011). In der Nachfolgepublikation (Bauch et al., 2012) wird für den h-CLAT die  $EC_{1,5}$  (CD86) bei  $1818$   $\mu\text{M}$  angegeben, während die Expressionsmarke von 2fach gegenüber der Kontrolle für CD54 nicht überschritten wurde.

Ethylendiamin wurde ebenfalls von den Testentwicklern des h-CLAT untersucht. Die  $EC_{1,5}$  für die Induktion des Oberflächenmarkers CD86 war  $141,9$   $\mu\text{g/ml}$ , in diesem Konzentrationsbereich wurde nur eine ca. 10%ige Zytotoxizität beobachtet. Die Induktion des Oberflächenmarkers CD54 wurde ebenfalls gemessen, überstieg jedoch zu keinem Zeitpunkt den Schwellenwert einer mindestens 2fachen Induktion. Die Substanz wird von den Studienautoren als positiv bewertet und als moderat sensibilisierend eingestuft (Sakaguchi et al., 2009). Die Ergebnisse eines späteren Ringversuchs bestätigen die gefundenen Ergebnisse. Der Schwellenwert der mindestens 1,5fachen CD86 Induktion wird von allen 5 teilnehmenden Laboratorien in mindestens 2 der 3 durchgeführten Tests überschritten, wohingegen der Schwellenwert der CD54 Induktion (2fache Induktion) nur in einem der Testlaboratorien erreicht wird (Sakaguchi et al., 2010).

#### – *In silico (Schritt D)*

In Natsch et al. (2009) ist für diesen Inhaltsstoff das Ergebnis einer Vorhersage aus dem TIMES-SS Systems bezüglich der sensibilisierenden Substanzeigenschaften berichtet. In diesem Fall wird die Substanz als kontaktsensibilisierendes Agens identifiziert.

In Fedorowicz et al. (2005) werden die Ergebnisse bezüglich der sensibilisierenden Eigenschaften des Inhaltsstoffes aus zwei Softwareprodukten, sowie einer Basismethode berichtet (TOPKAT und DEREK für Windows, logistische Regressionsanalyse). TOPKAT sagt ein positives Ergebnis des Inhaltsstoffes im GPMT vorher (0,975). Mit Hilfe von DEREK und der logistischen Regression können

Aussagen über den Ausgang der Sensibilisierungstestung in Meerschweinchen und in Mäusen gemacht werden. Die logistische Regressionsanalyse ergibt im Fall des GPMT ein positives Ergebnis (0,921), besagt jedoch, dass der Inhaltsstoff in Mäusen nicht sensibilisierend wirkt (0,169 LLNA). In DEREK lautet das kategorisierte Ergebnis „certain“<sup>4</sup> im GPMT und „probable“<sup>5</sup> im LLNA.

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Der zu bewertende Inhaltsstoff erzielte auf Basis der verwendeten Daten im LLNA einen SS von 0,5 (d.h. Kategorie moderat; SS >0,25 bis 0,5; Daten aus Gerberick et al., 2005). Vom Modell vorhergesagt wurde ein PSS („predicted SS“) von 0,75 (d.h. Kategorie stark; SS > 0,625 bis 0,75).

Die vorliegende Substanz war im Trainingsset der Entwicklung der SMARTS Muster enthalten (Enoch et al., 2008). Die identifizierte Reaktionsdomäne war ein pro-SB Mechanismus (d.h. ein Metabolit der Substanz kann über den Schiffbasenmechanismus als Hapten fungieren). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten ebenfalls keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 4 der 6 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (3/6) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls, (1/6) 1-2-Dicarbonyls|MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (4/6) Schiff base formation with aldehydes).

### 2.2.3.2 Diethylentriamin 000111-40-0

Hersteller-Einstufung: 21/22-34-43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

#### – *In vivo (Schritt B)*

Im Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,5 % Diethylentriamin in Wasser zeigten 14 der 15 getesteten Tiere eine positive Reaktion (d.h. 90 %; Thorgeirsson, 1978b; siehe ESR.003, ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985). In einem weiteren GPMT zeigten 16 von 20 getesteten Tieren eine Hautreaktion (d.h. 80 % positiv). Im Test betrug die intradermale Induktionsdosis 5 %, die epikutane Induktionsdosis 50 % und die Auslösedosis 25 %. Wasser wurde als Vehikel verwendet. Nach Normalisierung

<sup>4</sup> There is proof that the proposition is true.

<sup>5</sup> There is at least one strong argument that the proposition is true, and there are no arguments against it.

(Details siehe 2.2.3.1) ergab sich ein Ergebnis von 0,064 für den Härter aus der Gruppe der aliphatischen Amine (Maximum 2; Leung und Auletta, 1997; siehe ESR.001).

Im LLNA, durchgeführt von Basketter et al. (1994), wurde Diethylentriamin in Konzentrationen von 5 und 10 % (w/v) in Aceton/Olivenöl (4:1) auf die Haut von Mäusen aufgebracht. Es wurden Stimulationsindices von 6,4 bzw. 12,1 ermittelt. In der Veröffentlichung von Gerberick et al. (2005) wird auf Basis dieser Ergebnisse ein EC3 „analoger“ Wert von 5,8 % errechnet. Da beide SI-Werte oberhalb von 3 lagen, war keine lineare Interpolation möglich und die Berechnung eines „wahren“ EC3 Wertes konnte nicht durchgeführt werden. Leider wurden von Gerberick et al. falsche Testkonzentrationen zur Berechnung des EC3 analogen Wertes herangezogen (10 und 25 % (w/v)), sodass der errechnete Wert nicht dem wahren Wert entspricht. Ein EC3 Wert läge ausgehend von den oben genannten SI-Werten unter 5 %. Eine Extrapolation mit Hilfe der in Gerberick et al. (2004a) enthaltenen Formel führt zu einem EC3 analogen Wert von 3,48 % auf Basis der berichteten Ergebnisse.

Im Registrierungsossier Diethylentriamin ist eine unveröffentlichte Industriestudie aufgeführt. Der LLNA wurde gemäß der OECD-Richtlinie 429 durchgeführt und erzielte einen EC3 Wert von 3,9 %. Es konnte eine klare Konzentrations-Wirkungsbeziehung gesehen werden (bei 2,5 %: SI = 2,6; bei 5 %: SI = 3,3; 10 %: SI = 3,5; aufgrund der lokalen Reizwirkung konnten keine höheren Konzentrationen getestet werden). Das verwendete Vehikel war Aceton/Olivenöl (4:1; Studienbericht, 2001, siehe ESR.002).

– *In vitro (Schritt C)*

1. Bioverfügbarkeit:

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) ein Wert von -2,13 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~103 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0000137 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -4,86.

2. Haptenisierung

In einer Arbeit der Autorengruppe um Emter wurde zusätzlich zur Peptidreaktivität (Lysin und Cystein) eine LC-MS Analyse durchgeführt, um eine eventuelle Adduktbildung zu bestätigen (Emter et al., 2010). Im Fall von Diethylentriamin wurde ein 7,8%iger Peptidrückgang gemessen, aber eine Adduktbildung konnte nicht nachgewiesen werden.

3. Keratinozytenreaktion

Im KeratinoSens™ nach Emter et al. (2010) war die  $I_{max} = 1,7$  und die  $EC_{1,5} = 1259,4 \mu M$ . In zwei der vier durchgeführten Tests (Durchführung immer dreifach) war keine 1,5fache Induktion messbar ( $I_{max} = 1,46/1,43$ ). Die Substanz wurde von den Studienautoren als positiv bewertet, da die Induktion in allen Fällen statistisch signifikant war und eine klare Konzentrations-Wirkungsbeziehung festgestellt werden konnte. Eine  $IC_{50}$  von  $> 2000 \mu M$  bewies die geringe Zytotoxizität der Substanz im vorliegenden Test.

– *In silico (Schritt D)*

In Fedorowicz et al. (2005) werden die Ergebnisse bezüglich der sensibilisierenden Eigenschaften des Inhaltsstoffes aus zwei Softwareprodukten, sowie einer Basismethode berichtet (TOPKAT und DEREK für Windows, logistische Regressionsanalyse). TOPKAT sagt ein positives Ergebnis des Inhaltsstoffes im GPMT vorher (0,994). Mit Hilfe von DEREK und der logistischen Regression können Aussagen über den Ausgang der Sensibilisierungstestung in Meerschweinchen und in Mäusen gemacht werden. Die logistische Regressionsanalyse ergibt im Fall des GPMT ein positives Ergebnis (0,958), besagt jedoch, dass der Inhaltsstoff in Mäusen nicht sensibilisierend wirkt (0,217 LLNA). In DEREK lautet das kategorisierte Ergebnis im GPMT und im LLNA „probable“<sup>6</sup>.

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Der zu bewertende Inhaltsstoff erzielte auf Basis der verwendeten Daten im LLNA einen SS von 0,5 (d.h. Kategorie moderat; SS >0,25 bis 0,5; Daten aus Gerberick et al., 2005). Vom Modell vorhergesagt wurde ein PSS („predicted SS“) von 0,72 (d.h. Kategorie stark; SS > 0,625 bis 0,75). Auf Basis der Humanbefunde (BgVV) wurde ein SS von 1 (d.h. bedeutendes Allergen, Kategorie A; SS: >0,5 bis 1) vergeben und ein PSS von 0,90 gefunden.

Die vorliegende Substanz war im Trainingsset der Entwicklung der SMARTS Muster enthalten (Enoch et al., 2008). Die identifizierte Reaktionsdomäne war ein pro-SB Mechanismus (d.h. ein Metabolit der Substanz kann über den Schiffbasenmechanismus als Hapten fungieren). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten ebenfalls keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 7 der 17 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (6/17) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls, (1/17) 1-2-Dicarbonyls|MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (7/17) Schiff base formation with aldehydes).

### 2.2.3.3 Dipropylentriamin 000056-18-8

Hersteller-Einstufung: 22-24-26-35-43

– *In vivo (Schritt B)*

Im Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,5 % Dipropylentriamin in Wasser zeigten 8 der 15 getesteten

---

<sup>6</sup> There is at least one strong argument that the proposition is true, and there are no arguments against it.

Tiere eine positive Reaktion (d.h. 55 %; Thorgeirsson, 1978b; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985).

Die sensibilisierende Wirkung von Dipropylentriamin wurde ebenfalls im LLNA gemessen. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 0,3, 1 oder 3 % (w/w) der Testsubstanz in Aceton durchgeführt und ein EC3 von 0,9 % ermittelt (Gamer et al., 2008).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) ein Wert von -1,15 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~131 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,000046 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -4,34.

– *In silico (Schritt D)*

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Der zu bewertende Inhaltsstoff erzielte auf Basis der Humanbefunde (BgVV) einen SS von 0 (d.h. unbedeutendes Allergen, Kategorie C; SS: 0). Mit dem Modell wurde ein PSS von 0,43 bestimmt (d.h. Hinweis auf Kontaktallergen, Kategorie B; SS: > 0 bis 0,5).

In TOXTREE, mit den implementierten SMARTs Rastern, wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen. Auf Basis der erzielten Ergebnisse für die strukturähnlichen aliphatischen Amine Ethylendiamin und Diethylentriamin und dem Wissen der begrenzten Anzeigemöglichkeit im TOXTREE Modul (hier wird Pro-Haptene der generelle Mechanismus zugeordnet, ohne die Vorstellung der Silbe „pro“, wie dies in der Originalveröffentlichung der Fall war (Enoch et al., 2008)) gehen wir davon aus, dass es sich im Fall von Dipropylentriamin ebenfalls um ein Pro-Hapten handelt und somit um einen „pro-SB“. Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine direkt proteinreaktive, funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 9 der 18 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (8/18) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls (1/18) 1-3-Dicarbonyls|MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (9/18) Schiff base formation with aldehydes).

#### 2.2.3.4 Trimethylhexamethyldiamin (TMD) 025620-58-0

Hersteller-Einstufung: 22-34-43-52/53

Mit der CAS Nr. 25620-58-0 wird das Isomerengemisch aus 5,6-Dimethylheptan-1,6-diamin und 4-5-Dimethylheptan-1,6-diamin bezeichnet. Im Nachgang zur zweiten Begleitkreissitzung wurde von einem Hersteller der Substanz, der TMD 2010 unter REACH registriert hat, darauf aufmerksam gemacht, dass für die Registrierung die CAS Nr. 25513-64-8 für das 2,2,4- oder 2,4,4-Trimethylhexan-1,6-diamin verwendet wurde. Somit ist ein kompletter IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar. Vom Hersteller wurde mitgeteilt, dass eine Einstufung in die Kategorie 1A gemäß den Anforderungen der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 zum Endpunkt Hautsensibilisierung vorgenommen wird.

– *In vivo (Schritt B)*

Im einem Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) wurden die weiblichen Tier der Rasse Dunkin-Hartley mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,1 % der Testsubstanz (>99,7 % reines 2,2,4(oder 2,4,4)-TMD) in Wasser bzw. mit Freund-Adjuvans (FCA) oder im Falle der Kontrollgruppe nur mit dem Vehikel und Freund-Adjuvans (FCA) behandelt. Eine Woche später erfolgte eine 48-stündige Patchapplikation. Die Tiere erhielten dabei eine 10%ige Testsubstanzlösung. Die Auslösereaktion erfolgte zwei Wochen darauf in der Testgruppe, sowie der Kontrollgruppe durch Applikation (jeweils epikutan, okklusive Bedingungen) eines Patches für 24 Stunden mit 2%iger Testsubstanzlösung. Zu den Ablesezeitpunkten 24 und 48 Stunden nach der Auslöseapplikation konnte bei jeweils in 16 der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion verzeichnet werden. Zum Ablesezeitpunkt 72 h waren 8 von 20 Tieren positiv (d.h. 40 %; siehe ESR.001).

In einem weiteren GPMT mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,5 % Trimethylhexamethyldiamin in Wasser zeigten 12 der 15 getesteten Tiere eine positive Reaktion (d.h. 80 %; Thorgeirsson, 1978b; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985; siehe auch ESR.002).

Die sensibilisierende Wirkung von Trimethylhexamethyldiamin wurde ebenfalls im LLNA gemessen. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 1, 3 oder 10 % (w/w) der Testsubstanz in Aceton durchgeführt und ein EC3 von 1,9 % ermittelt (Gamer et al., 2008).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 1,6 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~158 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00282 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -2,55. Von einem Hersteller des TMDs wurden gemessene Werte für die oben genannten Parameter zur Verfügung gestellt. Der  $\log K_{OW}$  hat ein Wert von -0,3. Daraus ergibt sich unter Annahme eines Molekulargewichts von 158 g/mol ein  $\log K_P$  von -3,02.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird für die Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorgesehen (gemäß den unter 2.2.3.3 getroffenen Annahmen und den unten



genannten Metabolismusdaten, ist davon auszugehen, dass auch dieser Inhaltsstoff eher ein Pro-Hapten darstellt). Der Inhaltsstoff selbst wird sowohl vom OECD, als auch vom OASIS Modell für Proteinbindung, als nicht-proteinreaktiv charakterisiert. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators auf das Isomer 5,6-Dimethylheptan-1,6-diamin wurde im Modell „Protein binding by OASIS“ für einen der 5 potentiell möglichen Metabolite des nicht-proteinreaktiven Inhaltsstoffes eine Proteinbindung vorhergesagt ((1/5) Nitroso protein binding). Für das 4-5-Dimethylheptan-1,6-diamin-Isomer wurden insgesamt 19 Metabolite identifiziert, davon wurde für zwei der Schiffbasenmechanismus für die Proteinreaktivität vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (2/19) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (9/18) Schiff base formation with aldehydes).

### 2.2.3.5 Triethylentetramin 000112-24-3

Hersteller-Einstufung: 21-34-43-52/53

– *In vivo (Schritt B)*

Im Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,5 % Triethylentetramin in Wasser zeigten 12 der 15 getesteten Tiere eine positive Reaktion (d.h. 80 %; Thorgeirsson, 1978b; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985). In einem weiteren GPMT zeigten 14 von 19 getesteten Tieren eine Hautreaktion (d.h. 74 % positiv). Im Test betrug die intradermale Induktionsdosis 5 %, die epikutane Induktionsdosis 95 % und die Auslösedosis 50 %. Wasser wurde als Vehikel verwendet. Nach Normalisierung (Details siehe 2.2.3.1) ergab sich ein Ergebnis von 0,016 für den Härter aus der Gruppe der aliphatischen Amine (Maximum 2; Leung und Auletta, 1997).

Ein weiterer Test an Meerschweinchen wurde von Rudzki und Krajewska (1976) durchgeführt. In diesem nicht standardisierten Test wurden 10 Tiere durch insgesamt 34-maliges Aufbringen (an 6 Tagen pro Woche) von Triethylentetramin (15 % in Wasser) auf die geschorene Haut sensibilisiert. Zwei der Tiere starben unter diesem Behandlungsschema. Die Auslösebehandlung erfolgte später entweder mit 1 % Triethylentetramin oder 1 % Diethylentriamin in Wasser oder 1 % Ethylendiamin in Paraffin („yellow paraffin“). Von den 8 überlebenden und gegenüber Triethylentetramin sensibilisierten Tieren reagierten alle positiv auf die Auslösebehandlung. Wurde die Auslösebehandlung mit Diethylentriamin durchgeführt, reagierten 2 Tiere positiv und bei Ethylendiamin fand man ein Tier mit positiven Hautreaktionen.

In den Registrierungs dossiers von Pentaethylenhexamin (CAS Nr. 4067-16-7) und Polyethylenpolyamin (CAS Nr. 68131-73-7) sind folgende Daten für Triethylentetramin enthalten.

Die Ergebnisse eines weiteren GPM Tests werden berichtet. Die intradermale, sowie die topische Induktion fand dabei jeweils mit 0,5 % statt, wohingegen eine Konzentration von 2 % in destilliertem Wasser als Auslösebehandlung verwendet wurde. Am Studienende wurde bei 9 von 10 Tieren eine leichte Hautreaktion berichtet (d.h. 90 %, Testsubstanz war die freie Base; Maisey et al., 1988; siehe ESR.006 zu CAS Nr. 4067-16-7 und ESR.005 zu CAS Nr. 68131-73-7).

In einem anderen GPMT wurden die Meerschweinchen intradermal mit 5 % (v/v) Triethylentetramin in Wasser intradermal und mit 95 % epikutan induziert. Die Auslösebehandlung erfolgte epikutan unter Verwendung einer 50%igen Lösung. 11 der 19 sensibilisierten Tiere zeigten nach der Auslösebehandlung eine positive Hautreaktion (d.h. 58 %; unveröffentlichter Studienbericht von 1990; siehe ESR.005 zu CAS Nr. 4067-16-7 und ESR.003 zu CAS Nr. 68131-73-7). Sieben Tage nach der ersten Auslösebehandlung wurde eine sogenannte „Cross-Challenge“ Behandlung durchgeführt. Dabei wurden folgende, hier relevante Chemikalien (Abkürzung, Konzentration in Wasser) auf eine zuvor unbehandelte Hautstelle der gegenüber Triethylentetramin sensibilisierten Tiere aufgetragen: Ethylendiamin-UHP (EDA, 5 %; CAS Nr. 107-15-3), Diethylentriamin-HP (DETA-HP, 25 %; CAS Nr. 111-40-0), Aminoethylpiperazin (AEP; 25 %; CAS Nr. 140-31-8) und Tetraethylenpentamin (TEPA; 50 %; CAS Nr. 112-57-2). Nach Auslösebehandlung der 19 Tiere mit EDA zeigten 5 eine positive Reaktion, bei DETA-HP waren es 15 Tiere, mit AEP behandelte Tieren zeigten 9-mal eine positive Hautreaktion und bei TEPA waren es ebenfalls 9 Tiere.

Ein weiterer Studienbericht, fasst die Ergebnisse eines Meerschweinchentests nach Buehler zusammen. Hier wurden die Tiere mit einer 70%igen Lösung induziert (Vehikel 80 % Ethanol, epikutan, okklusive Bedingungen) und später eine Auslösebehandlung mit 50 % Triethylentetramin in Ethanol (89 %) durchgeführt (epikutan, okklusiv). Beim Ablesen der Hautreaktionen, 48 h nach der Auslösebehandlung, kam es bei 19 der zuvor 20 sensibilisierten Tiere zu einer positiven Hautreaktion (d.h. 95 %). Die durchschnittliche Schwere der Reaktion aller Tiere wurde mit 2,4 angegeben. In den Kontrolltieren wurden mit den verwendeten Bedingungen keine Effekte beobachtet (unveröffentlichter Studienbericht, 1993; siehe ESR.002 zu CAS Nr. 4067-16-7 und ESR.001 zu CAS Nr. 68131-73-7).

Im sogenannten „VAA (Vitamin A Acetat) Maus Test“ nach Maisey und Miller (1986) wurde ebenfalls die freie Base als Testsubstanz verwandt. In diesem Test wurden Mäusen mit Vitamin A supplementiertem Futter versorgt. Zur Sensibilisierung wurde die Prüfsubstanz 6-mal innerhalb von 11 Tagen in einer Konzentration von 10 % auf die abdominale Haut der Tiere aufgetragen. Es wurde ein Vehikelgemisch aus Ethanol, Wasser und Tween<sup>®</sup> 80 (CAS Nr. 9005-65-6) im Verhältnis 4:3:1 verwendet. Am Studientag 15 wurde die Auslösebehandlung durchgeführt (2,5 %; Applikation auf die Ohren) und nach 0, 24 bzw. 48 Stunden die Dicke der Ohren bestimmt. Der Test zeigte laut den Studienautoren ein positives Ergebnis. Bei 4 der getesteten 10 Tiere war die Dicke der Ohren im Vergleich zur maximalen Dicke bei Kontrolltieren, um mindestens 50 % erhöht (Maisey et al., 1988; siehe ESR.007 zu CAS Nr. 4067-16-7 und ESR.006 zu CAS Nr. 68131-73-7).

Daten über die dermale Absorption von Triethylentetramin sind von geringer Qualität und sehr allgemein gefasst. Ein Studienbericht aus dem Jahr 1953 (ESR.002 zu CAS Nr. 68131-73-7 und CAS Nr. 4067-16-7) ergab bei Kaninchen nach dermalen Applikation von Triethylentetramin keine akut toxischen Effekte (keine Nennung der applizierten Dosis oder anderer Details).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) ein Wert von -2,86 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~146 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_p$ ) von 0,00000323 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_p$  von -5,49.

– *In silico (Schritt D)*

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Für den zu bewertenden Inhaltsstoff wurde auf Basis der der Humanbefunde (BgVV) ein SS von 1 (d.h. bedeutendes Allergen, Kategorie A; SS: >0,5 bis 1) vergeben und ein PSS von 0,18 gefunden (d.h. Hinweis auf Kontaktallergen; Kategorie B; SS: > 0 bis 0,5).

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (wahrscheinlich „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 12 der 20 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (11/20) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls, (1/20) 1-2-Dicarbonyls|MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (12/20) Schiff base formation with aldehydes).

### 2.2.3.6 N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan 000109-55-7

Hersteller-Einstufung: 10-22-34-43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

In einer Untersuchung, deren Ziel es war, Vehikeleffekte im LLNA aufzudecken, wurde N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan in sieben unterschiedlichen Vehikeln auf sensibilisierende Eigenschaften überprüft (Vehikel: Aceton/Olivenöl (4:1, AOO); Dimethylsulphoxid (DMSO), Methylethylketon (MEK), Dimethylformamid (DMF), Propylenglykol (PG), Ethanol Wasser Gemische (50:50 und 90:10; EtOH/Wasser)).

Tabelle 7. Erzielte EC3 Werte mit unterschiedlichen Vehikeln

Vehikel	EC3 [% (v/v)]
DMF	1,7
MEK	1,8
AOO	2,2
DMSO	3,2
EtOH/Wasser (90:10)	4,1
EtOH/Wasser (50:50)	7,1
PG	> 10

(Originalarbeit von Wright et al., 2001; Teilergebnisse werden sekundär in verschiedenen Publikationen berichtet, beispielsweise Gerberick et al., 2004 a und b, 2005).

Im Registrierungs-dossier des Inhaltsstoffes sind verschiedene Untersuchungen an Meerschweinchen berichtet.

In einem GPMT wurden 15 Tiere zunächst intradermal mit N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan in Wasser (Konzentration zwischen 1-5 % (v/v), nicht näher definierten) behandelt. Nach 7 Tagen wurde die epikutane Induktion mit 1 % N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan in Wasser durchgeführt und die Auslösebehandlung erfolgte nach 21 Tagen mit 5%iger Stofflösung. 14 der 15 behandelten Tiere zeigten eine positive Reaktion zum Ablesezeitpunkt 48 h (d.h. 93 %). Obwohl ein Vorversuch durchgeführt wurde, um die maximale nicht reizend wirkende Dosis für die Auslösebehandlung zu finden, zeigte eines der 3 Tiere aus der Kontrollgruppe, die keine Induktionsdosis, wohl aber eine Auslösedosis erhielten, Hautreaktionen (Bewertungsskala: 2). Diese waren zum zweiten Ablesezeitpunkt (48 h nach Auslösebehandlung) wieder abgeklungen (unbekannte Publikation, 1984; siehe ESR.001)

In einem weiteren GPM Test erfolgte die intradermale Induktion mit 0,25 % N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan in Wasser, die epikutane Induktion nach 7 Tagen mit einer 5%igen Lösung und die epikutane Auslösebehandlung nach insgesamt 21 Tagen mit einer 1%igen Lösung. Keines der 20 behandelten Tiere zeigte unter diesem Behandlungsschema eine Hautreaktion (unveröffentlichter Studienbericht, 1986; siehe ESR.002).

Ein weiterer Studienbericht, fasst die Ergebnisse eines Meerschweinchentests nach Buehler zusammen. Hier wurden die Tiere mit einer 10%igen Lösung induziert (Vehikel 80 % Ethanol, epikutan, okklusive Bedingungen) und später eine Auslösebehandlung mit 3 % N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan in Aceton durchgeführt (epikutan, okklusiv). Da es auch bei den nicht induzierten Kontrolltieren nach der Auslösebehandlung zu Hautreaktionen kam (Reizwirkung der geprüften Substanz), wurde 8 Tage nach der ersten Auslösebehandlung eine zweite Auslösebehandlung bei allen Tieren der Kontroll- und Testgruppe, sowie 4 zuvor völlig unbehandelten Tieren, mit einer geringeren Substanzdosis durchgeführt (1 % in Aceton). Schließlich zeigten 8 der zuvor 20 sensibilisierten Tiere 48 h nach der zweiten Auslösebehandlung eine positive Hautreaktion (d.h. 40 %), wohingegen keines der 4 naiven Tiere oder der 10 Kontrolltiere eine Hautreaktion offenbarte (unveröffentlichter Studienbericht, 1992; siehe ESR.003).

– *In vitro (Schritt C)*

1. Bioverfügbarkeit

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) ein Wert von -0,45 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~102 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,000217 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -3,66.

2. Haptenisierung

Von den Entwicklern des DPRA wurden für N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan unter Verwendung eines Cystein-haltigen Polypeptids eine ca. 10%ige Peptiddepletion gemessen (10,2 %  $\pm$  3,4 SD). Wenn GSH als Substrat verwendet wurde, war eine Depletion von 2,8 % ( $\pm$  5,2 SD) zu verzeichnen und bei einem Lysin-haltigen Substrat konnte kein Peptidrückgang (-1,8 %  $\pm$  1,9 SD) ermittelt werden (Gerberick et al., 2004b).

4. Reifung und Migration DCs

Bei Untersuchungen der humanen Monozytenzelllinie THP-1 fand man im durchgeführten h-CLAT ein positives Ergebnis. Im vorliegenden Fall bedeutet dies, dass mindestens in 2 von 3 Experimenten die Oberflächenmarker CD86  $\geq$  150 % bzw. CD54  $\geq$  200 % der entsprechenden Kontrollzellen waren. Eine Aktivierung der Monozyten ist somit nachgewiesen (Nukada et al., 2011).

– *In silico (Schritt D)*

In Fedorowicz et al. (2005) werden die Ergebnisse bezüglich der sensibilisierenden Eigenschaften des Inhaltsstoffes aus zwei Softwareprodukten, sowie einer Basismethode berichtet (TOPKAT und DEREK für Windows, logistische Regressionsanalyse). TOPKAT erzielt einen Wert von 0,452 als Ergebnis des Inhaltsstoffes im GPMT. In einem Wertebereich von >0,3 bis 0,7 ist die Vorhersagekraft von TOPKAT nicht gegeben – es wird keine Bewertung des Inhaltsstoffes vorgenommen. Mit Hilfe von DEREK und der logistischen Regression können Aussagen über den Ausgang der Sensibilisierungstestung in Meerschweinchen und in Mäusen gemacht werden. Die logistische Regressionsanalyse ergibt in beiden Fällen ein positives Ergebnis (0,960 GPMT; 0,685 LLNA). In DEREK lautet das kategorisierte Ergebnis im GPMT und im LLNA „plausible“<sup>7</sup>.

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Der zu bewertende Inhaltsstoff erzielte auf Basis der verwendeten Daten im LLNA einen SS von 0,5 (d.h. Kategorie moderat; SS >0,25 bis 0,5; Daten aus Gerberick et al., 2005). Vom Modell vorhergesagt wurde ein PSS („predicted SS“) von 0,62 (d.h. Kategorie Sensibilisierend; SS > 0,5 bis 0,625).

---

<sup>7</sup> The weight of evidence supports the proposition.

Die vorläufige Wirkstärkenbewertung durch die Firma MOLCODE, auf Basis der ermittelten QSAR-Ergebnisse (QMRF: Q17-10-1-241; Endpunkt LNA Score Index) stufte den Inhaltsstoff, als einzigen der 5 bewerteten, in die mittlere Wirkkategorie ein („moderate“). Für die Substanz liegt der numerische Wert des LLNA Score Index bei 0,47, d.h. am oberen Ende der Skala für diese Kategorie (Grenze für Kategorie „strong“: >0,5). Die Ergebnisse wurden aufgrund des eigentlich kostenpflichtigen Service nicht detaillierter beschrieben (persönliche Kommunikation mit PhD Eneli Härk, REACH and Regulative Affairs, MOLCODE))

Die vorliegende Substanz war im Trainingsset der Entwicklung der SMARTS Muster enthalten (Enoch et al., 2008). Die hier genannte Reaktionsdomäne war ein Pro-Schiffbasenbildner (d.h. die Reaktivitätsdomäne wurde bereits durch Experten bestätigt; „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). In TOXTREE, mit den implementierten SMARTs Rastern, wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen. Mit dem Wissen der begrenzten Anzeigemöglichkeit im TOXTREE Modul (hier wird Pro-Haptene der generelle Mechanismus zugeordnet, ohne die Vorstellung der Silbe „pro“ wie dies in der Originalveröffentlichung der Fall war) gehen wir davon aus, dass es sich bei N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan um das besagte Pro-Hapten handelt. Die, in der OECD Toolbox enthaltenen, Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 3 der 14 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (3/14) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (3/14) Schiff base formation with aldehydes).

### **2.2.3.7 Tetraethylenpentamin 000112-57-2**

Hersteller-Einstufung: 21/22-34-43-51/53

– *In vivo (Schritt B)*

Im Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,5 % Tetraethylenpentamin in Wasser zeigten 11 der 15 getesteten Tiere eine positive Reaktion (d.h. 73 %; Thorgeirsson, 1978b; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985). In einem weiteren GPMT zeigte eines der 18 getesteten Tieren eine Hautreaktion (d.h. 5 % positiv). Im Test betrug die intradermale Induktionsdosis 5 %, die epikutane Induktionsdosis 60 % und die Auslösedosis 50 %. Wasser wurde als Vehikel verwendet. Nach Normalisierung (Details siehe 2.2.3.1) ergab sich ein Ergebnis von 0,002 für den Härter aus der Gruppe der aliphatischen Amine (Maximum 2; Leung und Auletta, 1997). In beiden Untersuchungen wurden Meerschweinchen der Rasse Dunkin Hartley verwendet.

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von -3,16 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~189 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des

Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von  $7,6 \cdot 10^{-7}$  cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -6,12.

– *In silico (Schritt D)*

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Für den zu bewertende Inhaltsstoff wurde auf Basis der Humanbefunde (BgVV) ein SS von 0,5 (d.h. Hinweis auf Allergen, Kategorie B; SS: >0 bis 0,5) vergeben und ein PSS von 0,56 (d.h. bedeutendes Allergen; Kategorie A; SS: > 0,5 bis 1) gefunden.

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Auch nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurden keine proteinreaktiven Metabolite identifiziert.

### 2.2.3.8 Pentaethylenhexamin 004067-16-7

Hersteller-Einstufung: 34-43-50/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

Im Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) mit einer intradermalen Induktionsdosis von 5 % Pentaethylenhexamin in Wasser zeigten 19 der 19 getesteten Tiere eine positive Reaktion (d.h. 100 % positiv). Im Test betrug die epikutane Induktionsdosis, sowie die Auslösedosis 100 %. Wasser wurde immer als Vehikel verwendet. Nach Normalisierung (Details siehe 2.2.3.1) ergab sich ein Ergebnis von 0,01 für den Härter aus der Gruppe der aliphatischen Amine (Maximum 2; Leung und Auletta, 1997; siehe ESR.001).

Alle weiteren im Registrierungsdossier aufgeführten Daten zur Sensibilisierung und zur dermalen Absorption beziehen sich auf Triethylentetramin und sind dort im Detail dargestellt (6+1 ESR; siehe 2.2.3.5).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von -3,67 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~232 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von  $1,8 \cdot 10^{-7}$  cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -6,74.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Und auch nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurden keine proteinreaktiven Metabolite identifiziert.

### **2.2.3.9 Polyethylenpolyamin 068131-73-7**

Hersteller-Einstufung: 21/22-34-43-50/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

Daten über dermale Absorption im Registrierungsdossier sind von geringer Qualität und beinhalten nur die folgenden allgemeinen Aussagen: wurde Kaninchen der Inhaltsstoff dermal appliziert (maximale Dosis 2000 mg/kg), so zeigten sie unspezifische akut toxische Effekte. Diese waren innerhalb kurzer Zeit reversibel. Die Studienautoren sprechen von einer geringen dermalen Aufnahme (ESR.001 von 1983).

Alle weiteren im Registrierungsdossier aufgeführten Daten zur Sensibilisierung und zur dermalen Absorption beziehen sich auf Triethylentetramin und sind dort im Detail dargestellt (6+1 ESR; siehe 2.2.3.5).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurden für diese CAS-Nr. dieselben Annahmen wie für das Pentaethylenhexamin getroffen, dementsprechend wurden ebenfalls gleiche Ergebnisse erzielt. Für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) wurde ein Wert von -3,67 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~232 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_p$ ) von  $1,8 \cdot 10^{-7}$  cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_p$  von -6,74.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Und auch nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurden keine proteinreaktiven Metabolite identifiziert.



### 2.2.3.10 Polyethylenamin 026336-38-9

Hersteller-Einstufung: 21/22-34-43-50/53

- *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

- *In vitro (Schritt C)*

Keine Information verfügbar.

- *In silico (Schritt D)*

Für die Substanzbewertung stand nur die chemische Struktur des Monomers (CAS Nr. 593-67-9) zur Verfügung. Unter Verwendung dieser Struktur wurde weder in TOXTREE, noch in der OECD Toolbox (Modell der OECD und von OASIS) eine mögliche Proteinreaktivität des zu bewertenden Inhaltsstoffes gefunden. Für das Monomer wurde nach der Anwendung des Metabolismus-Simulators ein proteinreaktiver Metabolit identifiziert (Modell: „Protein binding by OASIS“ (1/2) Protein alkylation by active cyclic agents). Nach Bewertung der Polymerstruktur ist eine Bildung des gefundenen proteinreaktiven Metaboliten (Oxiran-2-Amin) *in vivo* nicht wahrscheinlich, die Proteinreaktivität daher insgesamt sehr gering ausgeprägt.

## 2.2.4 Härter, cycloaliphatische Polyamine:

### 2.2.4.1 4,4'-Diaminocyclohexylmethan 001761-71-3

Hersteller-Einstufung: 22-35-43-51/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

- *In vivo (Schritt B)*

In einem Studienbericht von 1985 (unveröffentlicht, siehe ESR.002) werden Ergebnisse eines Sensibilisierungstests an Meerschweinchen berichtet. 10 Tieren wurde dazu 9-mal innerhalb von 3 Wochen die Prüfsubstanz in einer Lösung aus Aceton/Dioxan (1:1) und mit 13 % Meerschweinchenfett auf die vorgeschädigte Haut appliziert (keine Angabe der verwendeten Testmaterialkonzentration; Vehikel wurde fettreich gewählt, um eine möglichst maximale Absorption zu gewährleisten). Nach einer zweiwöchigen Ruhephase wurde eine epikutane Auslösebehandlung mit 2 % der Prüfsubstanz im oben genannten Vehikel durchgeführt (pro Tier zwei Applikationen jeweils einmal auf intakte und einmal auf vorgeschädigte Haut). 24 h nach der Auslösebehandlung wurde bei 7 der 10 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion festgestellt (der Schweregrad der positiven Reaktion wurde nicht weiter beschrieben).

Kennedy (1991) behandelte 10 männliche Meerschweinchen einmalig topisch mit einer 25%igen Paste aus 4,4'-Diaminocyclohexylmethan und einer hydrophilen Creme („USP Hydrophilic ointment“; enthält SDS). Anschließend wurden 5 dieser 10 Tiere 9-mal innerhalb von 3 Wochen mit derselben Paste topisch behandelt. Den weiteren 5 Tieren wurde im selben Zeitraum 4-mal intradermal 0,1 ml von 5 % 4,4'-Diaminocyclohexylmethan in Methanol/Ethylenglykol (15:85) injiziert. Nach einer

zweiwöchigen Ruhephase wurden alle Tiere mit einer 2%igen und einer 10%igen Paste epikutan auf die intakte bzw. vorgeschädigte Haut behandelt. Die Hautreaktionen wurden nach 24 h evaluiert. Bei 4 der 5 Tiere, deren Sensibilisierung durch die topische Substanzapplikation ausgelöst wurde, zeigten sich leichte bis mittlere Hautreaktionen (bei 2%iger (2/5) oder 10%iger (2/5) Auslösebehandlung auf intakter Haut). Intradermal sensibilisierte Tiere zeigten in allen Fällen (5/5), in denen die Auslösebehandlung mit der 10%igen Paste vollzogen worden war, positive Hautreaktionen leichten bis mittleren Grades (intakte Haut; siehe ESR.003).

Die Testergebnisse eines sogenannten „Back painting test“ an Meerschweinchen wurden als „nicht eindeutig“ bezeichnet und wurden nicht näher ausgeführt. Aus diesem Grund wird auf die detaillierte Beschreibung des Versuchsaufbaus verzichtet (unveröffentlichter Studienbericht, 1956; siehe ESR.001).

- *In vitro* (Schritt C)
- In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 3,26 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~210 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0206 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von 1,69. Von einem Hersteller des Inhaltsstoffes wurden gemessene Werte für die oben genannten Parameter zur Verfügung gestellt. Der  $\log K_{OW}$  hat ein Wert von 2,03. Daraus ergibt sich unter Annahme eines Molekulargewichts von 210 g/mol ein  $\log K_P$  von -2,56. *In silico* (Schritt D)

Weder in TOXTREE, noch in den Proteinbindungsmodellen der OECD Toolbox wurden proteinreaktive Strukturen des Inhaltsstoffes identifiziert, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Bei Anwendung des Metabolismus-Simulators wurden zwar drei mögliche Metabolite identifiziert, die jedoch ebenfalls nicht als proteinreaktiv eingestuft wurden.

#### **2.2.4.2 Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methane 136210-32-7**

Hersteller-Einstufung: 43-52/53

- *In vivo* (Schritt B)

Keine Information verfügbar.

- *In vitro* (Schritt C)

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 5,99 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~583 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00956 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -2,02.

- *In silico* (Schritt D)

Weder in TOXTREE, noch in der OECD Toolbox wurde für den Inhaltstoff eine Proteinreaktivität vorhergesagt. Nach der Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde für 7 der 39 möglichen Metabolite des nicht-proteinreaktiven Inhaltsstoffes

vom Modell: „Protein binding by OASIS“ eine Möglichkeit zur Proteinbindung identifiziert ((7/39) Nucleophilic addition to ketones).

#### **2.2.4.3 N-Aminoethylpiperazin, 2-Piperazin-1-ylamin 000140-31-8**

Hersteller-Einstufung: 21/22-34-43-52/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

Im Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,5 % N-Aminoethylpiperazin in Wasser zeigten alle der 15 getesteten Tiere eine positive Reaktion (Thorgeirsson, 1978b; siehe ESR.002, ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985). In einem weiteren GPMT zeigten 5 von 20 getesteten Tieren eine Hautreaktion (d.h. 40 % positiv). Im Test betrug die intradermale Induktionsdosis 5 %, die epikutane Induktionsdosis 50 % und die Auslösedosis 25 %. Wasser wurde als Vehikel verwendet. Nach Normalisierung (Details siehe 2.2.3.1) ergab sich ein Ergebnis von 0,02 für den getesteten Härter (Maximum 2; Leung und Auletta, 1997; siehe ESR.001).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) ein Wert von -1,57 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~130 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0000239 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -4,62.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 5 der 12 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (4/12) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Monocarbonyls, (1/12) 1-2-Dicarbonyls|MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (5/12) Schiff base formation with aldehydes).

#### **2.2.4.4 Isophorondiamin (IPD), 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamin 002855-13-2**

Hersteller-Einstufung: 21/22-34-43-52/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar. Von einem Hersteller wurde mitgeteilt, dass Ende 2012 eine Einstufung in

die Kategorie 1A gemäß den Anforderungen der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 zum Endpunkt Hautsensibilisierung vorgenommen wird.

– *In vivo (Schritt B)*

Im Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,5 % Isophorondiamin in Aceton zeigten 15 der 15 getesteten Tiere eine positive Reaktion (Thorgeirsson, 1978b; siehe ESR.005, ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985).

In einem weiteren GPM Test wurden die Tiere zunächst mit einer intradermalen Induktionsdosis von 0,1 % Isophorondiamin in 10%igem Ethanol behandelt. Anschließend wurde eine epikutane Induktion mit einer 7,5%igen Lösung unter okklusiven Bedingungen durchgeführt und die Auslösebehandlung erfolgte nach einer zweiwöchigen Ruhephase mit 2,5 % und 5 % Isophorondiamin. Bei einer Auslösekonzentration von 2,5 % zeigten 24 h nach der Auslösebehandlung 7/20 Tieren positive Hautreaktionen, nach 48 h waren es 5/20 Tieren und zum letzten Ablesezeitpunkt (72 h) 2/20. Mit der höheren Auslösedosis (5 %) wurden 18/20 Tiere positiv 24 h nach der Behandlung bewertet. Bei 48 h waren es 15/20 und nach 72 h 10/20 Tiere. Keines der 9 Kontrolltiere wurde positiv bewertet. Es bleibt anzumerken, dass es nach der intradermalen Induktion hauptsächlich bei den Tieren, die mit Isophorondiamin behandelt worden waren, zu schlecht heilenden, nekrotischen Entzündungserscheinungen kam. Nach der 48stündigen Patchapplikation bluteten die Tiere und an den Injektionsstellen sonderte sich entzündetes Material ab. Die Tiere zeigten generell stark entzündliche Prozesse. Nach der Auslösebehandlung bildeten sich dicke Ablagerungen und die Haut trocknete aus (unveröffentlichter Studienbericht, 1983; siehe ESR.001).

Ein unveröffentlichter Studienbericht von 1981 (siehe ESR.004) fasst die Ergebnisse eines anderen GPMT zusammen. Hier wurden 20 Meerschweinchen mit 1 % Isophorondiamin intradermal und anschließend mit 1 % epikutan unter okklusiven Bedingungen sensibilisiert. Die Auslösebehandlung erfolgte mit 5 und 10 % der Prüfsubstanz. Das verwendete Vehikel war immer Wasser. Es kam weder in den Kontrolltieren, noch in den sensibilisierten Tieren, die nur mit 5 % Isophorondiamin behandelt worden waren, zu sichtbaren Hautreaktionen. Bei den Tieren, die eine 10%ige Auslösedosis erhielten, zeigte sich in 12 der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion (d.h. 60 %; unveröffentlichter Studienbericht, 1981; siehe ESR.004).

Die sensibilisierende Wirkung von Isophorondiamin wurde ebenfalls im LLNA gemessen. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 0,3; 1 oder 3 % (w/w) der Testsubstanz in Aceton durchgeführt und ein EC3 von 1,0 % ermittelt (Gamer et al., 2008).

Folgende Studienberichte werden der Vollständigkeit halber erwähnt, sind jedoch aufgrund ihrer mangelhaften Detailtiefe nicht relevant für die Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke von Isophorondiamin.

10 Tiere wurden ähnlich dem GPM Testverfahren zunächst intradermal (Konzentration unbekannt) behandelt. Es folgte die Auslösebehandlung mit 0,1 % in Propylenglykol. Keines der Tiere zeigte anschließend eine positive Hautreaktion (unveröffentlichter Studienbericht, 1987; ESR.002).

In einem weiteren Studienbericht wird angegeben, dass alle Tiere, die mit einer nicht näher definierten Konzentration gemäß dem Schema des GPMT behandelt wurden, eine positive Hautreaktion aufwiesen (Fregert, 1977; siehe ESR.003).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 1,9 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~170 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00391 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -2,41. Von einem Hersteller des IPDs wurden gemessene Werte für die oben genannten Parameter zur Verfügung gestellt. Der  $\log K_{OW}$  hat ein Wert von 0,99. Daraus ergibt sich unter Annahme eines Molekulargewichts von 170 g/mol ein  $\log K_P$  von -3,05.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 3 der 14 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (3/14) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Monocarbonyls; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (3/14) Schiff base formation with aldehydes).

#### **2.2.4.5 3-Cyclohexylaminopropylamin 003312-60-5**

Hersteller-Einstufung: 22-35-43

– *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 1,61 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~156 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00294 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -2,53.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 7 der 32 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus

vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (6/32) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls, (1/32) 1-3-Dicarbonyls|MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (7/32) Schiff base formation with aldehydes).

#### **2.2.4.6 1,2-Diaminocyclohexan (DCH) 000694-83-7**

Hersteller-Einstufung: 34-43

– *In vivo (Schritt B)*

In einer nicht-standardisierten Industrieuntersuchung, um die sensibilisierenden Eigenschaften von 1,2-Diaminocyclohexan zu testen, wurden 10 Meerschweinchen als Versuchstiere verwendet. Die männlichen und weiblichen Tiere (Rasse Dunkin Hartley) wurden zunächst entweder mit einer 5 oder 10%igen Emulsion der Testsubstanz in Wasser epikutan behandelt (zusätzlich 5 Kontrolltiere, nur Vehikel exponiert). Zwei Tage später wurde die Induktionsserie gestartet, d.h. es wurden 4 intradermale Injektionen (je einmal pro Woche) à 0,1 ml mit einer 1%igen Emulsion der Prüfsubstanz in Kochsalzlösung verabreicht. Nach einer zweiwöchigen Ruhephase wurde den Tieren auf die intakte Haut an unterschiedlichen Stellen in der Schulterregion dermal eine 1 bzw. 10%ige Substanzemulsion appliziert. Nach 24 und 48 h wurden die Hautreaktionen beurteilt. Da es zu diesen Zeitpunkten ebenfalls bei den nicht sensibilisierten Kontrolltieren zu leichten Hautreaktionen kam, wurde die Auslösebehandlung eine Woche später wiederholt. Nach der ersten Auslösebehandlung zeigten 8 der Tiere, die mit 10%iger Emulsion sensibilisiert worden waren, leichte bis mittelgradige Hautreaktionen. Bei der Ablesung nach der wiederholten Auslösebehandlung wurden 6 der Tiere, die zuvor mit nur 1%iger Emulsion induziert worden waren, als positiv im Test vermerkt (Kennedy, 2007).

Die sensibilisierende Wirkung von 1,2-Diaminocyclohexan wurde auch im LLNA gemessen. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 0,1, 0,3 oder 1 % (w/w) der Testsubstanz in Aceton durchgeführt und ein EC<sub>3</sub> von 0,4 % ermittelt (EC<sub>1,5</sub> = 0,6). In einer zweiten, unabhängigen Testung in Aceton mit 0,3, 1, oder 3 % der Prüfsubstanz in Aceton wurde ein EC<sub>1,5</sub> von 0,89 bestimmt. Wurde anstelle von Aceton jedoch Aceton/Olivenöl verwendet, so wurde ein Stimulationsindex von 1,5 nicht überschritten (Gamer et al., 2008).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log K<sub>OW</sub>) ein Wert von 0,09 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~114 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten (K<sub>P</sub>) von 0,000441 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log K<sub>P</sub> von -3,35.

– *In silico (Schritt D)*

Für diesen Inhaltsstoff wurde weder in TOXTREE, noch in der OECD Toolbox eine Struktur ermittelt, die auf die bekannten Proteinreaktivitätsdomänen hinweist. Daraufhin wurde der in der Toolbox enthaltene Metabolismus-Simulator angewandt. Es wurden 9 potentielle Metabolite identifiziert. Das Toolbox Modell „Protein binding

by OASIS“ besagt weiterhin, dass für 2 dieser 9 Metabolite des nicht-proteinreaktiven Inhaltsstoffes die Reaktivitätsdomäne „Nucleophilic cycloaddition to diketones“ gilt und laut dem Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite wird der Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (1-2-Dicarbonyls|MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers).

## 2.2.5 Härter, sonstige

### 2.2.5.1 N-cyanethyliertes Trimethylhexamethyldiamin 093941-62-9

Hersteller-Einstufung: 22-34-43

- *In vivo* (Schritt B)

Keine Information verfügbar.

- *In vitro* (Schritt C)

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 1,61 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~211 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00137 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -2,86.

- *In silico* (Schritt D)

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für insgesamt 2 der 12 möglichen Metabolite eine Proteinreaktivität bestätigt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (1/12) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (1/12) Schiff base formation with aldehydes, (1/12) Nitroso protein binding).

### 2.2.5.2 m-Xylidendiamin (MXDA) 001477-55-0

Hersteller-Einstufung: 20/22-34-43-52/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

- *In vivo* (Schritt B)

15 Meerschweinchen (10 Tiere in Testgruppe, 5 Kontrolltiere) wurden gemäß dem GPM Testschema behandelt. Die intradermale Induktionsdosis betrug 0,1 % m-Xylidendiamin, die topische Induktion erfolgte mit 10 % und die Dosis der topischen Auslösebehandlung betrug 1 % und 2 % (höchste nicht reizend wirkende Dosis). Das verwendete Vehikel war jeweils Wasser. 24 und 48 h nach Beendigung der Auslösebehandlung wurden die Hautreaktionen beurteilt. An den Stellen, die mit 1 %

behandelt wurden, konnten nach 24 h an 5 der 10 Tiere Hautreaktionen festgestellt werden, nach 48 h waren noch 4 von 10 Tieren positiv zu beurteilen. Die 2%ige Auslösebehandlung führte nach 24 h bei 7 der 10 Tiere (d.h. 70 %) zu Hautveränderungen, nach 24 h waren diese noch bei 5 von 10 Meerschweinchen zu sehen. Keines der Kontrolltiere zeigte eine Hautreaktion (unveröffentlichter Studienbericht, 1988; siehe ESR.002).

In einem weiteren GPM Test wurden die Tiere mit höheren Substanzkonzentrationen behandelt. Beim Vorversuch der Studie wurde die maximale nicht reizende Dosis mit 5 % der Testsubstanz in destilliertem Wasser bestimmt. Die minimal reizend wirkende Dosis wurde mit 10 % angegeben. Die Meerschweinchen erhielten zunächst eine intradermale Induktionsdosis (nicht näher bezeichnet), gefolgt von einer topischen Induktion (Tag 7; 20%ige Lösung) und einer topischen Auslösebehandlung mit 5 % m-Xylidendiamin (Tag 21). Diese Auslösebehandlung wurde an Tag 28 wiederholt. Das verwendete Vehikel war immer destilliertes Wasser. Die Hautreaktionen wurden jeweils 24, 48 und 72 h nach Beendigung der Auslösebehandlung abgelesen. Nach der ersten Auslösebehandlung waren zu allen Zeitpunkten alle der sensibilisierten 12 Tiere positiv. Nach der zweiten Auslösebehandlung zeigten nach 24 h 8 der 12 Tiere eine Hautreaktion, zum Zeitpunkt 48 h waren es 4 und nach 72 h war es eines der 12 Tiere. Die Kontrolltiere zeigten bis auf ein Tier nach der zweiten Auslösebehandlung keine Hautreaktionen ausgelöst durch m-Xylidendiamin (unveröffentlichter Studienbericht, 1981; siehe ESR.003).

In einem weiteren Test (einem Testprotokoll ähnlich dem Buehler, jedoch mehr Patchapplikationen in der Induktionsphase) wurden 10 Hartley Meerschweinchen mit 5 % m-Xylidendiamin in Wasser 9-mal innerhalb von 3 Wochen topisch behandelt (jeweils für 6 h unter okklusive Bedingungen). Nach der 8. und 9. Induktionsbehandlung wurde bei allen Tieren der Testgruppe eine Rötung und Schwellung an den entsprechenden Hautpartien berichtet (Reizwirkung der Prüfsubstanz). Nach einer zweiwöchigen Ruhephase wurde eine epikutane Auslösebehandlung mit 2 und 5%iger Lösung durchgeführt. Es zeigte sich nur in einem der 10 behandelten Tiere eine Hautreaktion nach 24 h (unveröffentlichter Studienbericht, 1973; siehe ESR.004).

Die sensibilisierende Wirkung von m-Xylidendiamin wurde ebenfalls im LLNA gemessen. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 0,3; 1 oder 3 % (w/w) der Testsubstanz in Aceton durchgeführt und ein EC3 von 0,4 % ermittelt (Gamer et al., 2008).

In einem unveröffentlichten Studienbericht aus dem Jahr 2004 (ESR.001) werden die Ergebnisse eines Standard LLNA zusammengefasst. Die jeweils 4 Mäuse einer Gruppe wurden entweder mit 2,5; 5 oder 10 % m-Xylidendiamin in Dimethylformamid behandelt (nachdem aus einem Vorversuch mit 25 und 10 % bekannt war, dass 25 % zu extensivem Leiden der Tiere führte). Im Test wurde mit der niedrigsten Konzentration die Schwelle einer dreifachen Induktion der Anzahl proliferierender T-Zellen im Vergleich zu den Kontrolltieren nicht erreicht (d.h.  $SI < 3$ ). Mit den beiden höheren Testkonzentrationen wurde diese Induktionsgrenze überschritten (d.h.  $SI > 3$ ). Ein EC3 Wert wurde von den Autoren nicht ausgewiesen und kann im



vorliegenden Bericht nicht interpoliert werden, da die genauen Stimulationsindices nicht genannt wurden. Der EC3 Wert liegt jedoch im Bereich zwischen 2,5 und 5 %.

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 0,15 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~136 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,000336 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -3,5.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (auf Basis der in der Toolbox identifizierten Metabolite eher „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). In der OECD-Toolbox konnte keine funktionelle Gruppe ermittelt werden, die auf die bekannten Proteinreaktivitätsdomänen hinweist. Daraufhin wurde der in der Toolbox enthaltene Metabolismus-Simulator angewandt, aber auch die 12 identifizierten Metabolite werden von den Proteinbindungsmodellen der OECD und von OASIS als nicht-proteinreaktiv eingestuft.

### **2.2.5.3 m-Xylylendiamin/Acrylonitril Adduct 73050-11-0**

Hersteller-Einstufung: 20/21/22-43

– *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

– *In vitro (Schritt C)*

Keine Information verfügbar.

– *In silico (Schritt D)*

Keine Information verfügbar.

### **2.2.5.4 N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan 001760-24-3**

Hersteller-Einstufung: 38-41-43-52/53

– *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von -1,67 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~222 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00000543 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -5,3.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 6 der 20 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (5/20) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls, (1/20) |MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (6/20) Schiff base formation with aldehydes).

### **2.2.5.5 Polyoxyalkylenamin, 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan 002997-01-5**

Hersteller-Einstufung: 21-34-43

– *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) ein Wert von -1,18 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~176 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0000231 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -4,63.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils 4 der 12 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (4/12) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (4/12) Schiff base formation with aldehydes). Für der 2 der 12 Metabolite wird durch das OASIS Modell noch ein weiterer Mechanismus bestimmt „Peroxide free radical decomposition“.

## 2.2.6 Säureanhydride

### 2.2.6.1 Phthalsäureanhydrid 000085-44-9

Hersteller-Einstufung: 22-37/38-41-42/43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

#### – *In vivo (Schritt B)*

In einem LLNA wurden die Mäuse vor Behandlung mit der Testchemikalie mit 1 % SDS in Aceton/Olivenöl (4:1; AOO) vorbehandelt. Diese Konzentration bewirkt kein positives Ergebnis im LLNA, erhöht jedoch die Sensibilität der Tiere und verstärkt somit das Testergebnis einer zu untersuchenden Chemikalie. Phthalsäureanhydrid wurde ebenfalls im Vehikel AOO (4:1) gelöst und in Konzentrationen von 0,25; 1; 2,5; 10 oder 25 % auf die Haut der Tiere aufgetragen. Unter den gegebenen Bedingungen wurde ein EC3 von 0,357 % ermittelt (van Och et al., 2000; siehe ESR.002).

Phthalsäureanhydrid war Gegenstand in weiteren Tests an Mäusen (LLNA). So wurden beispielsweise die Tiere bei Dearman et al. (2000) mit Konzentrationen von 0,1; 0,25; 0,5; 1 oder 2,5 % (w/v) in AAO (4:1) behandelt. Ab einer Konzentration von 0,25 % wurde dabei der Schwellenwert der dreifachen Lymphozytenproliferation (SI > 3) überschritten. Der ermittelte EC3 Wert liegt bei 0,16% ((w/v); das erwähnte Ergebnis wird auch von Gerberick et al., 2004b und Natsch et al., 2009 verwendet).

In einem weiteren LLNA wurden die zu untersuchenden Tiere mit 2,5; 5 oder 10 % des Testmaterials in AOO (4:1) behandelt. Bei Prüfung mit 2,5 % lag zwischen der Proliferation von Test- zu Kontrolllymphozyten ein Verhältnis von 73 vor (SI = 73). Es konnte keine konzentrations-abhängige Zunahme beobachtet werden, da bei 5 % ein SI von 38,5 lag und bei 10 % ein SI von 41 bestimmt wurde. Ein EC3 wurde nicht berechnet, liegt aber nach den vorgelegten Testergebnissen unter 2,5% (Kimber et al., 1989; siehe ESR.006).

Die Mäuse eines anderen Tests wurden, wie oben genannt, behandelt (LLNA mit 2,5, 5 oder 10 % in AOO (4:1)). Bereits ab der niedrigsten getesteten Konzentration lag das Verhältnis der Proliferation von Test zu Kontrolllymphozyten bei 26. Es konnte jedoch keine konzentrations-abhängige Steigerung dieses Wertes gesehen werden (SI bei 5 %: 21,5; SI bei 10 %: 20,9). Ein EC3 wurde nicht berechnet, liegt aber nach den vorgelegten Testergebnissen unter 2,5% (Basketter und Scholes, 1992; siehe ESR.003).

In derselben Publikation werden zudem die Ergebnisse eines vergleichend durchgeführten Tests an Meerschweinchen beschrieben. Die Tiere wurden gemäß dem GPMT Schema behandelt. Die intradermale Induktion erfolgte mit 0,1 % des Testmaterials. Nach 6 bis 8 Tagen erfolgte die epikutane Substanzapplikation mit 25%iger Lösung für 48 h unter okklusiven Bedingungen. Nach zweiwöchiger Ruhephase folgte die Auslösebehandlung mit 10%iger Lösung. Das Vehikel war immer Aceton/Polyethylenglykol (70:30 v/v). 90 % der behandelten Tiere zeigten anschließend eine positive Hautreaktion (Basketter und Scholes, 1992; siehe ESR.001)

In einem nicht weiter beschriebenen Standard GPM Test wurde Phthalsäureanhydrid als stark sensibilisierender Inhaltsstoff bezeichnet (Cronin und Basketter, 1994).

In einem Test gemäß dem Standardverfahren nach Buehler wurden die Tiere 3-mal mit 20 % Phthalsäureanhydrid gelöst in Aceton behandelt. Die Auslösebehandlung erfolgte ebenfalls mit 20 %. 85 % der Tiere zeigten eine positive Reaktion. In derselben Publikation wurde die Sensitivität eines erweiterten Applikationsschemas überprüft. Insgesamt wurden die Tiere innerhalb von 17 Tagen 9-mal mit der Testsubstanz behandelt (die ersten 4 Patchbehandlungen mit 20 %; weitere 5 Patchbehandlungen nur mit 10 %, da die Substanz starke Hautreaktionen hervorrief). Unter den gegebenen Bedingungen war bei 65 % der Tieren in der Behandlungsgruppe zum Ende der Studie eine positive Hautreaktion zu verzeichnen. Bei 2 Kontrolltieren wurden aufgrund der bekannten Reizwirkung der Substanz ebenfalls Erytheme beobachtet. Auf Basis des großen Abstandes zwischen dem Wert der Kontrollgruppe und den erzielten Ergebnissen in Tieren der Behandlungsgruppen wird deutlich, dass es sich bei der Prüfsubstanz um ein sensibilisierendes Agens handelt (Botham et al., 2005).

Gad (1988) berichtet die Ergebnisse eines Sensibilisierungstests an Mäusen, die nach dem Buehler Schema behandelt wurden. Die Induktionskonzentration betrug 20 % (w/v) in Aceton. So behandelt zeigten 78 % der Tiere eine positive Hautreaktion. Die Ergebnisse wurden verwendet, um einen Index für die sensibilisierende Wirkstärke des Inhaltsstoffes zu berechnen. Die folgende Formel wurde dabei verwendet:

Wirkstärkenindex (PI) =  $\log [1000 * (\text{Probit der positiven Inzidenz}) / (\text{Testkonzentration}) * (\text{Molekulargewicht})]$

Mit den vorliegenden Ergebnissen wurde ein PI von 2,29 errechnet. Dieser PI ist in der Publikation gleichbedeutend mit einer Einstufung in die Kategorie der moderat sensibilisierenden Substanzen (Einstufung: Klasse 1 (extrem):  $PI > 4$ ; Klasse 2 (stark):  $4 > PI > 3$ ; Klasse 3 (moderat):  $3 > PI > 2$ ; Klasse 4 (mild):  $2 > PI > 1$ ; Klasse 5 (schwach oder fraglich):  $1 > PI > 0$ ; siehe ESR.009).

In einem MEST wurden die Tiere mit einer 10%igen Lösung in Aceton (Konzentration zur Induktion, sowie zur Auslösebehandlung; jeweils epikutan unter nicht-okklusiven Bedingungen, Auswahl der Testkonzentration basiert auf der Substanzlöslichkeit im Vehikel) getestet. In der Veröffentlichung wird aufgeführt, dass 10 % der Tiere eine hautsensibilisierende Hautreaktion aufweisen. Die Ohrdicke betrug im Vergleich zur Kontrolle (d.h. 100 %) 105 %. Wurde anstelle der offenen Induktionsbehandlung ein Applikationsschema mit 3-maliger okklusiver Patchbehandlung innerhalb von einer Woche zur Induktion gewählt (5 % in Propylenglykol) so wurden 29 % der Tiere als positiv bewertet (Gad et al., 1986; siehe ESR.007). In der zuvor beschriebenen Publikation derselben Autorengruppe (Gad, 1988) wurden anhand dieser Ergebnisse ein Index für die sensibilisierende Wirkstärke von 2,4 für Phthalsäureanhydrid berechnet. Dies entspricht wiederum einer Einordnung in die Klasse 3 der Wirkstärkekategorien (moderat sensibilisierend), die von den Studienautoren definiert wurden.

Folgende Studienberichte werden der Vollständigkeit halber erwähnt, sind jedoch aufgrund ihrer mangelhaften Studienqualität nicht relevant für die Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke von Phthalsäureanhydrid.

In einem sogenannten Intrakutantest wurden Meerschweinchen mit 0,05 ml einer 1%igen Testlösung (Phthalsäureanhydrid wurde zunächst in Dioxan und dann in Olivenöl gelöst) intradermal über 2 bis 2,5 Wochen behandelt. Im Test wurde für Phthalsäureanhydrid eine sensibilisierende Eigenschaft bestätigt (Jacobs et al., 1940; siehe ESR.004).

Eine weitere Publikation bestimmte die Lymphknotengewichte von Mäusen nach Behandlung mit 15%iger Lösung in AOO (4:1). Das Ergebnis zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Kontrolltieren und den substanzbehandelten Tieren. Phthalsäureanhydrid wird als sensibilisierend eingeordnet (Hayashi et al., 2001; siehe ESR.012).

– *In vitro* (Schritt C)

### 1. Bioverfügbarkeit

Aus EPI Suite™ wurde ein experimentelles Ergebnis für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{O/W}$ ) von 1,6 entnommen. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~148 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00325 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -2,48.

### 2. Haptenisierung

Von den Entwicklern des DPRA wurden für Phthalsäureanhydrid unter Verwendung eines Lysin-haltigen Polypeptids eine 75%ige Peptiddepletion gemessen ( $\pm 3,9$  SD). Wenn GSH als Substrat verwendet wurde, konnte sogar eine Depletion von 100 % ( $\pm 0$  SD) gefunden werden. Bei einem Cystein-haltigen Substrat konnte jedoch kein Peptidrückgang festgehalten werden (-1,9 %  $\pm 1,0$  SD; Gerberick et al., 2004b; Ergebnisse auch in Gerberick et al., 2007 und Natsch et al., 2009 verwendet).

In der Publikation von Bauch et al. (2011) wurde der optimierte DPRA angewandt und Phthalsäureanhydrid als positiv eingestuft. In der Publikation bedeutet dies, dass die mittlere Depletion beider getesteten Peptide (Lysin und Cystein) > 6,4 % beträgt. In einer Nachfolgepublikation der selben Autorengruppe (Bauch et al., 2012) wurden die Ergebnisse differenzierter berichtet. Im Versuch mit Lysin wurde eine Peptiddepletion von 31,3 % gemessen, mit Cystein ergab sich eine Peptiddepletion von 16,7 %. Die mittlere Peptiddepletion betrug demnach 24 %.

### 3. Keratinozytenreaktion

Im ARE-Luciferase Test, dem Vorläufertest des KeratinoSens™ wurde ein  $I_{max}$  von 1,3 und eine  $EC_{1,5}$  von > 1000  $\mu$ M ermittelt (Natsch et al., 2009).

Bauch und Kollegen (2011) berichten im KeratinoSens™ ein negatives Testergebnis für Phthalsäureanhydrid. In der genannten Publikation bedeutet dies, dass die maximale beobachtete Induktion ( $I_{max}$ ) nie über den 1,5fachen Wert der Kontrolle anstieg (Ergebnis wiederholt in Bauch et al., 2012).

#### 4. Reifung und Migration von DCs

Die Reifung der humanen Monozytenzellen U937 wird im MUSST erfasst. Phthalsäureanhydrid wurde von Bauch (2011) auf Basis der erzielten Ergebnisse in diesem Test als nicht sensibilisierend eingestuft (Ergebnis wiederholt in Bauch et al., 2012). Eine Einstufung erfolgte, wenn mindestens eine 1,2fache Induktion der Oberflächenexpression von CD86 vorlag. Die Versuchsdurchführung wich leicht von der Originaltestbeschreibung ab, die Induktion von CD86 wurde nur zu einem Zeitpunkt gemessen und es wurden keine weiteren Marker bestimmt. Eine quantitative Aussage ist aufgrund fehlender Ergebnisdetails nicht möglich.

Dieselbe Autorengruppe untersuchte ebenfalls die Reifung von THP-1 Zellen (h-CLAT). Das Studienergebnis für Phthalsäureanhydrid war positiv, d.h. es lag mindestens eine 1,5fache Induktion der Oberflächenexpression von CD86 und/oder CD54 vor. Getestet wurden acht Konzentrationen ausgehend von einer 1,2fachen CV75 (Konzentration bei der noch 75% der Zellen leben). Da kein genaues Ergebnis beschrieben wird, sondern die Bewertung vom Schwellenwert der 1,5fachen Induktion der Expression von CD86 und/oder CD54 ausgeht, ist keine quantitative bzw. relative Aussage möglich (Bauch et al., 2011). In einer Nachfolgepublikation (Bauch et al., 2012) wird demgegenüber ein negatives Testergebnis im h-CLAT beschrieben. Das bedeutet weder die Expression des Oberflächenmarkers CD86 noch CD54 überschreitet den jeweils spezifischen Schwellenwert der Expression für ein positives Testergebnis (CD86: 1,5fach; CD54: 2fach gegenüber Kontrolle).

##### – *In silico (Schritt D)*

In Natsch et al. (2009) ist für diesen Inhaltsstoff das Ergebnis einer Vorhersage aus dem TIMES-SS Systems bezüglich der sensibilisierenden Substanzeigenschaften berichtet. In diesem Fall wird die Substanz als kontaktsensibilisierendes Agens identifiziert.

In Fedorowicz et al. (2005) werden die Ergebnisse bezüglich der sensibilisierenden Eigenschaften des Inhaltsstoffes aus zwei Softwareprodukten, sowie einer Basismethode berichtet (TOPKAT und DEREK für Windows, logistische Regressionsanalyse). TOPKAT sagt ein positives Ergebnis des Inhaltsstoffes im GPMT vorher (1,000). Mit Hilfe von DEREK und der logistischen Regression können Aussagen über den Ausgang der Sensibilisierungstestung in Meerschweinchen und in Mäusen gemacht werden. Die logistische Regressionsanalyse ergibt in beiden Fällen ein positives Ergebnis (0,911 GPMT; 0,813 LLNA). In DEREK lautet das kategorisierte Ergebnis „plausible“<sup>8</sup> im GPMT und „probable“<sup>9</sup> im LLNA.

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Der zu bewertende Inhaltsstoff erzielte auf Basis der verwendeten Daten im LLNA einen SS

---

<sup>8</sup> The weight of evidence supports the proposition.

<sup>9</sup> There is at least one strong argument that the proposition is true, and there are no arguments against it.

von 0,625 (d.h. Kategorie stark; SS >0,625 bis 0,75; Daten vom NIH (NIH, 1999)). Vom Modell vorhergesagt wurde ein PSS („predicted SS“) von 0,62 (d.h. Kategorie Sensibilisierend; SS > 0,5 bis 0,625). Wurden Ergebnisse aus Versuchen an Meerschweinchen bewertet ergab sich ein SS von 1 (d.h. Kategorie stark; SS: > 0,83-1). Das QSAR Modell sagte einen PSS von 0,97 vorher. Auf Basis der Humanbefunde (BgVV) wurde ein SS von 0,5 (d.h. Hinweis auf Allergen, Kategorie B; SS: >0 bis 0,5) vergeben und ein PSS von 0,57 (d.h. bedeutendes Allergen, Kategorie A; SS: >0,5 bis 1) gefunden.

Die vorläufige Wirkstärkenbewertung durch die Firma MOLCODE, auf Basis der ermittelten QSAR-Ergebnisse (QMRF: Q17-10-1-241; Endpunkt LNA Score Index) stufte den Inhaltsstoff in die schwächste Wirkkategorie ein („weak“). Für die Substanz liegt der numerische Wert des LLNA Score Index im Bereich zwischen 0,11 und 0,22. Die Ergebnisse wurden aufgrund des eigentlich kostenpflichtigen Service nicht detaillierter aufgeführt bzw. beschrieben (persönliche Kommunikation mit PhD Eneli Härk, REACH and Regulative Affairs, MOLCODE).

Das Phthalsäureanhydrid wurde durch TOXTREE bezüglich seiner Proteinreaktivität in die Gruppe der „Acylation agents“ eingeordnet. Dieser Reaktionsmechanismus wurde auch durch die Proteinbindungsmodelle der QSAR Toolbox bestätigt. Es wurden keine Metabolite identifiziert.

#### **2.2.6.2 Tetrahydrophthalsäureanhydrid 000085-43-8**

Hersteller-Einstufung: 41-42/43-52/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

Im Registrierungsdossier wurden die Ergebnisse einer unveröffentlichten Studie aus dem Jahr 1988, in der Meerschweinchen gemäß dem GPMT Standardverfahren behandelt wurden, zusammengefasst (weibliche Tiere, Rasse Dunkin Hartley). Die intradermale Induktionsbehandlung erfolgte dabei mit einer 0,5 % Tetrahydrophthalsäureanhydrid in Maisöl. Die anschließende topische Behandlung wurde mit einer Substanzkonzentration von 100 % durchgeführt (48 h, offen), ebenso wie die Auslösebehandlung nach weiteren zwei Wochen (24 h, okklusiv). Unter den gegebenen Bedingungen wurde bei 17 der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion festgestellt (d.h. 84 %). Die Kontrolltiere zeigten keine Hautreaktionen (siehe ESR.001).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 1,96 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~152 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00552 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -2,26.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE, mit den implementierten SMARTs Rastern, wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Gruppe „Acylating agents“ vorhergesehen. In der QSAR Toolbox wird zusätzlich ein proteinreaktiver Metabolit identifiziert (Proteinreaktionsmechanismus: OASIS Modell: „Peroxide free radical decomposition“ und „Protein acylation by acid anhydride“; OECD Modell: Acetates|MA: Direct Acylation Involving a Leaving group|Mechanistic Domain: Acylation).

### 2.2.6.3 Hexahydrophthalsäureanhydrid 000085-42-7

Hersteller-Einstufung: 41-42/43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

Hexahydrophthalsäureanhydrid war Gegenstand eines LLNA. Die Mäuse wurden von Dearman et al. (2000) mit Konzentrationen von 0,25; 0,5; 1; 2,5 oder 5 % (w/v) in AAO (4:1) behandelt. Ab einer Konzentration von 1 % wurde dabei der Schwellenwert der dreifachen Lymphozytenproliferation ( $SI > 3$ ) überschritten. Der ermittelte EC3 Wert liegt bei 0,84 % (Ergebnis sekundär zitiert in Gerberick et al., 2004b; Natsch et al., 2009).

In einem unveröffentlichten Studienbericht aus dem Jahr 1988 wurden die Ergebnisse eines Meerschweinchentests gemäß dem GPMT Standardverfahren beschrieben (weibliche Tiere, Rasse Dunkin Hartley). Die intradermale Induktionsbehandlung erfolgte dabei mit einer 0,5 % Hexahydrophthalsäureanhydrid in Maisöl. Die anschließende topische Behandlung wurde mit einer Substanzkonzentration von 100 % durchgeführt (48 h, offen), ebenso wie die Auslösebehandlung nach weiteren zwei Wochen (24 h, okklusive). Unter den gegebenen Bedingungen wurde 24 h nach dem Ende der Auslösebehandlung bei 19 der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion festgestellt (d.h. 95 %). Zum Zeitpunkt 48 h waren 16 der 20 behandelten Tiere positiv (d.h. 80 %). Die Kontrolltiere zeigten keine Hautreaktionen (siehe ESR.001).

In der Publikation von Zhang und Kollegen gelang ebenfalls ein positiver Sensibilisierungsnachweis in Meerschweinchen durch die Messung von IgG1-Antikörpern. Eine Quantifizierung der sensibilisierenden Wirkstärke war jedoch nicht möglich (Zhang et al., 1998).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 2,17 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~154 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_p$ ) von 0,00763 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_p$  von -2,12.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde für die Proteinbindung des Inhaltsstoffes der Reaktionsmechanismus „Acylating agent“ identifiziert. In der QSAR Toolbox wird



zusätzlich ein proteinreaktiver Metabolit identifiziert (Proteinreaktionsmechanismus: OASIS Modell: „Protein acylation by acid anhydride“; OECD Modell: Acetates|MA: Direct Acylation Involving a Leaving group|Mechanistic Domain: Acylation).

#### **2.2.6.4 Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid 011070-44-3**

Hersteller-Einstufung: 41-42/43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar, es sind jedoch keine experimentellen Daten bezüglich dermalen Absorption oder hautsensibilisierender Substanzeigenschaften eingetragen. Ein Eintrag bezüglich atemwegssensibilisierender Eigenschaften ist für die vorgelegte Bewertung nicht relevant und wird aus diesem Grund nicht detailliert dargestellt.

- *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

- *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 2,64 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~166 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0137 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -1,86.

- *In silico (Schritt D)*

Von TOXTREE wurde als Reaktionsmechanismus der Proteinbindung „Acylating agent“ genannt. In der OECD Toolbox („Protein binding by OECD“) wurde neben der Acylierung ein Strukturalarm für einen weiteren Reaktionsmechanismus identifiziert (d.h. Michael Addition; „Acetates|MA: Direct Acylation Involving a Leaving group|MA: Polarised Alkenes|Mechanistic Domain: Acylation|Mechanistic Domain: Michael addition|Polarised alkene – esters).

#### **2.2.6.5 Methylhexahydrophthalsäureanhydrid 025550-51-0**

Hersteller-Einstufung: 41-42/43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar, es sind jedoch keine experimentellen Daten bezüglich dermalen Absorption oder hautsensibilisierender Substanzeigenschaften eingetragen.

- *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

- *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 2,59 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~168 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0124 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -1,9.

– *In silico (Schritt D)*

Der Inhaltsstoff wurde von TOXTREE bezüglich seines Mechanismus der Proteinbindung in die Gruppe der „Acylating agents“ eingeordnet. In der QSAR Toolbox werden zusätzlich zwei proteinreaktiver Metabolit identifiziert (Proteinreaktionsmechanismus: OASIS Modell: „Protein acylation by acid anhydride“; OECD Modell: Acetates|MA: Direct Acylation Involving a Leaving group|Mechanistic Domain: Acylation).

## 2.2.7 tertiäre Amine

### 2.2.7.1 3-((6-Aminotrimethylhexyl)amino)propionitril 093941-62-9

Hersteller-Einstufung: 22-34-43

Entspricht dem unter 2.2.5.1 genannten Inhaltsstoff und wird entsprechend dort besprochen.

## 2.2.8 Phenole

### 2.2.8.1 tert-Butylphenol 000098-54-4

Hersteller-Einstufung: 36-43-51/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

In einem unveröffentlichten Studienbericht aus dem Jahr 1998 wurden die Ergebnisse eines Meerschweinchentests gemäß dem GPMT Standardverfahren beschrieben (männliche Tiere, Rasse Dunkin Hartley und Pirbright White). Die intradermale Induktionsbehandlung erfolgte dabei mit einer 0,5 % von tert-Butylphenol in Maisöl. Die anschließende topische Behandlung wurde mit einer Substanzkonzentration von 10 % in Vaseline durchgeführt (48 h, offen). Für die Auslösebehandlung nach zweiwöchiger Ruhephase wurde nur 1 % verwandt (24 h, okklusiv). Unter den gegebenen Bedingungen wurde zu den Ablesezeitpunkten 48 und 72 h nach dem Ende der Auslösebehandlung bei keinem der 10 behandelten Tiere und auch bei keinem der 5 Kontrolltiere eine positive Hautreaktion festgestellt (siehe ESR.001).

– *In vitro (Schritt C)*

Aus EPI Suite™ wurde ein experimentelles Ergebnis für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) von 3,31 entnommen. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~150 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0517 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -1,28.

– *In silico (Schritt D)*

Weder in TOXTREE, noch in der QSAR Toolbox wird eine Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes vorhergesagt. Mit Hilfe des Hautmetabolismussimulators in der Toolbox konnte kein Metabolit identifiziert werden.

### 2.2.8.2 Bisphenol A 000080-05-7

Hersteller-Einstufung: 37-41-43-62-52

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

Der Inhaltsstoff kommt in Härtern vor, könnte aber auch als Restmonomer in den Harzen enthalten sein. Dazu liegen aber keine Informationen vor (persönliche Kommunikation mit Dr. Kersting, BG Bau).

– *In vivo (Schritt B)*

Bisphenol A war Gegenstand zweier Sensibilisierungstests mit Mäusen. Im erst genannten Studienbericht des Registrierungsdossiers wurden die Ergebnisse eines LLNA zusammengefasst. Die NMRI Mäuse wurden mit einer 3, 10 oder 30%igen Bisphenol A Lösung im Vehikelmisch aus Dimethylacetamid, Aceton und Ethanol (DAE 433) behandelt. Bei keiner Konzentration wurde dabei der Schwellenwert für ein positives Testergebnis ( $SI > 3$ ) überschritten und es konnte keine Konzentrationsabhängigkeit der Effekte gefunden werden ( $SI$  bei 3, 10 bzw. 30 %: 1,25, 1,35 bzw. 1,24; unveröffentlichter Studienbericht, 2002; siehe ESR.001).

Im zweiten Studienbericht wurden die Tiere wie oben genannt behandelt. Zusätzlich wurden bei den Tieren der Kontrollgruppe, sowie bei den Behandlungsgruppen jeweils nach der Applikation eine UV-A Bestrahlung durchgeführt (20 J UV-A/cm<sup>2</sup>). Eine weitere Gruppe wurde mit 30%iger Substanzlösung behandelt, blieb aber unbestrahlt. Wie zuvor konnte bei keiner Konzentration ein  $SI > 3$  erreicht werden ( $SI$  bei 3, 10 bzw. 30 % jeweils mit Bestrahlung, und 30 % ohne Bestrahlung: 0,66, 0,8 bzw. 0,78 und 0,74; unveröffentlichter Studienbericht, 2003; siehe ESR.002).

Im Meerschweinchen Maximierungstest (GPMT) mit einer intradermalen Induktionsdosis von 5 % Bisphenol A in Aceton zeigte keines der 15 getesteten Tiere eine positive Reaktion (Thorgeirsson und Fregert, 1977; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985).

– *In vitro (Schritt C)*

Im Registrierungsdossier wurden die Ergebnisse einer *in vitro* Absorptionsstudie mit humanen Hautproben zusammengefasst. Bei einer dermalen Verabreichung der Substanz im millimolaren Bereich wurde von einer maximal 10%igen Absorption gesprochen (Basic toxicokinetics.ESR.004).

Aus EPI Suite™ wurde ein experimentelles Ergebnis für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) von 3,32 entnommen. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~228 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0176 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -1,75.

– *In silico (Schritt D)*

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Für den zu bewertende Inhaltsstoff wurde auf Basis der Humanbefunde (BgVV) ein SS von 0,5 (d.h. Hinweis auf Allergen, Kategorie B; SS: >0 bis 0,5) vergeben und ein PSS von 0,37 gefunden.

Weder in TOXTREE, noch in der QSAR Toolbox wird eine Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes vorhergesagt. Mit Hilfe des Metabolismus-Simulators in der Toolbox konnte kein Metabolit identifiziert werden.

## **2.2.9 Reaktivverdünner**

### **2.2.9.1 Butyl-glycidylether 002426-08-6**

Hersteller-Einstufung: 10-20/22-37-40-43-52/53-68

– *In vivo (Schritt B)*

Basketter et al. (1994) führte einen LLNA durch. Butyl-glycidylether (BGE) wurde in Konzentrationen von 10, 25 und 50 % (w/v) in Aceton/Olivenöl (4:1) auf die Haut von Mäusen aufgebracht. Es wurden Stimulationsindices von 1,4, 2,2 und 5,6 ermittelt. Daraus wird später von Gerberick et al. (2005) ein EC3 von 31 % errechnet (Wert wird auch in Natsch et al., 2009 verwendet).

In einer Publikation, in der eine Reihe von Phenylglycidylethern untersucht wurden, konnte im Standard LLNA mit Aceton/Olivenöl (4:1) für BGE ein EC3 Wert von 28 % ermittelt werden (Niklasson et al., 2009).

In Meerschweinchen wurden die sensibilisierenden Eigenschaften von BGE in einem Test gemäß dem Standard GPMT-Verfahren bestimmt. Es wurden weibliche Tiere der Rasse Dunkin Hartley verwendet. Für die intradermale Induktion wurde eine 10%ige Lösung der Prüfsubstanz in Propylenglykol eingesetzt. Die epidermale Induktion fand ebenfalls mit einer 10%igen Lösung statt (48 h, Okklusivverband) und die Auslösebehandlung erfolgte mit 0,1 % (24 h, okklusiv). Zum Ablesezeitpunkt (24 h nach Entfernen des Verbandes) zeigten 6 der 12 behandelten Tiere eine positive Reaktion. Wurden für die Auslösebehandlung anstelle von Butyl-glycidylether andere Epoxidharzinhaltsstoffe verwendet, zeigten sich ebenfalls positive Hautreaktionen (z.B. Epoxid Nr. 8 (CAS Nr. 68609-97-2): 12 positive Tiere (12/12); Kresylglycidylether (ähnlich CAS Nr. 26447-14-3): 8 positive Tiere (8/12); Thorgeirsson et al., 1975; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985).

In einer Publikation (Weil et al., 1963) wird berichtet, dass 16 von 17 mit Butyl-glycidylether behandelten Meerschweinchen eine positive Hautreaktion zeigten (d.h. 94 %). Der Test wurde ähnlich dem Vorgehen beim Draize Test durchgeführt (Induktion jedoch nur mit 8 intradermalen Injektionen). Es wurde aber weder die

Induktions-, noch die Auslösekonzentration näher spezifiziert. Aus diesem Grund können die Ergebnisse nur ergänzend berichtet, und nicht zur Quantifizierung der sensibilisierenden Wirkstärke herangezogen werden.

– *In vitro* (Schritt C)

### 1. Bioverfügbarkeit

Aus EPI Suite™ wurde ein experimentelles Ergebnis für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) von 0,63 entnommen. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~130 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,000857 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -3,07.

### 2. Haptenisierung

Die Autoren der oben genannten Reihenuntersuchung von Phenylglycidylethern setzen den für BGE ermittelten EC3 Wert (28 %, d.h. schwach sensibilisierend) in Bezug zur chemischen Reaktivität (gemessen in einem Peptiddepletionsversuch ähnlich dem DPRA). In der Reihe der untersuchten Substanzen war BGE mit 46 % depletiertem Peptid die am wenigsten aktive Substanz und entspricht laut den Studienautoren somit den Ergebnissen aus dem Tierversuch (gemessen wurde nach 40 Minuten in einer DMSO/PBS Mischung (1:1), pH 7.4, 10facher Peptidüberschuss Niklasson et al., 2009).

Unter Verwendung eines Cystein-haltigen Peptids konnte von Natsch und Kollegen (2009) ein Rückgang des Peptidvorkommens von 84,8 % verzeichnet werden (Reaktion erfolgte in Acetonitril/PBS Mischung mit einem Verhältnis von 1:10 oder 1:50 des Peptids zur Testchemikalie, gemessen wurde nach 24 h). Die Studienautoren bewerten das Ergebnis als stark positiv. In einer Nachfolgearbeit derselben Autorengruppe wurde zusätzlich zur Peptidreaktivität (Lysin und Cystein) eine LC-MS Analyse durchgeführt, um eine eventuelle Adduktbildung zu bestätigen (Emter et al., 2010). Im Fall von Butyl-glycidylether wurde ein 32,5%iger Peptidrückgang gemessen und eine Adduktbildung war nachweisbar.

### 3. Keratinozytenreaktion

Im ARE-Luciferase Test, dem Vorläufertest des KeratinoSens™ wurde ein  $I_{max}$  von 12,6 bestimmt und eine EC1,5 von 71,8  $\mu\text{M}$  ermittelt (Natsch et al., 2009).

Im KeratinoSens™ nach Emter et al. (2010) war die  $I_{max} = 340,7$  und die EC1,5 = 218,5  $\mu\text{M}$ , dabei zeigten die zwei durchgeführten Testungen (Durchführung immer dreifach) jeweils einen statistisch signifikanten EC1,5 Wert. Eine IC50 von > 2000  $\mu\text{M}$  bewies die geringe Zytotoxizität der Substanz im vorliegenden Test. Weiterhin konnte eine deutliche Konzentrations-Wirkungsbeziehung festgestellt werden. Der ermittelte ARE EC2 Wert lag bei 289,8  $\mu\text{M}$  und der ARE EC3 Wert bei 381,6  $\mu\text{M}$ .

In einem weiteren KeratinoSens™ lag die  $I_{max}$  bei 107 und die EC1,5 bei 59  $\mu\text{M}$  (Testdurchführung gemäß Standardprotokoll). Eine IC50 von 727  $\mu\text{M}$  bewies die eher geringe Zytotoxizität im Test. Die mindestens 1,5fache Induktion der Luciferaseaktivität war bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen bereits signifikant (Delaine et al., 2011).

#### 4. Reifung und Migration DCs

Bei Untersuchungen der humanen Monozytenzelllinie THP-1 fand man im durchgeführten h-CLAT ein negatives Ergebnis. Im vorliegenden Fall bedeutet dies, dass die Expression der untersuchten Oberflächenmarker CD86 bzw. CD54, im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollzellen, nicht induziert war (CD86  $\geq$  150 % bzw. CD54  $\geq$  200 %). Eine Aktivierung der Monozyten konnte somit nicht nachgewiesen werden (Nukada et al., 2011). Der Inhaltsstoff war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

##### – *In silico* (Schritt D)

In Natsch et al. (2009) ist für diesen Inhaltsstoff das Ergebnis einer Vorhersage aus dem TIMES-SS Systems bezüglich der sensibilisierenden Substanzeigenschaften berichtet. In diesem Fall wird die Substanz als kontaktsensibilisierendes Agens identifiziert.

In Fedorowicz et al. (2005) werden die Ergebnisse bezüglich der sensibilisierenden Eigenschaften des Inhaltsstoffes aus zwei Softwareprodukten, sowie einer Basismethode berichtet (TOPKAT und DEREK für Windows, logistische Regressionsanalyse). TOPKAT sagt ein positives Ergebnis des Inhaltsstoffes im GPMT vorher (1,000). Mit Hilfe von DEREK und der logistischen Regression können Aussagen über den Ausgang der Sensibilisierungstestung in Meerschweinchen und in Mäusen gemacht werden. Die logistische Regressionsanalyse ergibt in beiden Fällen ein positives Ergebnis (0,938 GPMT; 0,617 LLNA). In DEREK lautet das kategorisierte Ergebnis im GPMT und im LLNA „probable“<sup>10</sup>.

Der Inhaltsstoff war im Trainingsset der QSAR-Modellentwickler um Golla (2009) enthalten. Im Modell wurden für die sensibilisierende Wirkstärke sogenannte „SS“ Scores vergeben. Die Wirkstärke wird dabei auf einer Skala zwischen 0 und 1 eingeordnet. Daten aus Versuchen mit Mäusen (LLNA) und Meerschweinchen (GPMT) oder Humanbefunde werden jeweils getrennt voneinander betrachtet. Der zu bewertende Inhaltsstoff erzielte auf Basis der verwendeten Daten im LLNA einen SS von 0,25 (d.h. Kategorie schwach; SS >0 bis 0,25; Daten aus Gerberick et al., 2005). Vom Modell vorhergesagt wurde ein PSS („predicted SS“) von 0,16.

Die vorliegende Substanz war im Trainingsset der Entwicklung der SMARTS Muster enthalten (dementsprechend ist die Richtigkeit der Zuordnung bereits durch Experten bestätigt; Enoch et al., 2008). Die identifizierte Reaktionsdomäne war ein S<sub>N</sub>2 Mechanismus, dieser wurde folgerichtig bei Anwendung von TOXTREE erneut wiedergefunden.

Die vorläufige Wirkstärkenbewertung durch die Firma MOLCODE, auf Basis der ermittelten QSAR-Ergebnisse (QMRF: Q17-10-1-241; Endpunkt LNA Score Index) stuft den Inhaltsstoff in die schwächste Wirkkategorie ein („weak“). Für die Substanz liegt der numerische Wert des LLNA Score Index im Bereich zwischen 0,11 und 0,22. Die Ergebnisse wurden aufgrund des eigentlich kostenpflichtigen Service nicht

---

<sup>10</sup> There is at least one strong argument that the proposition is true, and there are no arguments against it.

detaillierter aufgeführt bzw. beschrieben (persönliche Kommunikation mit PhD Eneli Härk, REACH and Regulative Affairs, MOLCODE).

### **2.2.9.2 1,4-Butandiol-diglycidylether 002425-79-8**

Hersteller-Einstufung: 20/21-36/38-43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

#### *– In vivo (Schritt B)*

In einem GPM Test erfolgten die intradermale, sowie die topische Induktion der Versuchstiere mit 5 % (w/v) 1,4-Butandiol-diglycidylether in Aceton. Die Auslösebehandlung wurde mit 2 und 5%iger Lösung (in Aceton) durchgeführt. 60 % der behandelten Tiere zeigten eine positive Hautreaktion (Thorgeirsson, 1978a; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985).

Im Registrierungsdossier zur Substanz sind weitere Hautsensibilisierungsstudien der Industrie aufgeführt. In einem GPMT wurden die Meerschweinchen (männliche und weibliche Tiere, Rasse Ibm:GOHI) intradermal mit 1 % und anschließend epidermal mit 10 % der Prüfsubstanz in bi-destilliertem Wasser induziert. Die Auslösebehandlung erfolgte mit 5%iger Substanzlösung. 24 Stunden nach Entfernen des Pflasters zeigten 17 der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion (85 %), nach 48 Stunden waren es noch 15 Tiere (75 %). Die Tiere der Kontrollgruppe zeigten nach 24 h in 2 Fällen eine leicht positive Reaktion, nach 48 h war es noch eines der 10 Tiere (d.h. 20 bzw. 10 %). Bei den Kontrolltieren war an den Injektionsstellen, die mit FCA behandelt wurden zunächst eine starke Reizwirkung in Form von Erythem- und Ödembildung zu sehen, später wurden lokale Nekrosen mit anschließender Krustenbildung berichtet. Diese lokal begrenzten Effekte waren ebenfalls an allen drei Injektionsstellen der Versuchstiere aus der Testgruppe vorzufinden (unveröffentlichter Studienbericht, 1991; siehe ESR.001).

In einem weiteren Studienbericht wurden die Tiere (männliche und weibliche Tiere, Rasse Dunkin Hartley) ebenfalls gemäß dem GPMT Standardverfahren behandelt. Die Induktion erfolgte intradermal mit 1 %, epidermal mit 5 % und die Auslösebehandlung mit 3 %. Als Vehikel diente destilliertes Wasser. Nach der Auslösebehandlung zeigten 2 der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion (24 h), zum 48 h Ablesezeitpunkt war es noch ein Tier. Nach einer weiteren Auslösebehandlung (3 %) waren es 5 der behandelten Tiere, die eine positive Reaktion zeigten (d.h. 25 %). Keines der Kontrolltiere offenbarte eine Hautreaktion (unveröffentlichter Studienbericht, 1988; siehe ESR.004).

In einem weiteren Test wurden die Meerschweinchen (männliche und weibliche Tiere, Rasse Pirbright White) 9-mal intradermal mit 0,1 % der Testsubstanz in 0,9%iger Kochsalzlösung behandelt. Die Auslösung der Hautreaktion erfolgte ebenfalls durch intradermale Applikation der Testsubstanz (0,1 %). 24 Stunden nach der Auslösebehandlung zeigte sich bei 17 der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion. Nach einer zweiwöchigen Ruhephase erfolgte eine epidermale Auslösebehandlung mit 0,5 % der Testsubstanz in Vaseline („Re-Challenge“). 24 Stunden nach dem Ende der Patchapplikation zeigten alle 20 Tiere eine positive Hautreaktion. In der Studienzusammenfassung wird der Test als „Maurer

Optimisation Test“ bezeichnet. Die Verwendung eines Adjuvans, wie im Standardprotokoll vorgesehen, wird jedoch nicht beschrieben. Deswegen wird vermutet, dass es sich eher um einen NICHT-Adjuvans Test handelt, zumal die Testdurchführung dem Draize-Verfahren ähnelt (unveröffentlichter Studienbericht, 1981; siehe ESR.002).

Die nächste Studienzusammenfassung beschreibt die erzielten Ergebnisse aus einem „Maurer Optimisation Test“. Auch hier ist unklar, ob es sich tatsächlich um einen solchen Adjuvans Test handelt. Das Applikationsschema glich dem oben beschriebenen. Nach intradermaler Induktion, sowie Auslösebehandlung (jeweils 0,1% in Kochsalzlösung) zeigten 3 der 19 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion. Die Ergebnisse der Tiere der Vehikelkontrolle wurden nicht berichtet. Alle 20 Tiere, die mit einer Positivkontrollsubstanz behandelt wurden, zeigten eine positive Hautreaktion (unveröffentlichter Studienbericht, 1976; siehe ESR.003).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von -0,15 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~202 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0000876 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -4,06.

Der Inhaltsstoff war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

– *In silico (Schritt D)*

Die vorläufige Wirkstärkenbewertung durch die Firma MOLCODE, auf Basis der ermittelten QSAR-Ergebnisse (QMRF: Q17-10-1-241; Endpunkt LNA Score Index) stuft den Inhaltsstoff in die schwächste Wirkkategorie ein („weak“). Für die Substanz liegt der numerische Wert des LLNA Score Index im Bereich zwischen 0,11 und 0,22. Die Ergebnisse wurden aufgrund des eigentlich kostenpflichtigen Service nicht detaillierter aufgeführt bzw. beschrieben (persönliche Kommunikation mit PhD Eneli Härk, REACH and Regulative Affairs, MOLCODE).

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der  $S_{N2}$  Mechanismus identifiziert.

### **2.2.9.3 Neopentylglykol-diglycidylether 017557-23-2**

Hersteller-Einstufung: 38-43

– *In vivo (Schritt B)*

In einem GPM Test erfolgten die intradermale, sowie die topische Induktion der Versuchstiere mit 5 % (w/v) Neopentylglykol-diglycidylether in Aceton. Die Auslösebehandlung wurde mit 2%iger Lösung (in Aceton) durchgeführt. 87 % der behandelten Tiere zeigten eine positive Hautreaktion (Thorgeirsson, 1978a; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985).



– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 0,23 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~216 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,000134 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -3,87.

Der Inhaltsstoff war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der  $S_N2$  Mechanismus identifiziert.

#### **2.2.9.4 2-Ethylhexylglycidylether 002461-15-6**

Hersteller-Einstufung: 36/38-43-52/53

– *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 2,97 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~168 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0179 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -1,74.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der  $S_N2$  Mechanismus identifiziert.

#### **2.2.9.5 1,6-Hexandiol-diglycidylether 016096-31-4**

Hersteller-Einstufung: 36/38-43-51/53

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

Die sensibilisierende Wirkung von 1,6-Hexandiol-diglycidylether wurde im LLNA gemessen. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 0,3, 1 oder 3 % (w/w) der Testsubstanz in Aceton durchgeführt und ein EC3 von 1,9 % ermittelt (Gamer et al., 2008; siehe ESR.001).

In einem Test gemäß dem „Maurer Optimisation Test“-Protokoll wurden die Meerschweinchen (männliche und weibliche Tiere, Rasse Pirbright White) innerhalb von 21 Tagen insgesamt 10-mal intradermal mit 0,1 % der Testsubstanz in einem Gemisch aus Propylenglykol und 0,9%iger Kochsalzlösung (1:1) behandelt. In der zweiten und dritten Woche der Induktionsphase wurde die Prüfsubstanzapplikation

mit der Gabe eines Adjuvans kombiniert. Die Auslösung der Hautreaktion erfolgte in Studienwoche 10 und 11 durch eine epidermale Auslösebehandlung (1 % für 24 h unter okklusiven Bedingungen). 24 Stunden nach dem Ende der Patchapplikation zeigten alle 20 Tiere eine positive Hautreaktion (unveröffentlichter Studienbericht, 1981; siehe ESR.002).

– *In vitro (Schritt C)*

Im Registrierungsossier wurden die Ergebnisse einer *in vitro* Absorptionsstudie mit humanen Hautproben bzw. mit Hautproben von Ratten und Mäusen zusammengefasst (Schichtdicke der Hautproben von Mensch und Ratte nicht näher spezifiziert, aber definitiv ohne Subcutis; bei Mäusen: „full-thickness“; das bedeutet hier gesamte Epidermis und Dermis ohne Subcutis). Bei einer dermalen Verabreichung der Substanz (636 mM in Aceton) wurde nach 24 stündiger Applikationsdauer unter okklusiven und nicht-okklusiven Bedingungen die dermale Absorption gemessen. Bei einer Wiederfindungsrate von 83-90 % der aufgetragenen Testsubstanz im Experiment wurden ca. 37,8 % in die humane Hautprobe aufgenommen. Bei der Rattenhaut waren es 67,2 % und bei der Maushaut ungefähr 80,3 %. Für die dermale Permeabilität wurden folgende Koeffizienten ( $K_P$ ) festgelegt (in cm/h): Mensch = 0,000136; Ratte = 0,000402 und Maus = 0,000577. Die Studienautoren schließen aus den erzielten Ergebnissen, dass die Substanzabsorption in menschliche Haut 2-4fach geringer ist, als in die Haut der untersuchten Nagerspezies. Weiter beschreiben sie, dass ca. 20 % der absorbierten Substanz im Menschen metabolisiert wird (Mono- bzw. Diol Metabolit; unveröffentlichter Studienbericht, 2000; siehe Dermal Absorption.ESR.001).

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 0,84 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~230 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,000294 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -3,51.

Der Inhaltsstoff war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der  $S_{N2}$  Mechanismus identifiziert.

### **2.2.9.6 Versaticsäureglycidylester (z.B. Cadura E 10) 2,3-epoxypropyl neodecanoate 026761-45-5**

Hersteller-Einstufung: 36/38-43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

In einem Test an Meerschweinchen wurden die Tiere gemäß dem Standardprotokoll des GPMT behandelt (weibliche Tiere, Rasse Dunkin Hartley). Nach der intradermalen Induktion mit 50 % der Prüfsubstanz in Alembicol D (fraktioniertes

Kokosnusöl) wurde an Tag 7 zunächst eine leichte Hautreizung durch die topische Applikation von 10 % Natriumlaurylsulfat ausgelöst. Am nächsten Tag (Tag 8) wurde dann die epidermale Induktionsbehandlung durchgeführt. Da die Substanz als nicht-reizend angesehen wurde, konnte die Patchbehandlung mit 100%iger Substanzlösung erfolgen (48 h, okklusiv). Nach einer Ruhephase fand an Tag 21 die epidermale Auslösebehandlung mit 25 und 50 % iger Substanzlösung statt (24 h, okklusiv). 24 h nach dem Entfernen des Okklusivverbandes zeigten 4 der 20 Tiere an der Stelle mit 25%iger Substanzbehandlung eine positive Hautreaktion. An der Stelle, die mit 50 % der Substanz behandelt wurden, zeigten 9 der 20 Tiere eine positive Hautreaktion (d.h. 45 %). Die Schwere der gezeigten Reaktionen wurde als leicht bis mittelgradig beschrieben. 4 der Kontrolltiere zeigten Hautreaktionen, die als „sehr leicht“ bezeichnet wurden (unveröffentlichter Studienbericht, 1988; siehe ESR.001).

In einem weiteren GPMT wurden die Tiere (männlich und weiblich, Rasse „P“) jeweils mit 50 % Prüfsubstanz in Maisöl intradermal und epidermal induziert. Die Auslösebehandlung erfolgte nach einer Ruhephase ebenfalls mit einer 50%igen Substanzlösung. Nach dem Ende der Patchapplikation wurde bei 19 der 20 behandelten Tiere eine positive Hautreaktion festgestellt. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe wurden nicht berichtet (unveröffentlichter Studienbericht, 1977; siehe ESR.002 und ESR.004).

Die Meerschweinchen einer weiteren Studie wurden ebenfalls nach dem GPMT Standardverfahren behandelt. Die intradermale Induktionskonzentration betrug 5 % in Drakeol 19 („medium viscosity white mineral oil“, CAS Nr. 8042-47-5). Die epidermale Induktion erfolgte mit der unverdünnten Testsubstanz (100 % an Studientag 7). Nach zweiwöchiger Ruhephase erfolgte die Auslösebehandlung mit 50%iger Testlösung. 17 der 20 behandelten Tiere zeigten 24 h nach dem Ende der Auslösebehandlung eine positive Hautreaktion (d.h. 85 %; unveröffentlichter Studienbericht, 2003; siehe ESR.003).

– *In vitro (Schritt C)*

Im Registrierungsossier wurden die Ergebnisse einer *in vitro* Absorptionsstudie mit Hautproben von Menschen, Ratten und Mäusen zusammengefasst. Bei einer dermalen Verabreichung von 5 µl der unverdünnten Substanz (in DMSO) wurde nach mindestens 24 stündiger Applikationsdauer unter okklusiven Bedingungen eine dermale Absorption von ca. 0,2 % gemessen (humane Hautprobe). Es wurden keine weiteren Testergebnisse detailliert berichtet. Der Bericht besagt jedoch, dass laut den erzielten Ergebnissen die menschliche Haut um ca. eine Zehnerpotenz weniger durchlässig für die Testsubstanz ist als die Nagerhaut. In allen drei untersuchten Hautproben fand ein ähnlicher Metabolismus statt (gefunden wurden die entsprechenden Hydrolyseprodukte (Diol und Esterverbindungen); unveröffentlichter Studienbericht, 1998; siehe Dermal Absorption.ESR.001).

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 3,73 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~228 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0343 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -1,64.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der S<sub>N</sub>2 Mechanismus identifiziert.

**2.2.9.7 Trimethylolpropan-triglycidylether 030499-70-8**

Hersteller-Einstufung: 36/38-43

– *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar..

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log K<sub>OW</sub>) ein Wert von -0,5 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~300 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten (K<sub>P</sub>) von 0,000012 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log K<sub>P</sub> von -4,9.

Der Inhaltsstoff war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der S<sub>N</sub>2 Mechanismus identifiziert.

**2.2.9.8 C12/C14-Monoglycidylether 068609-97-2**

Hersteller-Einstufung: 38-43

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar.

– *In vivo (Schritt B)*

Die sensibilisierende Wirkung der C12/C14-Monoglycidylether wurde im LLNA untersucht. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 0,3, 1 oder 3 % (w/w) der Testsubstanz in Aceton durchgeführt und ein EC<sub>3</sub> von 0,6 % ermittelt (EC<sub>1,5</sub> = 0,7). In einer zweiten, unabhängigen Testung in Aceton mit den gleichen Substanzkonzentrationen der Prüfsubstanz in Aceton wurde ein EC<sub>1,5</sub> von 1,27 bestimmt. Wurde anstelle von Aceton jedoch Aceton/Olivenöl verwendet, so wurde nie ein Stimulationsindex von 1,5 überschritten (Gamer et al., 2008).

In Meerschweinchen wurden die sensibilisierenden Eigenschaften von C12/C14-Monoglycidylether in einem Test gemäß dem Standard GPMT-Verfahren bestimmt. Es wurden weibliche Tiere der Rasse Dunkin Hartley verwendet. Für die intradermale Induktion wurde eine 10%ige Lösung der Prüfsubstanz (d.h. Epoxid Nr. 8, enthält hauptsächlich die zu bewertenden Inhaltsstoffe) in Propylenglykol verwendet. Die epidermale Induktion fand ebenfalls mit einer 10%igen Lösung statt (48 h, Okklusivverband) und die Auslösebehandlung erfolgte mit 0,1 % (24 h, okklusiv). Zum Ablesezeitpunkt (24 h nach Entfernen des Verbandes) zeigten 12 der 12 behandelten Tiere eine positive Reaktion. Wurden für die Auslösebehandlung

anstelle von C12/C14-Monoglycidylether andere Epoxidharzinhaltsstoffe verwendet, zeigten sich ebenfalls positive Hautreaktionen (z.B. Butyl-glycidylether (CAS Nr. 2426-08-6): 4 positive Tiere (4/12); Kresylglycidylether (ähnlich CAS Nr. 26447-14-3): 4 positive Tiere (4/12); Epoxidharz: 9 positive Tiere (9/12); Thorgeirsson et al., 1975; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985).

In einem weiteren GPM Test erfolgten die intradermale sowie die topische Induktion der Versuchstiere mit 5 % (w/v) der Testsubstanz (1,2-Epoxydodekan; MW: 175 g/mol) in Ethanol. Die Auslösebehandlung wurde mit 0,5%iger Lösung, ebenfalls in Ethanol, durchgeführt. 40 % der behandelten Tiere zeigten eine positive Hautreaktion (Thorgeirsson, 1978a; ebenfalls sekundär zitiert in Wahlberg und Boman, 1985).

Im Registrierungsdossier sind weitere Untersuchungen zu hautsensibilisierenden Eigenschaften der Substanz zusammengefasst.

Die sensibilisierenden Eigenschaften eines Struktur-ähnlichen Monoglycidylethers, dem C13/C15-Monoglycidylether, wurden in einem Test gemäß dem Standard GPMT-Verfahren bestimmt. Weiblichen und männlichen Tieren der Rasse Ibm:GOH1 wurde als intradermale Induktion 5 % der Testsubstanz in Erdnussöl (*Oleum arachidis*) appliziert. Die epidermale Induktion fand mit 75 % in Vaseline statt (48 h, Okklusivverband) und die Auslösebehandlung erfolgte mit 25 % in Vaseline (24 h, okklusiv). Zum Ablesezeitpunkt (24 h nach Entfernen des Verbandes) zeigten 17 der 20 behandelten Tiere eine positive Reaktion, nach 48 h waren es noch 11 der 20 behandelten Tiere (unveröffentlichter Studienbericht, 1991; siehe ESR.003).

Die Tiere zweier weiterer Studien wurden gemäß dem Buehler-Protokoll behandelt. Beim Studienbericht aus dem Jahr 1975 wurden Hartley Meerschweinchen mit Epoxid Nr. 8 behandelt. Die Induktionskonzentration betrug 5 % in 80%igem Ethanol und die Auslösebehandlung wurde mit 2,5 % in Aceton durchgeführt. Alle der 20 behandelten Tiere zeigten eine positive Hautreaktion zu beiden Ablesezeitpunkten (24 und 48 h). Die Ausprägung der gefundenen Hautreaktionen wurde mit „gering“ bis „deutlich ausgeprägt“ beschrieben. In den Kontrolltieren kam es in 5 bis 6 Fällen von insgesamt 10 Tieren zu „sehr leichten“ Hautreaktionen (siehe ESR.001).

Für den zweiten Buehler-Test wurde ebenfalls das Epoxid Nr. 8 als Testmaterial verwendet. Die Induktion wurde mit 0,5 % (w/v) in einer 9:1 Lösung aus Dipropylenglykolmethylether (Dowanol-50B; Dowanol DPM; CAS Nr. 34590-94-8) und Tween® 80 (CAS Nr. 9005-65-6) durchgeführt. Die Auslösebehandlung erfolgte sehr wahrscheinlich mit derselben Konzentration. Zum Ablesezeitpunkt zeigt keines der 7 getesteten Tiere eine positive Hautreaktion. Die Ergebnisse der funktionierenden Positivkontrolle mit DER331 (d.h. Bisphenol A-Harze, CAS Nr. 25068-38-6; 15 % (w/v)) werden an gegebener Stelle berichtet (siehe 0; siehe ESR.002).

– *In vitro* (Schritt C)

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 7,25 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~254 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 7,47 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von 0,873.

Der Inhaltsstoff war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (KeratinSens™ und h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der S<sub>N</sub>2 Mechanismus identifiziert.

**2.2.9.9 Polypropylenglykoldiglycidylether/ Polyoxypropylen-diglycidylether 026142-30-3**

Hersteller-Einstufung: keine

Wahrscheinlich Selbsteinstufung: 36/38-43

Der Inhaltsstoff ist wie auch der Dipropylenglykol-diglycidylether ein Reaktionsprodukt aus Propylenglykol und Epichlorhydrin, allerdings mit höherem Molekulargewicht (persönliche Kommunikation mit Dr. Rouw, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin).

– *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

– *In vitro (Schritt C)*

Der Inhaltsstoff war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (KeratinoSens<sup>TM</sup> und h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

– *In silico (Schritt D)*

Keine Information verfügbar.

**2.2.9.10 Polypropylene glycol chloromethyloxirane polymer 009072-62-2**

Hersteller-Einstufung: keine

Diese CAS Nr. beschreibt eigentlich ein Nebenprodukt aus dem Polymer von Epichlorhydrin und Propylenglykol (persönliche Kommunikation mit Dr. Rouw, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin).

– *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

– *In vitro (Schritt C)*

Anhand der Struktur, die unter der CAS Nummer zu finden war wurde in der EPI Suite<sup>TM</sup> ein Verteilungskoeffizient ( $\log K_{O/W}$ ) von -0,3 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und dem gegebenen Molekulargewichts von ~44 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,000628 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -3,2.

Wie bereits am Molekulargewicht ersichtlich ist, repräsentiert die zugrundeliegende Struktur nur schwerlich ein Polymer. Nach Überprüfung der vom System verwendeten Struktur wurde deutlich, dass nur die Eigenschaften des Oxirans (CAS Nr. 75-21-8) bewertet wurden. Die Werte können somit für die Bewertung des Inhaltsstoffes nicht herangezogen werden.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der S<sub>N</sub>2 Mechanismus identifiziert.

### 2.2.9.11 Dipropylene glycol diglycidyl ether 041638-13-5

Hersteller-Einstufung: keine

Handelsüblichen Epoxidharze mit einer aliphatischen Polyglykol-diepoxyd Struktur sind beispielsweise DER™ 732 (= Polypropylenglykol diglycidylether) oder DER™ 736 (= Dipropylenglykol diglycidylether).

– *In vivo (Schritt B)*

Keine Information verfügbar.

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log K<sub>O/W</sub>) ein Wert von -0,57 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~246 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten (K<sub>P</sub>) von 0,0000237 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log K<sub>P</sub> von -4,63.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der S<sub>N</sub>2 Mechanismus identifiziert.

### 2.2.9.12 Cyclohexandimethanol-diglycidyl(divinyl)ether 017351-75-6

Hersteller-Einstufung: 43-51/53

Die Namensgebung des zu bewertenden Inhaltsstoffes ist nicht eindeutig. Die auf der GISBAU-Liste angegebene CAS Nummer steht für den Cyclohexandimethanol-divinylether (siehe Abbildung 3). Der Cyclohexandimethanol-diglycidylether wird durch die CAS Nummer 14228-73-0 spezifiziert (siehe Abbildung 4).

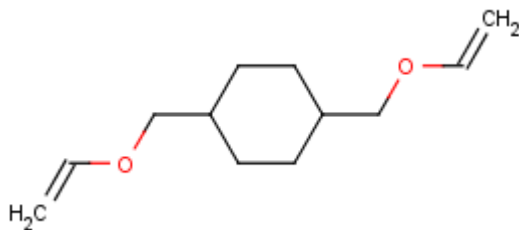


Abbildung 3. 17351-75-6

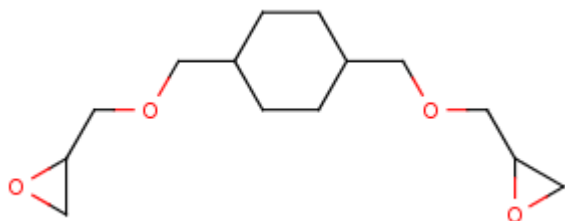


Abbildung 4. 14228-73-0

Im vorliegenden Bericht wurde die Recherche anhand der CAS Nummer der GISBAU Liste (d.h. Herstellerangabe) durchgeführt und somit zunächst der Divinylether charakterisiert. Nachgeschaltet wurde eine Kurzrecherche für die CAS Nummer 14228-73-0 durchgeführt. Es wurde keine relevante Literatur gefunden. Der Diglycidylether war in 2010 für die Registrierung unter REACH (EC, 2006) vorgesehen, bisher wurde aber noch kein IUCLID Datensatz bei der Registrierungsbehörde eingereicht (Stand November 2012).

- *In vivo* (Schritt B)

Keine Information verfügbar.

- *In vitro* (Schritt C)

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 3,03 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~196 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0172 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -1,76.

Der Cyclohexandimethanol-diglycidylether war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

- *In silico* (Schritt D)

Für diesen Inhaltsstoff wurde weder in TOXTREE, noch in der OECD Toolbox eine Struktur ermittelt, die auf die bekannten Proteinreaktivitätsdomänen hinweist. Daraufhin wurde der in der Toolbox enthaltene Metabolismus-Simulator angewandt. Es wurden 2 potentiell mögliche Metabolite identifiziert. Das Toolbox Modell „Protein binding by OASIS“ besagt weiterhin, dass für einen der beiden Metabolite des nicht-proteinreaktiven Inhaltsstoffes die Reaktivitätsdomäne „Protein alkylation by active cyclic agents“ gilt.

### 2.2.9.13 p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether 003101-60-8

Hersteller-Einstufung: 36/38-43

- *In vivo* (Schritt B)

Die sensibilisierende Wirkung von p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether wurde im LLNA untersucht. Die Prüfung wurde unter Verwendung von 0,1; 0,3 oder 1 % (w/w)



der Testsubstanz in Aceton durchgeführt und ein EC3 von 0,4 % ermittelt (Gamer et al., 2008).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 3,52 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~206 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0333 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -1,47.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der  $S_N2$  Mechanismus identifiziert.

#### 2.2.9.14 Phenylglycidylether 000122-60-1

Hersteller-Einstufung: 45-20-37/38-43-68-52/53

Unter der gegebenen CAS Nr. finden sich drei IUCLID Datensätze der Registrierung unter REACH (EC, 2006). Zwei Datensätze enthalten experimentelle Daten (Stand 03.01.2012). Relevante Auszüge werden unten berichtet.

– *In vivo (Schritt B)*

In einer Publikation, in der eine Reihe von Phenylglycidylethern untersucht wurden, konnte im Standard LLNA mit Aceton/Olivenöl (4:1) für Phenylglycidylether (PGE) ein EC3 Wert von 0,46 % ermittelt werden (Niklasson et al., 2009).

In einem GPMT wurden die Tiere (weiblich, Rasse Dunkin Hartley) zunächst mit 0,55 % (w/v) Phenylglycidylether intradermal behandelt. An Tag 6 wurde eine leichte Hautreizung durch die topische Applikation von 10 % Natriumlaurylsulfat ausgelöst (Vehikel: Dimethylacetamid/Aceton/Ethanol 4:3:3 (v/v/v)). An Versuchstag 7 erfolgte die epidermale Induktion mit 0,83 % (w/v). Die Auslösebehandlung erfolgte entweder mit 1,7 % (w/v) (rechte Flanke) oder mit einer Konzentration von 0,83 % (linke Flanke). Das verwendete Vehikel war Propylenglykol. 24 h nach dem Entfernen des Okklusivverbandes zeigten 23 der 24 behandelten Tiere an der Stelle mit 1,7%iger Substanzbehandlung eine positive Hautreaktion (96 %). Die geringere Auslösekonzentration von 0,83 % hatte keinen Einfluss auf die gezeigten Hautreaktionen, denn hier wurden alle 24 Tiere positiv bewertet. In der Studie wurde zudem die Kreuzreaktivität mit verschiedenen Epoxidharzmonomeren belegt (Pontén et al., 2009; siehe IUCLID Datensatz 3, ESR.001).

In einer Studie wurden die Tiere gemäß dem GPMT-Protokoll behandelt. Die intradermale Induktionskonzentration betrug 0,1 % in Erdnussöl. Es wurden keine weiteren Details zur Versuchsdurchführung berichtet. Zum Ablesezeitpunkt (24 h) zeigten alle der 9 Versuchstiere eine positive Hautreaktion. Bei keinem der 9 Kontrolltiere konnte eine Hautreaktion verzeichnet werden (unveröffentlichter Studienbericht, 1978; siehe IUCLID Datensatz 1, ESR.002).

Ein weiterer Test an Meerschweinchen wurde von Rudzki und Krajewska (1979) durchgeführt. In diesem nicht standardisierten Test wurden 10 Tiere durch insgesamt 34-maliges Aufbringen (an 6 Tagen pro Woche) von Phenylglycidylether (5 % in

Ethanol) auf die geschorene Haut sensibilisiert. Die Auslösebehandlung erfolgte später mit 1 % Phenylglycidylether in Ethanol. Von den 10 sensibilisierten Tieren reagierten alle positiv auf die Auslösebehandlung. Wurden Meerschweinchen, die gegenüber Phenylglycidylether sensibilisiert wurden, mit einem Bisphenol A-Harz behandelt (5 % in Aceton, Handelsname Epidian 5; siehe 0) so reagierten 2 von 10 Tieren positiv (siehe IUCLID Datensatz 1, ESR.006).

Folgende Studienberichte werden der Vollständigkeit halber erwähnt, sind jedoch aufgrund ihrer mangelhaften Detailtiefe nicht relevant für die Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke von Phenylglycidylether.

In der Studienzusammenfassung in der Hartley Meerschweinchen gemäß dem Buehler-Protokoll behandelt wurden (3-malige Induktionsbehandlung mit 5 % in Ethanol, Auslösebehandlung mit 0,5 % in Aceton), fand sich keine Darstellung der erzielten Ergebnisse (unveröffentlichter Studienbericht 1978; siehe IUCLID Datensatz 1, ESR.003).

In der Zusammenfassung eines weiteren Versuchs an Meerschweinchen) wurden ebenfalls keine Ergebnisse berichtet (Durchführung: 3-malige intradermale Induktionsbehandlung mit einer unbestimmten Konzentration der Prüfsubstanz in einer Lösung aus Aceton/Dioxan (1:1) und mit 13 % Meerschweinchenfett, Auslösebehandlung nach zweiwöchiger Ruhephase mit unverdünnter Testsubstanz (100 %), Wiederholung der Auslösebehandlung nach weiteren 2 Wochen mit 1 % und 5 % in DMSO; unveröffentlichter Studienbericht; siehe IUCLID Datensatz 1, ESR.005).

In einem nicht-standardisierten Test wurden 10 männlichen Meerschweinchen innerhalb von 10 Tagen 4 Patchapplikationen (mit 0,1 ml der unverdünnten Testsubstanz, jeweils für 48 h okklusiv) verabreicht. Bei der dritten Patchapplikation wurde zusätzlich intradermal 0,2 ml Freund-Adjuvans (FCA) verabreicht. Nach zweiwöchiger Ruhephase erfolgte die epidermale Auslösebehandlung (10 %). Die Ergebnisauswertung erfolgt als „total erythema score“, die Substanz erzielte hier ein Ergebnis von 47 (keine weiteren Details, unveröffentlichter Studienbericht, 1986; siehe IUCLID Datensatz 1, ESR.004).

In einer Publikation (Weil et al., 1963) wird berichtete, dass eines von 18 mit Phenylglycidylether behandelten Meerschweinchen eine positive Hautreaktion zeigten (d.h. 6 %). Der Test wurde ähnlich dem Vorgehen beim Draize Test durchgeführt (Induktion jedoch nur mit 8 intradermalen Injektionen). Es wurde aber weder die Induktions-, noch die Auslösekonzentration näher spezifiziert (siehe IUCLID Datensatz 1, ESR.008).

In einem nicht-standardisierter Test mit Meerschweinchen wurde die Substanz auf einen ca. 15 cm<sup>2</sup> großen Hautbereich (rechte Flanke und Rücken) unverdünnt an 6 aufeinanderfolgenden Tage aufgetragen. Zu diesem Zeitpunkt wurde eine leichte Hautreizung sichtbar. Circa 4 Wochen später wurde ein 1 cm<sup>2</sup> großes Areal auf der zuvor unbehandelten linken Seite benetzt. Nach vier Tagen zeigten sich Entzündungserscheinungen an der Haut. Nach neuerlicher Versuchspause von 3 Wochen und anschließender Behandlung der linken Körperseite (1 cm<sup>2</sup>) konnte diese Reaktion bestätigt werden. Wurde jedoch ein Läppchentest mit 0,1 % bzw. eine offene Auslösebehandlung mit 10%iger Substanzlösung auf der vorbehandelten

rechten Seite durchgeführt, konnten keine positiven Hautreaktionen verzeichnet werden (Zschunke und Behrbohm, 1965; siehe IUCLID Datensatz 1, ESR.001).

In einem Ohr-Flankentest (Klecak, 2004) wurde 6 Meerschweinchen 0,1 ml einer 10%igen Substanzlösung in Olivenöl an drei aufeinanderfolgenden Tagen auf die Ohren aufgetragen. Nach 7 Tagen wurde die Auslösebehandlung an der Flanke ausgeführt (0,2 ml der 10%igen Substanzlösung). Das Ablesen der Hautreaktion erfolgte 24 h später. Es wurden jedoch keine Ergebnisse berichtet (Stevens, 1967; siehe IUCLID Datensatz 1, ESR.007).

– *In vitro* (Schritt C)

### 1. Bioverfügbarkeit

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 1,61 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~150 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,00323 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -2,49.

### 2. Haptenisierung

Die Autoren der oben genannten Reihenuntersuchung von Phenylglycidylethern setzen den für PGE ermittelten EC3 Wert (0,46 %, d.h. stark sensibilisierend) in Bezug zur chemischen Reaktivität (gemessen in einem Peptiddepletionsversuch ähnlich dem DPRA). In der Reihe der untersuchten Substanzen war PGE mit 88 % depletiertem Peptid die aktivste Substanz und entspricht laut den Studienautoren somit den Ergebnissen aus dem Tierversuch (gemessen wurde nach 40 Minuten in einer DMSO/PBS Mischung (1:1), pH 7.4, 10facher Peptidüberschuss Niklasson et al., 2009; Niklasson et al., 2011).

### 3. Keratinozytenreaktion

Im KeratinoSens™ war die  $I_{max} = 56$  und die  $EC_{1,5} = 16 \mu M$  (Testdurchführung gemäß Standardprotokoll). Eine  $IC_{50}$  lag bei 182  $\mu M$  (Marker der Zytotoxizität). Die mindestens 1,5fache Induktion der Luziferaseaktivität war bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen bereits signifikant (Delaine et al., 2011).

Der Inhaltsstoff war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

– *In silico* (Schritt D)

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der  $S_{N2}$  Mechanismus identifiziert.

## **2.2.9.15 o-Kresylglycidylether 002210-79-9**

Hersteller-Einstufung: 38-68-43-51/53

– *In vivo* (Schritt B)

Keine Information verfügbar.

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 2,16 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~164 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0065 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -2,16.

Der Inhaltsstoff war Teil der projektbezogenen *in vitro* Testreihe (h-CLAT, Ergebnisse siehe Teilbericht 5.3, Abschnitt 1.3 und 1.4).

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der  $S_N2$  Mechanismus identifiziert.

### 2.2.9.16 Kresylglycidylether, Isomerengemisch 026447-14-3

Hersteller-Einstufung: 38-68-43-51/53

– *In vivo (Schritt B)*

In einem Meerschweinchentest nach Maguire, der die sensibilisierenden Eigenschaften von DER 331 untersuchen sollte, wurde Kresylglycidylether (nicht weiter spezifiziert) als Positivkontrolle mitgeführt. Die verwendeten Hartley Meerschweinchen wurden zunächst intradermal und epikutan 4-mal innerhalb von 10 Tagen mit 10 % Kresylglycidylether in einer 9:1 Lösung aus Dipropylenglykolmethylether (Dowanol-50B; CAS Nr. 34590-94-8) und Tween® 80 (CAS Nr. 9005-65-6) behandelt. Eine Induktionsapplikation mit Freund-Adjuvans wird nicht erwähnt. Nach 14-tägiger Ruhepause erfolgte die Auslösebehandlung und alle der 17 getesteten Tiere zeigten eine positive Hautreaktion an (unveröffentlichter Studienbericht, 1979; siehe ESR.008 zu CAS Nr. 25068-38-6).

In einem ähnlichen Versuchsprotokoll diente Kresylglycidylether wiederum als Positivkontrolle. Nach intradermaler und epikutaner Induktion erfolgte die epikutane, okklusive Auslösebehandlung (keine weiteren Angaben zur Identität der Substanz oder der getesteten Konzentration). Das verwendete Vehikel war eine 9:1 Lösung aus Dowanol DPM und Tween® 80. Alle der 12 getesteten Tiere zeigten anschließend ein positives Ergebnis (unveröffentlichter Studienbericht, 1979; siehe ESR.015 zu CAS Nr. 25068-38-6).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ) ein Wert von 2,16 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~164 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,0065 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein  $\log K_P$  von -2,16 (siehe auch 0).

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wurde bezüglich der Proteinreaktivität des Inhaltsstoffes der  $S_N2$  Mechanismus identifiziert.

### 2.2.9.17 2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol 000090-72-2

EU-Einstufung: 22-36/38

IUCLID Datensatz der Registrierung unter REACH (EC, 2006) für den Inhaltsstoff verfügbar. Auf Basis der dort vorgenommenen Neueinstufung der Substanz (gemäß EU, 2011) bezüglich ihrer sensibilisierenden Eigenschaften wurde 2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol in die Liste der zu bewertenden Inhaltsstoffe aus Epoxidharzsystemen aufgenommen.

– *In vivo (Schritt B)*

In einem Studienbericht aus dem Jahre 1995 wurden Meerschweinchen (männlich, Rasse Dunkin Hartley) gemäß dem GPMT-Standardprotokoll behandelt. Die intradermale Induktionsbehandlung erfolgte mit 0,05 % und die topische Induktion wurde mit einer 25%igen Lösung durchgeführt. Nach einer zweiwöchigen Ruhephase wurde die Provokationsbehandlung der Tiere mit 1 und 2%iger Testsubstanzlösung realisiert. Unter diesen Bedingungen zeigten 24 h nach dem Ende der Auslösebehandlung nur 2 der 19 Versuchstiere eine positive Hautreaktion (d.h. 10,5 %). Nach 48 h wurde bei keinem der Tiere mehr ein positives Ergebnis verzeichnet (unveröffentlichter Studienbericht, 1995; siehe ESR.001).

– *In vitro (Schritt C)*

In der EPI Suite™ wurde für den Verteilungskoeffizient (log  $K_{OW}$ ) ein Wert von 0,77 berechnet. Mit Hilfe dieses Wertes und des Molekulargewichts von ~265 g/mol konnte anhand des DERMWIN Modells eine Abschätzung des Permeabilitätskoeffizienten ( $K_P$ ) von 0,000162 cm/h gemacht werden. Es resultiert ein log  $K_P$  von -3,8.

– *In silico (Schritt D)*

In TOXTREE wird als Proteinreaktivitätsmechanismus des Inhaltsstoffes die Schiffbasenbildung vorhergesehen (eventuell „pro-SB“, vgl. 2.2.3.3). Die in der OECD Toolbox enthaltenen Proteinbindungsmodelle der OECD und von OASIS konnten keine funktionelle Gruppe innerhalb der Struktur des Inhaltsstoffes finden, der Inhaltsstoff selbst wurde entsprechend als nicht-proteinreaktiv bezeichnet. Nach Anwendung des Metabolismus-Simulators wurde aber für jeweils einen der 6 möglichen Metaboliten die Proteinreaktivität ebenfalls über einen Schiffbasenmechanismus vorhergesagt (Modell „Protein binding by OECD“ für Metabolite: (1/6) MA: Direct Acting Schiff Base Formers|Mechanistic Domain: Schiff Base Formers|Mono-carbonyls; Modell „Protein binding by OASIS“ für Metabolite: (1/6) Schiff base formation with aldehydes).

### 2.2.10 Neue Substanzen aus Expertenbefragung

Die unter 2.2.10.1 bis 2.2.10.5 genannten Inhaltsstoffe wurden in Bezug auf ihre Verwendung in Epoxidharzsystemen von mindestens einem der befragten Experten als relevant aufgrund einer häufigen Verwendung erachtet. Die sensibilisierende Wirkung der Inhaltsstoffe war jedoch teilweise nicht bekannt. Die Substanzen wurden dementsprechend überprüft.

**2.2.10.1 Poly[oxy(methyl-1,2-ethanediyl)],                    ?-(2-aminomethylethyl)-?-(2-aminomethylethoxy) 009046-10-0**

Handelsname: Jeffamine D xxx. Polyoxypropylendiamin

Für die oft verwendeten Härter aus der Produktreihe der D oder ED Jeffamine wurde vom Hersteller darauf hingewiesen, dass insbesondere für die niedermolekularen und somit prinzipiell eher als sensibilisierend erwarteten Jeffamine (z.B. Jeffamin D230, CAS 9046-10-0), Ergebnisse aus in vivo Versuchen vorliegen. Diese belegen, dass die Jeffamine in Meerschweinchen nicht sensibilisierend wirken<sup>11</sup>. Aus diesem Grund werden die Jeffamine in der Bewertung der Wirkstärke sensibilisierender Epoxidharzinhaltsstoffe nicht weiter berücksichtigt.

**2.2.10.2 Polypropylenethylendiamin**

Handelsname: Jeffamine ED

Inhaltsstoff wird nicht weiter berücksichtigt. Begründung siehe 2.2.10.1.

**2.2.10.3 ,12-Octadecadienoic acid (9Z,12Z)-, dimer, polymer with N-(2-aminoethyl)-1,2-ethanediamine 037189-83-6**

Handelsname: Polyamidoamine Versamid xxx

Inhaltsstoff wird nicht weiter berücksichtigt. Begründung siehe 2.2.10.5.

**2.2.10.4 2,2'-dimethyl-4,4'methylenebis(cyclohexylamine) 006864-37-5**

Handelsname: Laromin C260

Der genannte Inhaltsstoff wurde bereits 2010 unter REACH registriert (Tonnageband > 1000 t/a). Auch die angegebenen Verwendungen im Registrierungsdossier deuten auf eine breite Anwendung hin, mit möglicher Exposition von Arbeitern die mit Verbundstoffen (innen und außen) hantieren. Bei dem genannten 2,2'-Dimethyl-4,4'methylenbis(cyclohexylamin) (DMDC) handelt es sich (wie aus der EU-Einstufung zu entnehmen ist: T; R23/24 - Xn; R22 - C; R35 - N; R51-53) um eine stark ätzend wirkende Substanz. Es gibt einen Bericht über eine generalisierte Sklerodermie bei 6 von 233 exponierten Arbeitern aus dem Jahre 1980, die bei der Polymerisation von Kunstharzen gegenüber DMDC exponiert waren. Die Prüfung und Bewertung sensibilisierender Substanzeigenschaften von ätzend wirkenden Substanzen ist schwierig und liefert oft widersprüchliche Ergebnisse. Im REACH Dossier zum Inhaltsstoff sind zwei Versuche an Meerschweinchen berichtet die die sensibilisierenden Eigenschaften untersuchen. In einem Maximierungstest (Thorgeirsson, 1978b; siehe ESR.001) und in einem „Skin Painting Test“ (ESR.002) konnte keine hautsensibilisierende Eigenschaft nachgewiesen werden. Nachdem auch in der öffentlich zugänglichen Fachliteratur (PubMed), nach einer spezifisch auf

---

<sup>11</sup>[http://www.google.de/url?sa=t&rct=j&q=jeffamine%20d230&source=web&cd=4&ved=0CGoQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.whitakeroil.com%2Fproducts-composites.html%3Ffile%3Dtl\\_files%2Fproduct\\_documents%2FMSDS%2Fhuntsman%2Fjeffamine-d230-msds-9-2-10.pdf&ei=zIzXT\\_f3INDwsgaw543PDw&usq=AFQjCNEdbWw34iP2Q7GvTm458q8qyh7D2w&cad=rja](http://www.google.de/url?sa=t&rct=j&q=jeffamine%20d230&source=web&cd=4&ved=0CGoQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.whitakeroil.com%2Fproducts-composites.html%3Ffile%3Dtl_files%2Fproduct_documents%2FMSDS%2Fhuntsman%2Fjeffamine-d230-msds-9-2-10.pdf&ei=zIzXT_f3INDwsgaw543PDw&usq=AFQjCNEdbWw34iP2Q7GvTm458q8qyh7D2w&cad=rja)

sensibilisierende Eigenschaften eingeschränkter Suche, keine Daten über eine sensibilisierende Wirkung des Inhaltsstoffes auffindbar waren und auch keine Humanbefunde bezüglich sensibilisierender Eigenschaften vorlagen (siehe IVDK-Teilbericht 5.4.3), wird auf eine weitere Betrachtung des Inhaltsstoffes verzichtet.

#### **2.2.10.5 Polyaminoamido- imidazolines**

Handelsname: Versamid 140. Untergruppe

Bei den genannten „12-Octadecadienoic acid (9Z,12Z)-, dimer, polymer with N-(2-aminoethyl)-1,2-ethanediamine“ und „Polyaminoamido-imidazolines“ handelt es sich um Substanzen aus der Produktreihe Versamid (Handelsname der BASF). Diese stellen Polymere aus Aminen und Dimeren langkettiger Fettsäuren dar. Im ersten Inhaltsstoffes mit CAS 37189-83-9 ist ein Dimer der Linolsäure (CAS 60-33-3) und das Diethylentriamin (CAS 111-40-0) enthalten. Das von Ihnen genannte Polyaminoamido-imidazoline Versamid 140 besteht laut Hersteller aus „Fatty acids, C18-unsatd., dimers, reaction products with polyethylenepolyamines“ (CAS 68410-23-1) und Triethylentetramin (CAS 112-24-3). Beiden Produkten wird von den Herstellern eine sensibilisierende Wirkung unterstellt. Aus unserer Sicht beruht diese allerdings auf dem Vorhandensein der kurzkettigen Amine und ist nicht insgesamt dem Reaktionsprodukt zuzuordnen. Der Anteil an freiem Amin beträgt hier laut Hersteller zwischen 5 und 10 Volumen-%<sup>12</sup>. Bei Produkten aus dieser Produktionsreihe die weniger als 1 Volumen-% freies Amin enthalten wird keine sensibilisierende Wirkung mehr unterstellt (Beispiel Versamid 115). Die angesprochenen Amine wurden im Projekt bereits ausführlich bewertet (siehe 2.2.3.2 und 2.2.3.5) und dementsprechend wird die Versamid-Produktreihe nicht weiter betrachten,

#### **2.2.10.6 Asparaginsäureester**

Es ist unklar, welche Verbindung(en) gemeint sind, daher erfolgte keine Bearbeitung.

#### **2.2.10.7 Bisphenol-F-Epoxidharz 055492-52-9**

Unter dieser CAS Nr., die ebenfalls ein Epoxidharz auf Basis von DGEHF bezeichnet, sind keine Untersuchungen zur sensibilisierenden Wirkung am Menschen gefunden worden (siehe IVDK-Teilbericht 5.4.3). In der Dissemination-Database sind keine Befunde aus Tierexperimenten genannt. Das DGEHF-Harz wird unter der CAS Nr. 009003-36-5 besprochen.

---

<sup>12</sup>Stoffspezifische Information siehe:

<http://worldaccount.basf.com/wa/NAFTA/Catalog/FunctionalPolymers/pi/BASF/Brand/versamid>

## 2.3 Diskussion und Schlussfolgerung

### 2.3.1 Datenlage

#### – Allgemein

Auf Basis der Anzahl veröffentlichter experimenteller Daten liegen zu einem Drittel der Inhaltsstoffe genügend experimentelle Daten vor (ohne die Humanbefunde zu berücksichtigen), um eine gewichtete Bewertung durchführen zu können (WoE–Ansatz; siehe Abbildung 5). Ebenfalls ein Drittel der Inhaltsstoffe wurde bisher nicht bezüglich ihrer sensibilisierenden Eigenschaften untersucht.

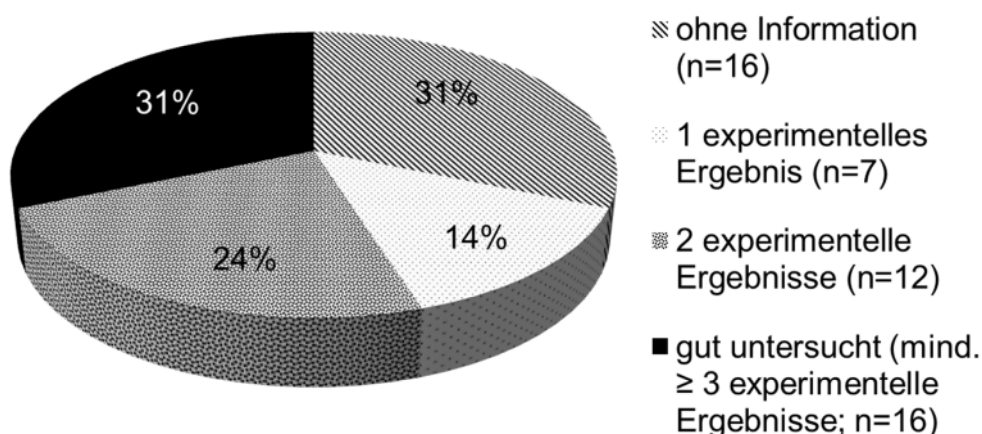


Abbildung 5. Verfügbarkeit experimenteller Daten zu den 51 Inhaltsstoffen

Anhand eines Ampelsystems wird versucht, die Datenlage substanzspezifisch auf die Eignung zur Wirkstärkenbewertung zu überprüfen. Dabei gelten folgende Grundlagen:



Kriterium	Anzahl der Inhaltsstoffe (Bewertung 2011)	Anzahl der Inhaltsstoffe (Bewertung 2012)
Keine/ kaum Daten verfügbar (rot)	19 (37,3 %)	19
„Unvollständiger“ Datensatz → eine quantitative Bewertung ist erst durchzuführen, wenn weitere Testergebnisse vorliegen (orange)	17 (33,3 %)	15
„Vollständiger“ Datensatz → es wird erwartet, dass eine erste quantitative Analyse der Wirkstärke durchführbar ist (grün)	15 (29,4 %)	17



Diese Einteilung wird in Teilbericht 5.3 („Bewertung“) nochmals aufgenommen und bei der substanzspezifischen Begründung im tabellarischen Überblick der Datenlage (Schritt A-D) als farbige Markierung beibehalten.

– **Registrierungsdossier**

Für 26 der zu bewertenden Inhaltsstoffe lag ein IUCLID Datensatz der Substanzregistrierung unter REACH (EC, 2006) vor. Die Datensätze wurden von uns bezüglich der genannten Eigenschaften zur dermalen Absorption und den Studieneinträgen unter dem Stichpunkt Hautsensibilisierung überprüft und enthaltene Informationen sind in den entsprechenden Kapiteln unter 2.2 genannt.

Es wurde beobachtet, dass bei Gruppen ähnlicher Substanzen von der Strategie des Read-across (hier: Übertragung von einer Substanz auf eine strukturähnliche andere Substanz) Gebrauch gemacht wurde. Dies war z.B. bei Pentaethylenhexamin (CAS Nr. 4067-16-7) und Polyethylenpolyamin (CAS Nr. 68131-73-7) der Fall. Bei beiden Inhaltsstoffen wurden Daten von Triethylentetramin (CAS Nr. 112-24-3) genutzt, um vorhandene Datenlücken zu schließen.

Durch REACH wurde die Datenlage insgesamt stark verbessert. Zuvor unveröffentlichte Industriedaten können nun bei entsprechend guter Qualität der Studiendarstellung für die Bewertung der Inhaltsstoffe verwendet werden.

– **Vorschlag zur Testung**

Bisher wurden keine Inhaltsstoffe von Epoxidharzkomponenten mit dem LCSA<sup>13</sup> und dem NCTC2544<sup>14</sup> IL–18 Test überprüft. Diese Tests bieten jedoch die Möglichkeit, eine Wirkstärkenquantifizierung durchzuführen. Ergebnisse könnten eventuell helfen zu Inhaltsstoffen, die sich momentan noch auf der „oranen Datenbasis“ befinden, eine solide Datenbasis zu schaffen, um so eine Bewertung durchführen zu können.

Auch der vorgeschlagenen Tests EST-1000™ oder der CAATC Assay wurde bisher nicht auf die Inhaltsstoffe von Epoxidharzkomponenten angewandt. Die damit erzielte Information wäre nützlich, um Aussagen über die Reizwirkung der Inhaltsstoffe, als möglichen beeinflussenden Faktor, zu gewinnen oder Einblicke über das Ausmaß der Fähigkeit von Substanzen, eine T-Zellaktivierung herbeizuführen, zu erhalten. Die Ergebnisse sind allerdings nicht so essentiell wie die oben genannten (LCSA; NCTC2544 IL–18 Test).

– **In vivo (Schritt B): Bewertung der Wirkstärke im LLNA**

Insgesamt liegen zu 19 der Inhaltsstoffe Ergebnisse aus dem LLNA vor. Ganz formal und nur anhand dieser Daten würden 11 Substanzen (EC3 Werte  $\leq 2\%$ ) als mindestens stark sensibilisierend (Kategorie HS) eingestuft werden. Bei genügend Hinweisen auf eine sehr hohe Sensibilisierungsstärke kann sogar eine konservativere Einstufung in die Kategorie SHS erfolgen. Die EC3 Werte von 6 Inhaltsstoffen befinden sich im Bereich zwischen  $> 2\%$  und  $\leq 10\%$ . Diese Stoffe würden ebenfalls zunächst in die Kategorie HS fallen, da viele Substanzen, die stark humansensibilisierend (d.h. DSA05  $\leq 500\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) wirken, im LLNA EC3 Werte in diesem Bereich aufweisen (ICCVAM, 2011). Bei genügend Hinweisen auf eine

<sup>13</sup> Loose-fit coculture-based Sensitization assay

<sup>14</sup> NCTC2544 humane Keratinozytenzelllinie

geringere Sensibilisierungsstärke kann jedoch eine Umstufung in die Kategorie GMS vorgenommen werden. Zwei Substanzen werden aufgrund ihres EC3 Wertes aus dem LLNA der Kategorie GMS zugeordnet. Bei der Bewertung der Daten aus dem LLNA müssen jedoch immer mögliche Vehikeffekte in Betracht gezogen werden.

– ***In vitro* (Schritt C)**

1. Bioverfügbarkeit

Falls Daten zur dermalen Aufnahme im Registrierungsdossier vorhanden waren, wurden diese bevorzugt verwendet. Wenn keine Studien zum Thema oder insgesamt kein Dossier vorlagen, so wurden die Werte für den dermalen Permeabilitätskoeffizient  $K_p$  mit dem DERMWIN Programm aus der EPI Suite ermittelt. Der  $\log K_p$  wurde anschließend in Excel berechnet. Wenn dieser  $\log K_p$  einen Wert von kleiner -5 annimmt, so gibt DEREK beispielsweise an, dass die untersuchte Substanz vermutlich nicht hautsensibilisierend wirkt. Dies ist bei der erfolgten Untersuchung in den folgenden fünf Härtern von den 44 untersuchten Inhaltsstoffen (bei insgesamt 51 Substanzen) der Fall.

- N-(2-Aminoethyl)-3-amino-propyltrimethoxysilan (CAS Nr. 1760-24-3)
- Tetraethylenpentamin (CAS Nr. 112-57-2)
- Pentaethylenhexamin (3,6,9,12-tetraazatetradecamethylenediamine) (CAS Nr. 4067-16-7)
- Polyethylenpolyamin (CAS Nr. 68131-73-7)
- Triethylentetramin (CAS Nr. 112-24-3)

Wie oben erwähnt konnte für sieben der 51 Inhaltsstoffe keine Auswertung stattfinden, da die zugeordneten CAS Nummern in der Software mit keiner eindeutigen Struktur hinterlegt waren. Ohne diese Struktur (in Form eines SMILES Codes) erfolgt keine Berechnung des  $\log K_{OW}$  oder des  $K_p$ . Im Folgenden genannte Inhaltsstoffe waren davon betroffen:

- Bisphenol A-Harze (CAS Nr. 25068-38-6)
- Reaktionsprodukt Bisphenol A Epichlorhydrin (CAS Nr. 25085-99-8)
- Bisphenol F-Harze (CAS Nr. 9003-36-5)
- Bisphenol-F-Epichlorhydrin (CAS Nr. 28064-14-4)
- Polyethylenamine (CAS Nr. 26336-38-9)
- Polypropylenglykoldiglycidylether (CAS Nr. 26142-30-3)
- m-Xylylendiamin / Acrylonitril Adduct (CAS Nr. 73050-11-0)

Bei der Berechnung des  $K_p$  mit Hilfe der EPI Suite wird auch das Molekulargewicht ausgegeben (wird für die Berechnung benötigt, siehe Gleichung aus Guy und Potts, 1993). Bei allen Inhaltsstoffen, für die eine Berechnung erfolgte, wurde ein Molekulargewicht von < 500 Da festgestellt. Mit einer Ausnahme: bei Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)-ethylamino)-3-methyl-cyclohexyl)methane (CAS Nr. 136210-32-7) beträgt das Molekulargewicht 582 Da. Es wird angenommen, dass die Substanz

im Vergleich zu anderen Substanzen mit ähnlichen physikalisch chemischen Eigenschaften, aber geringerer Größe schlechter die Haut durchdringen kann.

## 2. Haptenisierung

Ein dem DPRA ähnlicher Test wurde von Niklasson und Mitarbeiter (2009) durchgeführt. Sie führen am Beispiel von Epoxidharzkomponenten eine mechanistisch begründete Differenzierung durch und fanden, dass diese Analyse zu einer guten Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus dem LLNA-Test führt. Von den Autoren wurden folgende allgemeinen Aussagen bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke postuliert.

- Eine Substanz wirkt geringer sensibilisierend wenn der Abstand zwischen dem Epoxid und dem Sauerstoffmolekül der Etherfunktion erhöht wird.
- Eine Substanz wirkt geringer sensibilisierend wenn der Abstand zwischen dem aromatischen Ring und dem Sauerstoffmolekül der Etherfunktion erhöht wird.
- Die Distanzerhöhung zwischen Etherfunktion und Epoxidfunktion beeinflusst anscheinend die Sensibilisierungsstärke stärker, als der Abstand zwischen Etherfunktion und aromatischem Ring.
- Das Vorhandensein eines aromatischen Rings erhöht die sensibilisierende Wirkstärke im Vergleich zu einem abgesättigten Ringsystem. Und ein azyklisches Epoxid zeigt eine noch geringere Wirkstärke.

Vorgängerarbeiten dieser Gruppe zeigen auch das allylische Epoxide (d.h. R-C=C-Epoxid; im vorliegenden Projekt nicht vorhanden) im Vergleich zu ihren nicht allylischen Analogon (d.h. R-C-C-Epoxid) stärker sensibilisierend wirken (Bergström et al., 2006). Eine neuere Arbeit derselben Arbeitsgruppe besagt, dass Substanzen, die ein Heteroatom in alpha Stellung zur Epoxidfunktion besitzen (z.B. PGE oder BGE), stark sensibilisierend wirken, im Vergleich zu Substanzen, die kein Heteroatom aufweisen (im vorliegenden Projekt nicht vorhanden). Belegt wurde dies mit Daten aus dem LLNA und aus Peptidreaktivitätsassays (Niklasson et al., 2011).

Aus der erstgenannten Arbeit liegen Ergebnisse zu den Inhaltsstoffen

- Phenylglycidylether (CAS Nr. 122-60-1) und
- Butyl-glycidylether (CAS Nr. 2426-08-6)

vor.

### – ***In silico* (Schritt D)**

#### 1. TOXTREE (SMARTS) → Hinweis auf Reaktionsmechanismus<sup>15</sup>

Mit TOXTREE konnten insgesamt 50 der 52 Substanzen bewertet. Für 2 der Substanzen konnten kein SMARTS entwickelt werden und eine Bewertung war somit unmöglich.

39, der überprüften 51 Inhaltsstoffe, wurde jeweils ein Strukturhinweis für eine chemische Domäne zugeordnet. Bei zwei Substanzen wurden zwei Strukturhinweise identifiziert, die für zwei chemische Reaktivitätsdomänen codieren (Bisphenol F-

---

<sup>15</sup> Proteinbindungsmechanismen sind in Abschnitt 4 dieses Teilberichts näher erläutert.

Harze; Schiff'sche Base und  $S_N2$ ; Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid: acylierendes Agens und Michael Akzeptor).

Am häufigsten waren Hinweise auf eine Reaktivität gemäß dem  $S_N2$  Mechanismus (18 Inhaltsstoffe) oder der Schiffbasenbildung (19 Inhaltsstoffe).

Für 9 Inhaltsstoffe konnte anhand des Vergleichs ihrer Struktur mit den hinterlegten Strukturhinweisen keine mechanistische Reaktivitätsdomäne zugewiesen werden.

## 2. OECD QSAR Toolbox

### *Profiling der chemischen Reaktivität*

Keine der Substanzen konnte anhand des „Protein binding potency“ Modells bewertet werden („Not possible to classify according to these rules“; wahrscheinlich, da keine  $RC_{50}$  Werte für deren Thiol-Reaktivität vorlagen). Eine Bewertung erfolgte nur für 4 nicht näher beschriebene Metabolite der Ausgangsubstanzen.

Für die Proteinbindung nach OECD und OASIS wurde deutlich, dass für die Muttersubstanzen keine unterschiedliche Vorhersage gemacht wurde. Wurde bei einer Substanz kein Potential zur Proteinbindung in einer der beiden Datenbanken gefunden so wurde ebenfalls keines in der anderen Datenbank identifiziert. Dies ist für eine Vielzahl der Metabolite jedoch nicht so. Teilweise enthielt die OECD Datenbank Strukturhinweise auf Proteinbindungspotential des jeweiligen Metaboliten und vice versa. Ein Grund kann sein, dass die Datenbanken unterschiedliche Strukturdomänen beinhalten, die die jeweilig andere nicht inkludiert.

Mit Hilfe der zwei weiteren Proteinbindungsmodelle („Protein binding by OECD“; „Protein Binding by OASIS“) war es möglich, zu 23 der 51 Inhaltsstoffe eine Aussage bezüglich der chemischen Reaktivität im Sinne der mechanistischen Domäne zu erhalten. Für 28 Inhaltsstoffe waren in den Modellen keine Strukturhinweise hinterlegt, die eine Proteinreaktivität vermuten ließen. Folglich war für diese Inhaltsstoffe keine qualitative bzw. quantitative Aussage mittels Daten-Übertragung innerhalb einer Kategorie mit Hilfe der OECD-Toolbox möglich.

Im Anschluss wurden durch Verwendung des Metabolismus-Simulator 13 (im OECD Modell) bzw. 18 (im OASIS Modell) Inhaltsstoffe identifiziert, bei denen mindestens ein möglicher Metabolit Strukturhinweise auf eine chemische Reaktivität gegenüber Proteinen offenbart. Die Aussagen der OECD-Toolbox in Bezug auf Proteinbindung und somit positives Sensibilisierungspotential sind im Vergleich zu TOXTREE (siehe oben) eher unterschätzend (geringe Sensitivität). Eine Kombination beider Systeme scheint daher sinnvoll, um zumindest qualitativ (d.h. Zuordnung einer mechanistischen Domäne) zu einer Aussage zu finden.

Bisher wurde für die als reaktiv identifizierten Inhaltsstoffe bzw. deren Metabolite jedoch noch keine Datenübertragung (Read-across) durchgeführt, da die Erstellung einer toxikologisch abgesicherten Kategorie einer sehr zeitaufwendigen, händischen Auswahl geeigneter Substanzen aus der Vielzahl der präsentierten Kandidaten bedarf. Es wird vorgeschlagen, dass zunächst die Einzelstoffbewertung durchgeführt wird und nur in begründeten Fällen die Toolbox für eine weitere Bewertung in Betracht gezogen wird.

Nicht alle der erzielten Domänenzuordnungen sind realistisch. Beispielsweise wurde das Bisphenol F-Harze (CAS. Nr. 9003-36-5; siehe 2.2.1.5) als Schiffbasenbildner

identifiziert (aufgrund des Strukturhinweises Mono-Carbonyl  $\text{CH}_2=\text{O}$ ). Dieser Strukturhinweis spiegelt jedoch nicht das realistische Verhalten des Inhaltsstoffes wider und wird deswegen nicht in die Bewertung miteinbezogen.

### 3. Molcode (QMRF Nr.: Q17-10-1-241)

Das QSAR Modell zur Berechnung von Werten, wie sie mit dem LLNA ermittelt werden würden, ist nicht öffentlich zugänglich. Es scheint jedoch das einzige Modell zu sein, mit dem anstatt von qualitativen Aussagen zum Wirkmechanismus eine tatsächliche Bewertung der Wirkstärke von sensibilisierenden Substanzen möglich ist. Für das vorliegende Projekt wurde Kontakt mit den Entwicklern aufgenommen. Im Rahmen dieser Kommunikation konnten erste Ergebnisse für fünf der hier zu bewertenden Substanzen erhalten werden.

Dies waren:

- das Epoxidharz Bisphenol A diglycidyl ether (CAS Nr. 1675-54-3)
- die Härter N,N-Dimethyl-1,3-propandiamin (CAS Nr. 109-55-7) und
- Phthalsäureanhydrid (CAS Nr. 85-44-9), sowie
- Die Reaktivverdünner n-Butyl glycidyl ether (CAS Nr. 2426-08-6) und
- 1,4-Bis(2,3-epoxypropoxy)butan (CAS Nr. 2425-79-8).

Bisher wurden nur die Wirkstärkeklassen mitgeteilt und die Tatsache, dass die Chemikalien innerhalb der Anwendungsdomäne des Systems liegen. Eine Dokumentierung und ausführliche Beschreibung der Ergebnisse bedarf jedoch einer Kostenübernahme, die so momentan im Projekt nicht vorgesehen ist.

### 3 Abkürzungen/Glossar

Absorption	Bezeichnet die Aufnahme einer Substanz in ein biologisches System und entspricht im vorliegenden Bericht dem im deutschen ebenfalls verwendeten (veralteten) Begriff Resorption.
AOO	Aceton/Olivenöl, Standardvehikel im LLNA
BAuA	Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin
BGETEM	Berufsgenossenschaft Energie Textil Elektro Medienerzeugnisse
CMR–Stoffe	Stoffe, die aufgrund ihrer Substanzeigenschaften als kanzerogen, keimzellmutagen oder reproduktionstoxisch eingestuft werden
DGEBA	Bisphenol A-diglycidylether
DPRA	Direct Peptide Reactivity Assay (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1)
ESR	„Endpoint study record“, Studieneintrag im IUCLID Datensatz der Registrierungspflichtigen einer Substanz unter REACH (EC, 2006)
FCA	„Freund’s Complete Adjuvant“ im Gegensatz zu „Freund’s Incomplete Adjuvant“
Freund–Adjuvans	durch Hitze abgetötete Mykobakterien in Mineralöl, zur unspezifischen Aktivierung des Immunsystems, dadurch erhöhte Empfindlichkeit der Testmethode (entspricht FCA)
GPMT	Guinea pig maximisation test (Maximierungstest am Meerschweinchen; siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1)
$K_{O/W}$	Oktanol–Wasser–Verteilungskoeffizient, $\log K_{O/W}$ ist ein einfaches Maß für die Bioverfügbarkeit (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1)
$K_p$	Permeabilitätskoeffizienten, ein einfaches Maß für die Hautdurchdringung (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1)
LCSA	Loose–fit coculture–based Sensitization assay (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1)
LLNA	Local lymph node assay (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1)
MW	Molekulargewicht
NCTC2544	humane Keratinozytenzelllinie, die Messung des Interleukin-18 Spiegels nach Substanzzugabe wird genutzt, um Aussagen über die Fähigkeit der Substanz die Keratinozyten zu aktivieren (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1)
PBT–Stoffe	Stoffe, die nach den gesetzten Kriterien (siehe beispielsweise Anhang XIII der REACH-VO (EC, 2006)) persistent, bioakkumulierbar und toxisch sind

PI	Wirkstärkenindex (von englisch: “potency index”) verwendet in (Gad, 1988)
PSS	„Predicted skin sensitization scores“ aus der Publikation von Golla et al., 2009
RA	siehe Read-across
REACH-VO Anhang XIV	Verzeichnis zulassungspflichtiger Stoffe
Read-across	hier: Übertragung von Daten einer Substanz auf eine strukturähnliche andere Substanz
SD	Standardabweichung
SS	„Skin sensitization scores“ aus der Publikation von Golla et al., 2009
SVHC	substance of very high concern; Kandidaten für das Verzeichnis zulassungspflichtiger Stoffe gemäß der REACH-VO (EC, 2006), darunter fallen beispielsweise CMR, PBT oder vPvB Stoffe
vPvB-Stoffe	Stoffe, die nach den gesetzten Kriterien (siehe beispielsweise Anhang XIII der REACH-VO (EC, 2006)) sehr persistent und sehr bioakkumulierbar sind

## 4 Proteinbindungsreaktion – mechanistische Domänen

Wie bereits an verschiedenen Stellen erwähnt spielt die chemische Reaktivität einer Substanz eine entscheidende Rolle für deren kontaktallergene Wirkung. Dabei wirken die humanen Proteine als Nukleophile und das Kontaktallergen als Elektrophil. Reaktive Chemikalien können meist einer der folgenden mechanistischen Domäne zugeordnet werden (siehe Abbildung 6).

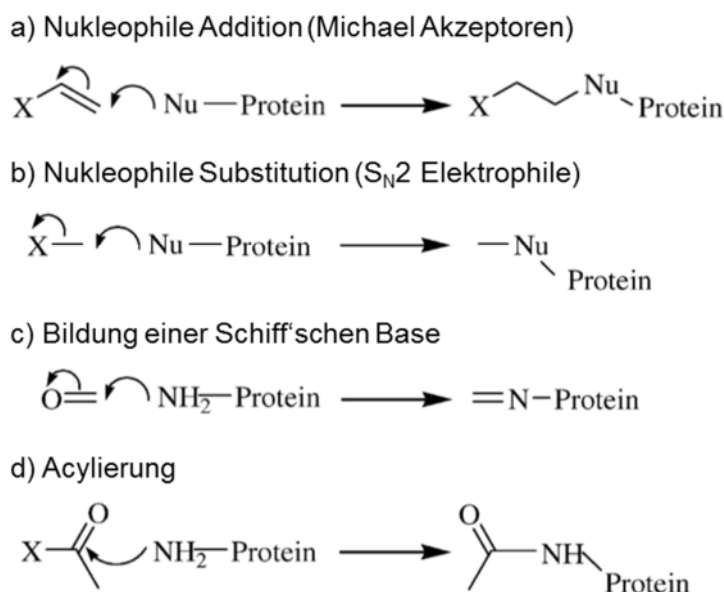


Abbildung 6. Verschiedene mechanistische Domänen<sup>16</sup>

**a)** Michael Akzeptoren besitzen an der Doppel- oder Dreifachbindung einen elektrophilen Substituenten X (beispielsweise –CHO, –COR, –CO<sub>2</sub>R, –CN, –SO<sub>2</sub>R oder –NO<sub>2</sub>). X kann auch eine heterozyklische Gruppe darstellen. **b)** X wird meist durch ein Halogen oder eine andere Abgangsgruppe (z.B. OSO<sub>2</sub>O(R oder AR)) repräsentiert, diese sind dann am primären Alkyl-, Benzyl- oder Allylkohlenstoff positioniert. OR, NHR und NR<sub>2</sub> dienen normalerweise nicht als Abgangsgruppe, können aber in Ausnahmefällen (wenn sie ein Teil einer 3er-Ringstruktur sind, wie z.B. Epoxide, Ethenimine und substituierte Derivate) auch dazu dienen. **c)** Die Bildung Schiff'scher Basen wird von reaktiven Carbonylverbindungen ausgeführt (z.B. aliphatische Aldehyde, einige α,β- und α,γ-Diketone sowie α-Ketoester). Andere ungesättigten Heterosysteme können analog wirksam sein (z.B. C-Nitroso- oder Thiocarbonylverbindungen, (C=S), Cyanate bzw. Isocyanate und deren Schwefelanaloga). **d)** X ist ein Halogen oder eine andere Gruppe (z.B. –OC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) die dazu führt, dass XH einen ausreichend sauren Charakter besitzt, so dass X<sup>-</sup> gut als Abgangsgruppe dienen kann. Beispiele für acylierende Agenzien sind zyklische und nicht-zyklische Anhydride.

<sup>16</sup> Abbildung 6 wurde angepasst mit Erlaubnis von Aptula, A.O. und Roberts, D.W.: Mechanistic applicability domains for nonanimal-based prediction of toxicological end points: general principles and application to reactive toxicity in *Chemical Research in Toxicology*, 19, 1097-1105, 2006; © 2012 American Chemical Society



Die Gruppe der  $S_NAr$  Elektrophile, die eine nukleophile Substitution am ungesättigten Zentrum durchführen, sind hier nicht näher beschrieben, da sie für die Inhaltsstoffe im Projekt nicht relevant sind.

## 5 Literatur

Basketter, D.A.; Scholes, E.W. (1992)

Comparison of the local lymph node assay with the guinea-pig maximization test for the detection of a range of contact allergens

*Food and Chemical Toxicology*, 30, 65-69

Basketter, D.A.; Scholes, E.W.; Kimber, I. (1994)

The performance of the local lymph node assay with chemicals identified as contact allergens in the human maximization test

*Food and Chemical Toxicology*, 32, 543-547

Bauch, C.; Eltze, T.; Fabian, E.; Kollé, S.N.; Pachel, C.; Ramirez, T.; Wiench, B.; Wruck, C.J.; van Ravenzwaay, B.; Landsiedel, R. (2011)

In-house Validation of four in vitro methods to replace the LLNA: MUSST, h-CLAT, KeratinoSens® and DPRA. P414

Poster präsentiert auf der DGPT-Tagung 30.03.2011 – 01.04.2011, Frankfurt am Main

Bauch, C.; Kollé, S.N.; Ramirez, T.; Eltze, T.; Fabian, E.; Mehling, A.; Teubner, W.; van Ravenzwaay, B.; Landsiedel, R. (2012)

Putting the parts together: combining *in vitro* methods to test for skin sensitizing potentials

*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 63, 489-504

Bergström, M.A.; Luthman, K.; Nilsson, J.L.; Karlberg, A.T. (2006)

Conjugated dienes as prohaptens in contact allergy: in vivo and in vitro studies of structure-activity relationships, sensitizing capacity, and metabolic activation

*Chemical Research in Toxicology*, 19, 760-769

Botham, P.; Urtizberea, M.; Wiemann, C.; Manciaux, X.; Tilbury, L.; Vohr, H.-W.; Allen, S.; Carmichael, N.G.; de Jouffrey, S. (2005)

A comparative study of the sensitivity of the 3-induction and 9-induction Buehler test procedures for assessing skin sensitisation potential

*Food and Chemical Toxicology*, 43, 65-75

Cornacoff, J.B.; House, R.V.; Dean, J.H. (1988)

Comparison of a radioisotopic incorporation method and the mouse ear swelling test (MEST) for contact sensitivity to weak sensitizers

*Fundamental and Applied Toxicology*, 10, 40-44

Cronin, M.T.D.; Basketter, D.A. (1994)

Multivariate QSAR analysis of a skin sensitization database

*SAR and QSAR in Environmental Research*, 2, 159-179

Dearman, R.J.; Warbrick, E.V.; Humphreys, I.R.; Kimber, I. (2000)

Characterization in mice of the immunological properties of five allergenic acid anhydrides

*Journal of Applied Toxicology*, 20, 221-230

Delaine, T.; Niklasson, I.B.; Emter, R.; Luthman, K.; Karlberg, A.T.; Natsch, A. (2011)

Structure-activity relationship between the in vivo skin sensitizing potency of analogues of phenyl glycidyl ether and the induction of Nrf2-dependent luciferase activity in the KeratinoSens in vitro assay

*Chemical Research in Toxicology*, 24, 1312-1318

EC, European Commission (2006)

Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council

Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC  
OJ L 396, 30.12.2006

ECHA, European Chemicals Agency (2012)  
Information on Chemicals - Registered Substances  
Online: <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals/registered-substances>, Disclaimer: <http://echa.europa.eu/web/guest/legal-notice>

Emter, R.; Ellis, G.; Natsch, A. (2010)  
Performance of a novel keratinocyte-based reporter cell line to screen skin sensitizers in vitro  
*Toxicology and Applied Pharmacology*, 245, 281-290

Enoch, S.J.; Madden, J.C.; Cronin, M.T. (2008)  
Identification of mechanisms of toxic action for skin sensitisation using a SMARTS pattern based approach  
*SAR and QSAR in Environmental Research*, 19, 555-578

Eriksen, K. (1979)  
Sensitization capacity of ethylenediamine in the guinea pig and induction of unresponsiveness  
*Contact Dermatitis*, 5, 293-296

EU, Europäische Union (2011)  
Verordnung (EU) Nr. 286/2011 der Kommission vom 10. März 2011 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen zwecks Anpassung an den technischen und wissenschaftlichen Fortschritt  
*Amtsblatt der Europäischen Union. L 83*, 54, 1-57

Fedorowicz, A.; Singh, H.; Soderholm, S.; Demchuk, E. (2005)  
Structure-activity models for contact sensitization  
*Chemical Research in Toxicology*, 18, 954-969

Fregert, S. (1977)  
Contamination of chemico-technical preparations with formaldehyde from packages  
*Contact Dermatitis*, 3, 109-110, zitiert nach Lachapelle et al., 1978

Gad, S.C. (1988)  
A scheme for the prediction and ranking of relative potencies of dermal sensitizers based on data from several systems  
*Journal of Applied Toxicology*, 8, 361-368

Gad, S.C.; Dunn, B.J.; Dobbs, D.W.; Reilly, C.; Walsh, R.D. (1986)  
Development and validation of an alternative dermal sensitization test: the mouse ear swelling test (MEST)  
*Toxicology and Applied Pharmacology*, 84, 93-114

Gamer, A.O.; Nies, E.; Vohr, H.-W. (2008)  
Local lymph node assay (LLNA): comparison of different protocols by testing skin-sensitizing epoxy resin system components  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52, 290-298

Gerberick, G.F.; Ryan, C.A.; Kern, P.S.; Dearman, R.J.; Kimber, I.; Patlewicz, G.Y.; Basketter, D.A. (2004a)  
A chemical dataset for evaluation of alternative approaches to skin-sensitization testing  
*Contact Dermatitis*, 50, 274-288

Gerberick, G.F.; Ryan, C.A.; Kern, P.S.; Schlatter, H.; Dearman, R.J.; Kimber, I.; Patlewicz, G.; Basketter, D.A. (2005)

Compilation of historical local lymph node data for the evaluation of skin sensitization alternatives  
*Dermatitis*, 16, 157-202

Gerberick, G.F.; Vassallo, J.D.; Bailey, R.E.; Chaney, J.G.; Morrall, S.W.; Lepoittevin, J.P. (2004b)

Development of a peptide reactivity assay for screening contact allergens  
*Toxicological Sciences*, 81, 332-343

Golla, S.; Madihally, S.; Robinson, R.L.; Gasem, K.A.M. (2009)

Quantitative structure-property relationship modeling of skin sensitization: A quantitative prediction  
*Toxicology In Vitro*, 23, 454-465

Goodwin, B.F.J.; Crevel, R.W.R.; Johnson, A.W. (1981)

A comparison of three guinea-pig sensitization procedures for the detection of 19 reported human contact sensitizers

*Contact Dermatitis*, 7, 248-258

Guy, R.H.; Potts, R.O. (1993)

Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model  
*American Journal of Industrial Medicine*, 23, 711-719

Hayashi, M.; Higashi, K.; Kato, H.; Kaneko, H. (2001)

Assessment of preferential Th1 or Th2 induction by low-molecular-weight compounds using a reverse transcription-polymerase chain reaction method: comparison of two mouse strains, C57BL/6 and BALB/c

*Toxicology and Applied Pharmacology*, 177, 38-45

Henck, J.W.; Lockwood, D.D.; Olson, K.J. (1980)

Skin sensitization potential of trisodium ethylenediaminetetraacetate  
*Drug and Chemical Toxicology*, 3, 99-103

Hinz, R.S.; Lorence, C.R.; Hodson, C.D.; Hansch, C.; Hall, L.L.; Guy, R.H. (1991)

Percutaneous penetration of para-substituted phenols in vitro  
*Fundamental and Applied Toxicology*, 17, 575-583

Hotchkiss, S.A.; Hewitt, P.; Caldwell, J. (1993)

Percutaneous absorption of 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline) and 4,4'-methylenedianiline through rat and human skin in vitro

*Toxicology In Vitro*, 7, 141-148

ICCVAM, Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (2009)

Revised Draft Assessment of the Validity of the LLNA for Mixtures, Metals, and Aqueous Solutions. Addendum No. 1 to the ICCVAM Report: The Murine Local Lymph Node Assay (LLNA): A Test Method for Assessing the Allergic Contact Dermatitis Potential of Chemicals/Compounds (NIH Pub. No. 99-4494)

<http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/immunotox/LLNA-app/BRD.pdf>

Jacobs, J.L.; Golden, T.S.; Kelley, J.J. (1940)

Immediate reactions, to anhydrides, of wheal-and-erythema type  
*Experimental Biology and Medicine*, 43, 74-77

Kennedy, G.L. (1991)

Toxicity of 1,4-bis(aminocyclohexyl)methane  
*Journal of Applied Toxicology*, 11, 367-371

Kennedy, G.L. (2007)

Review of the toxicology of three alkyl diamines

*Drug and Chemical Toxicology*, 30, 145-157

Kimber, I.; Hilton, J.; Dearman, R.J.; Gerberick, G.F.; Ryan, C.A.; Basketter, D.A.; Lea, L.; House, R.V.; Ladics, G.S.; Loveless, S.E.; Hastings, K.L. (1998)

Assessment of the skin sensitization potential of topical medicaments using the local lymph node assay: an interlaboratory evaluation

*Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 53, 563-579

Kimber, I.; Hilton, J.; Weisenberger, C. (1989)

The murine local lymph node assay for identification of contact allergens: a preliminary evaluation of in situ measurement of lymphocyte proliferation

*Contact Dermatitis*, 21, 215-220

Klecak, G. (2004)

Test methods for allergic contact dermatitis in animals

In: Zhai, H.; Maibach, H.I., *Dermatotoxicology*, 6. ed., Informa Healthcare,

Leung, H.-W.; Auletta, C.S. (1997)

Evaluation of skin sensitization and cross-reaction of nine alkyleneamines in the guinea pig maximization test

*Journal of Toxicology / Cutaneous and Ocular Toxicology*, 16, 189-195

Maisey, J.; Miller, K. (1986)

Assessment of the ability of mice fed on vitamin A supplemented diet to respond to a variety of potential contact sensitizers

*Contact Dermatitis*, 15, 17-23

Maisey, J.; Purchase, R.; Robbins, M.C.; Miller, K. (1988)

Evaluation of the sensitising potential of 4 polyamines present in technical triethylenetetramine using 2 animal species

*Contact Dermatitis*, 18, 133-137

Modjtahedi, B.S.; Fortenbach, C.R.; Marsano, J.G.; Gandhi, A.M.; Staab, R.; Maibach, H.I. (2011)

Guinea pig sensitization assays: an experimental comparison of three methods

*Cutaneous and Ocular Toxicology*, 30, 129-137

Natsch, A.; Emter, R.; Ellis, G. (2009)

Filling the concept with data: integrating data from different *in vitro* and *in silico* assays on skin sensitizers to explore the battery approach for animal-free skin sensitization testing

*Toxicological Sciences*, 107, 106-121

NIH, National Institutes of Health (1999)

The Murine Local Lymph Node Assay: A Test Method for Assessing the Allergic Contact Dermatitis Potential of Chemicals/Compounds. The Results of an Independent Peer Review Evaluation. Coordinated by the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM). NIH Publication No. 99-4494

National Institute of Environmental Health Sciences, U.S. Public Health Service, Department of Health and Human Services

[http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/immunotox\\_docs/llna/llnarep.pdf](http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/immunotox_docs/llna/llnarep.pdf)

Niklasson, I.B.; Broo, K.; Jonsson, C.; Luthman, K.; Karlberg, A.-T. (2009)

Reduced sensitizing capacity of epoxy resin systems: a structure-activity relationship study

*Chemical Research in Toxicology*, 22, 1787-1794

Niklasson, I.B.; Delaine, T.; Luthman, K.; Karlberg, A.T. (2011)

Impact of a heteroatom in a structure-activity relationship study on analogues of phenyl glycidyl ether (PGE) from epoxy resin systems

*Chemical Research in Toxicology*, 24, 542-548

NLM, U.S. National Library of Medicine (2012)

PubMed

online: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed>

Nukada, Y.; Ashikaga, T.; Sakaguchi, H.; Sono, S.; Mugita, N.; Hirota, M.; Miyazawa, M.; Ito, Y.; Sasa, H.; Nishiyama, N. (2011)

Predictive performance for human skin sensitizing potential of the human cell line activation test (h-CLAT)

*Contact Dermatitis*, 65, 343-353

Pontén, A.; Zimerson, E.; Bruze, M. (2009)

Sensitizing capacity and cross-reactivity of phenyl glycidyl ether studied in the guinea-pig maximization test

*Contact Dermatitis*, 60, 79-84

Pontén, A.; Zimerson, E.; Sörensen, O.; Bruze, M. (2002)

Sensitizing capacity and cross-reaction pattern of the isomers of diglycidyl ether of bisphenol F in the guinea pig

*Contact Dermatitis*, 47, 293-298

Rudzki, E.; Krajewska, D. (1976)

Cross-reactions between ethylenediamine, diethylenetriamine and triethylenetetramine

*Contact Dermatitis*, 2, 311-313

Rudzki, E.; Krajewska, D. (1979)

Contact sensitivity to phenylglycidyl ether

*Dermatosen in Beruf und Umwelt*, 27, 42-44

Sakaguchi, H.; Ashikaga, T.; Miyazawa, M.; Kosaka, N.; Ito, Y.; Yoneyama, K.; Sono, S.; Itagaki, H.; Toyoda, H.; Suzuki, H. (2009)

The relationship between CD86/CD54 expression and THP-1 cell viability in an in vitro skin sensitization test - human cell line activation test (h-CLAT)

*Cell Biology and Toxicology*, 25, 109-126

Sakaguchi, H.; Ryan, C.; Ovigne, J.M.; Schroeder, K.R.; Ashikaga, T. (2010)

Predicting skin sensitization potential and inter-laboratory reproducibility of a human Cell Line Activation Test (h-CLAT) in the European Cosmetics Association (COLIPA) ring trials

*Toxicology In Vitro*, 24, 1810-1820

Stevens, M.A. (1967)

Use of the albino guinea-pig to detect the skin-sensitizing ability of chemicals

*British Journal of Industrial Medicine*, 24, 189-202

Thorgeirsson, A. (1978a)

Sensitization capacity of epoxy reactive diluents in the guinea pig

*Acta Dermato-Venereologica*, 58, 329-331

Thorgeirsson, A. (1978b)

Sensitization capacity of epoxy resin hardeners in the guinea pig

*Acta Dermato-Venereologica*, 58, 332-336

Thorgeirsson, A.; Fregert, S. (1977)

Allergenicity of epoxy resins in the guinea pig

*Acta Dermato-Venereologica*, 57, 253-256

Thorgeirsson, A.; Fregert, S.; Magnusson, B. (1975)

Allergenicity of epoxy-reactive diluents in the guinea pig  
*Berufs-Dermatosen*, 23, 178-183

Thorgeirsson, A.; Fregert, S.; Ramnas, O. (1978)  
Sensitization capacity of epoxy resin oligomers in the guinea pig  
*Acta Dermato-Venereologica*, 58, 17-21

van Och, F.M.M.; Slob, W.; de Jong, W.H.; Vandebriel, R.J.; van Loveren, H. (2000)  
A quantitative method for assessing the sensitizing potency of low molecular weight chemicals using a local lymph node assay: employment of a regression method that includes determination of the uncertainty margins  
*Toxicology*, 146, 49-59

Wahlberg, J.E.; Boman, A. (1985)  
Guinea pig maximization test  
*Current Problems in Dermatology*, 14, 59-106

Warbrick, E.V.; Dearman, R.J.; Ashby, J.; Schmezer, P.; Kimber, I. (2001)  
Preliminary assessment of the skin sensitizing activity of selected rodent carcinogens using the local lymph node assay  
*Toxicology*, 163, 63-69

Weil, C.S.; Condra, N.; Haun, C.; Striegel, J.A. (1963)  
Experimental carcinogenicity and acute toxicity of representative epoxides  
*American Industrial Hygiene Association Journal*, 24, 305-325

Wright, Z.; Basketter, D.A.; Blaikie, L.; Cooper, K.J.; Warbrick, E.V.; Dearman, R.J.; Kimber, I. (2001)  
Vehicle effects on skin sensitizing potency of four chemicals: assessment using the local lymph node assay  
*International Journal of Cosmetic Science*, 23, 75-84

Zhang, X.-D.; Lötvall, J.; Arakawa, H.; Welinder, H.; Skerfving, S. (1998)  
Relationship between IgG1 levels and airway responses in guinea pigs actively and passively sensitized to hexahydrophthalic anhydride  
*Allergy*, 53, 20-27

Zschunke, E.; Behrbohm, P. (1965)  
Ekzem durch Phenoxypropenoxyd und ähnliche Glyzidäther  
*Dermatologische Wochenschrift*, 151, 480-484

Forschungsvorhaben

**„Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen  
aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke“**

gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung

Kennziffer FP-0324

Teilprojekt 5.4.3

des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK)

**„Literaturstudie über allergologische Humanbefunde  
zu Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen“**

Prof. Dr. med. Johannes Geier  
Dr. rer. nat. Holger Lessmann  
Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK)  
Institut an der Universität Göttingen  
von-Siebold-Str. 3  
37075 Göttingen  
Tel. 0551 398984  
e-mail: [jgeier@gwdg.de](mailto:jgeier@gwdg.de)  
<http://www.ivdk.org>





**Inhaltsverzeichnis**

			Seite
0	Verzeichnis der Abkürzungen		D 5
1	Hintergrund und verwendete Quellen		D 6
2	Beschreibung der verwendeten Methoden		D 8
3	Stoffdatenanalyse		D 10
3.1	Epoxidharze		D 10
3.1.1	Bisphenol A-Harze	CAS 025068-38-6	D 10
3.1.2	Reaktionsprodukt Bisphenol A Epichlorhydrin	CAS 025085-99-8	D 21
3.1.3	Bisphenol-A-Epichlorhydrin MW 340	CAS 001675-54-3	D 22
3.1.4	Bisphenol F-Harze	CAS 009003-36-5	D 23
3.1.5	Bisphenol-F-Epichlorhydrin	CAS 028064-14-4	D 26
3.2	Härter, aromatische Amine		D 27
3.2.1	4,4'-Diaminodiphenylmethan	CAS 000101-77-9	D 27
3.3	Härter, aliphatische Amine		D 34
3.3.1	Ethylendiamin	CAS 000107-15-3	D 34
3.3.2	Diethylentriamin	CAS 000111-40-0	D 38
3.3.3	Dipropylentriamin	CAS 000056-18-8	D 43
3.3.4	Trimethylhexamethylendiamin (TMD)	CAS 025620-58-0	D 44
3.3.5	Triethylentetramin	CAS 000112-24-3	D 46
3.3.6	N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan	CAS 000109-55-7	D 51
3.3.7	Tetraethylenpentamin	CAS 000112-57-2	D 53
3.3.8	Pentaethylenhexamin	CAS 004067-16-7	D 55
3.3.9	Polyethylenpolyamin	CAS 068131-73-7	D 56
3.3.10	Polyethylenamine	CAS 026336-38-9	D 57
3.4	Härter, cycloaliphatische Amine		D 58
3.4.1	4,4'-Diaminocyclohexylmethan	CAS 001761-71-3	D 58
3.4.2	Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methane	CAS 136210-32-7	D 60
3.4.3	N-Aminoethylpiperazin, 2-Piperazin-1-ylamin	CAS 000140-31-8	D 61
3.4.4	Isophorondiamin (IPD), 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamin	CAS 002855-13-2	D 62
3.4.5	3-Cyclohexylaminopropylamin	CAS 003312-60-5	D 65
3.4.6	1,2-Diaminocyclohexan (DCH)	CAS 000694-83-7	D 66

3.5	Härter, sonstige		D 68
3.5.1	N-cyanethyliertes Trimethylhexamethylendiamin		D 68
3.5.2	m-Xylidendiamin (MXDA)	CAS 001477-55-0	D 69
3.5.3	m-Xylylendiamin/Acrylonitril Adduct	CAS 073050-11-0	D 72
3.5.4	N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan	CAS 001760-24-3	D 73
3.5.5	Polyoxyalkylenamin, 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan		D 74
3.6	Säureanhydride		D 75
3.6.1	Phthalsäureanhydrid	CAS 000085-44-9	D 75
3.6.2	Tetrahydrophthalsäureanhydrid	CAS 000085-43-8	D 77
3.6.3	Hexahydrophthalsäureanhydrid	CAS 000085-42-7	D 78
3.6.4	Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid	CAS 011070-44-3	D 80
3.6.5	Methylhexahydrophthalsäureanhydrid	CAS 025550-51-0	D 82
3.7	tertiäre Amine		D 85
3.7.1	3-((6-Aminotrimethylhexyl)amino)propionitril	CAS 093941-62-9	D 85
3.8	Phenole		D 86
3.8.1	tert-Butylphenol	CAS 000098-54-4	D 86
3.8.2	Bisphenol A	CAS 000080-05-7	D 87
3.9	Reaktivverdünner		D 91
3.9.1	Butylglycidylether	CAS 002426-08-6	D 91
3.9.2	1,4-Butandiol-diglycidylether	CAS 002425-79-8	D 94
3.9.3	Neopentylglykol-diglycidylether	CAS 017557-23-2	D 97
3.9.4	2-Ethylhexylglycidylether	CAS 002461-15-6	D 99
3.9.5	1,6-Hexandiol-diglycidylether	CAS 016096-31-4	D 100
3.9.6	Versaticsäureglycidylester (z.B. Cadura E 10) 2,2'-Dioctyldecansäure-2,3 epoxypropylester	CAS 026761-45-5	D 103
3.9.7	Trimethylolpropan-triglycidylether	CAS 030499-70-8	D 105
3.9.8	C12/C14-Monoglycidylether	CAS 068609-97-2	D 107
3.9.9	Polypropylenglykoldiglycidylether/ Polyoxypropylen- diglycidylether	CAS 026142-30-3	D 109
3.9.10	Polypropylene glycol chloromethyloxirane polymer	CAS 009072-62-2	D 110
3.9.11	Dipropylene glycol diglycidyl ether	CAS 041638-13-5	D 111
3.9.12	Cyclohexandimethanol-diglycidylether Cyclohexandimethanol-divinylether	CAS 014228-73-0 CAS 017351-75-6	D 112
3.9.13	p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether	CAS 003101-60-8	D 114

3.9.14	Phenylglycidylether	CAS 000122-60-1	D 116
3.9.15	o-Kresylglycidylether	CAS 002210-79-9	D 123
3.9.16	Kresylglycidylether, Isomerengemisch	CAS 026447-14-3	D 125
3.9.17	2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol	CAS 000090-72-2	D 129
3.10	Neue Substanzen, identifiziert in der Bewertung der Relevanz aus Sicht der Industrie		D 132
3.10.1	Poly[oxy(methyl-1,2-ethanediyl)], ?-(2-aminomethylethyl)-?-(2-aminomethylethoxy)	CAS 009046-10-0	D 132
3.10.2	PolyPropylenEthyleneDiamin		D 133
3.10.3	12-Octadecadienoic acid (9Z,12Z)-, dimer, polymer with N-(2-aminoethyl)-1,2-ethanediamine	CAS 037189-83-6	D 134
3.10.4	2,2'-dimethyl-4,4'methylenebis(cyclohexylamine)	CAS 006864-37-5	D 135
3.10.5	Polyaminoamido-imidazolines		D 136
3.10.6	Asparaginsäureester		D 137
3.10.7	Bisphenol F-Epoxidharz	CAS 055492-52-9	D 138
4.	Diskussion und Schlussfolgerung		D 139
5.	Literatur		D 144

## Verzeichnis der Abkürzungen

CAPB	Cocamidopropylbetain
CAS	Chemical Abstracts Service
DGEBA	Diglycidylether of Bisphenol A, (= Bisphenol A-diglycidylether)
DGEBF	Diglycidylether of Bisphenol F, (= Bisphenol F-diglycidylether)
DKG	Deutsche Kontaktallergie-Gruppe
DMAPA	N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan (syn. 3-Dimethylaminopropylamine)
ECHA	European Chemicals Agency
ESSCA	European Surveillance System on Contact Allergies
FIOH	Finnish Institute of Occupational Health
GISBAU	Gefahrstoff-Informations-System der Berufsgenossenschaften der Bauwirtschaft
IVDK	Informationsverbund Dermatologischer Kliniken
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
PVC	Polyvinylchlorid
tris-DMP	2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol
Vas.	Vaseline; in Vaseline

## 1. Hintergrund und verwendete Quellen

Das Forschungsvorhaben FP-0324 hat zum Ziel, Inhaltsstoffe von Epoxidharz-Systemen nach ihrer jeweiligen sensibilisierenden Wirkstärke zu differenzieren und, soweit möglich, zu klassifizieren. Primär werden dazu wissenschaftliche Veröffentlichungen zur Sensibilisierung auf der Basis von Tierversuchen, in vitro-Untersuchungen oder in silico-Methoden (Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen) ausgewertet.

Dieser Aspekt soll durch das Teilprojekt 5.4.3 um publizierte Humandaten zur Sensibilisierung ergänzt werden. Dabei sollen zwar auch – soweit vorhanden und veröffentlicht – Sensibilisierungsversuche am Menschen berücksichtigt werden; der eigentliche Schwerpunkt liegt aber vor allem auf publizierten Untersuchungen über sensibilisierte Erkrankte. Im Vordergrund stehen dabei selbstverständlich Veröffentlichungen über Menschen, die sich durch den Kontakt mit einem entsprechenden Epoxidharz-Produkt gegen einen oder mehrere Inhaltsstoffe des betreffenden Epoxidharz-Systems sensibilisiert haben. Darüber hinaus werden aber auch Publikationen herangezogen, in denen Testergebnisse von seriellen, also weniger gezielten, Testungen mit den entsprechenden Allergenen vorgestellt werden. Schließlich werden auch Publikationen berücksichtigt, in denen Sensibilisierungen gegen die betreffenden Stoffe durch andere Expositionen als den Kontakt mit Epoxidharz-Systemen erworben wurden. Auch Publikationen über allergologische Kreuzreaktionen oder Reaktionskopplungen sind in die Literaturlauswertung eingeflossen. Die berücksichtigten Veröffentlichungen sind im Wesentlichen epidemiologische Untersuchungen, Epikutantest-Studien und Einzelfallberichte bzw. Berichte über kleinere Fall-Serien.

Diese Humandaten können ergänzend zu den Daten aus Tierversuchen darüber Auskunft geben, welche Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bereits wie häufig als Allergene im (Berufs-)Alltag aufgefallen sind, und welche Expositionen bei der Sensibilisierung eine Rolle spielen.

Die Humandaten sind insofern von besonderer Bedeutung, als Tierversuche allein nicht immer zuverlässig darüber Auskunft geben, ob ein Stoff nach der Markteinführung zu allergologischen Problemen führt oder nicht. Als Beispiel sei das Konservierungsmittel Methyl-dibromoglutaronitril angeführt, das seit Beginn der 1990er Jahre zunehmend als Ersatz für (Chlor)Methylisothiazolinon in Körperpflegeprodukten eingesetzt wurde. Zuvor hatte man aus Tierversuchen keine Besorgnis erregenden Hinweise auf ein sensibilisierendes Potential von Methyl-dibromoglutaronitril erhalten. Mit zunehmender Verbreitung stieg im Laufe der folgenden Jahre die Zahl der Fälle von Kontaktallergie gegen

Methyldibromoglutaronitril an, und zwar derartig dramatisch, dass sein Einsatz in Körperpflegeprodukten 2008 schließlich vollständig verboten wurde (Dickel et al. 2009).

Schließlich ist die Literaturrecherche zu Humandaten deswegen sinnvoll, weil für einige Komponenten von Epoxidharz-Systemen nur wenige zuverlässige Daten zur Sensibilisierung aus Tier- oder in vitro-Versuchen vorliegen, aber (zumindest einige) Humandaten. Schließlich geben Berichte zur Sensibilisierung beim Menschen oft Aufschluss über geeignete Testmodalitäten bei der Diagnostik.

## 2. Beschreibung der verwendeten Methoden

Es wurde in PubMed und in der IVDK-Literaturdatenbank nach den Substanzen der abzuarbeitenden Liste in Verbindung mit den Stichworten „allergy“, „sensitization“, „human“, „patch test“, „dermatitis“ bzw. deren deutschen Übersetzungen gesucht. Einige weitere Literaturhinweise wurden aus ECHA-Dossiers und MAK-Begründungen entnommen.

Die gefundenen Veröffentlichungen wurden darauf hin geprüft, ob sie für die hier zu bearbeitende Fragestellung relevante Informationen enthalten. Arbeiten, in denen die Allergene bzw. Testsubstanzen unzureichend identifizierbar waren, wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Ebenso wurden Einzelfallberichte nicht referiert, wenn die Exposition und/oder die Allergietestung nicht nachvollziehbar dargestellt waren. Alle verbleibenden Arbeiten wurden zusammenfassend referiert und bewertet.

Will man anhand von Humandaten das allergologische Risiko abschätzen, das von einem Stoff ausgeht, so ist es eigentlich erforderlich, die Zahl der Sensibilisierten zur Zahl der Exponierten in Beziehung zu setzen. Beide Zahlen sind aber leider nicht verfügbar. Während man jedoch die Zahl der Sensibilisierten anhand epidemiologischer Daten oder anderer Berichte in einigen Fällen zumindest grob orientierend abschätzen kann, gibt es zur Zahl der Exponierten keinerlei Daten. Um wenigstens für das Baugewerbe einen orientierenden Anhaltspunkt zur Verbreitung der jeweiligen Verbindung zu bekommen, wurde von GISBAU ausgewertet, wie häufig die Verbindung in den 3.692 dort vorliegenden Sicherheitsdatenblättern genannt wurde (Stand September 2011; 635 dieser Sicherheitsdatenblätter wurden nach 2005 erstellt). Da ein Epoxidharzsystem in der Regel aus zwei Komponenten besteht, und für jede Komponente ein eigenes Sicherheitsdatenblatt existiert, beziehen sich diese Informationen also auf ca. 1.850 Produkte. Über die verkaufte bzw. eingesetzte Menge der einzelnen Produkte liegen keine Informationen vor; die Anzahl der Nennungen bestimmter Komponenten in den Sicherheitsdatenblättern kann also wirklich nur eine grob orientierende Aussage zur Verbreitung des jeweiligen Stoffes in Epoxidharzsystemen geben. Wo es sinnvoll erscheint, werden diese Zahlen zu Beginn der jeweiligen Kapitel über die einzelnen Verbindungen kurz referiert.

Im Einzelnen wurden die folgenden semiquantitativen Kategorisierungen verwendet:

Kategorie	Anzahl der bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblätter mit der jeweiligen Komponente (Grundgesamtheit: n = 3.692)
sehr häufig / sehr weit verbreitet	> 350
häufig / weit verbreitet	100 - 350
selten / kaum verbreitet	10 - 99
sehr selten / fast nicht verbreitet	0 - 9

Außerdem werden zu Beginn jedes Abschnittes etwaige allergologische Besonderheiten des jeweiligen Stoffes herausgestellt.

Anschließend werden die Ergebnisse für jede Substanz in folgenden Abschnitten dargestellt:

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

*Diese Daten geben häufig, aber nicht immer, Aufschluss darüber, ob die Sensibilisierung gegen den betreffenden Stoff beim Menschen quantitativ eine große Rolle spielt oder nicht.*

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

*Hier werden Untersuchungen an Erkrankten, die eindeutig oder zumindest mit hoher Wahrscheinlichkeit gegenüber dem fraglichen Stoff exponiert waren, in Form von entsprechenden Epikutantest-Studien, Fallserien und/oder Einzelfallberichten berücksichtigt.*

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

*Dieser Abschnitt gibt in erster Linie Publikationen wieder, in denen über Sensibilisierungen gegen den betreffenden Stoff berichtet wird, die nicht durch Exposition gegenüber dem Stoff selbst erworben wurden, sondern die auf dem Boden einer immunologischen Kreuzreaktion bei primärer Sensibilisierung gegen eine andere Substanz erworben wurden. Dieses Phänomen ist nur bei einem begrenzten Teil der hier zu besprechenden Substanzen relevant.*

*Bei einigen Substanzen wurde bereits in den beiden ersten Abschnitten über Reaktionskopplungen oder Kreuzreaktionen berichtet. Zum Teil wird dann in diesem Abschnitt auf diese Arbeiten verwiesen.*

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

*Berichte über Sensibilisierungsversuche am Menschen wurden bei der Literatur-Recherche nur mit drei Substanzen gefunden, nämlich mit Epoxidharz auf Basis von Bisphenol A-diglycidylether (DGEBA), mit Diethylentriamin und mit Butylglycidylether. In einem weiteren Fall wurden unbeabsichtigt gesunde Probanden gegen Phenylglycidylether sensibilisiert, als man versuchte, eine nicht irritierende Testkonzentration für den Epikutantest zu ermitteln. Obwohl hier also keine Intention bestand, Probanden zu sensibilisieren, wurde diese Publikation doch an dieser Stelle aufgeführt.*

- Zusammenfassung und Bewertung.



### **3. Stoffdatenanalyse**

#### **3.1 Epoxidharze**

##### **3.1.1 Bisphenol A-Harze, CAS Nr. 025068-38-6**

Die häufigsten und wichtigsten Verursacher der Kontaktallergie gegen Epoxidharz sind Oligomere eines Epoxidharzes auf Basis von Bisphenol A-diglycidylether (DGEBA) mit einem Molekulargewicht von unter 900, wobei Monomere mit einem Molekulargewicht von 340 die potentesten Sensibilisatoren sind (Fregert und Thorgeirsson 1977, Jolanki et al. 2000, Jolanki et al. 2001, Thorgeirsson und Fregert 1977, Thorgeirsson et al. 1978). Kontaktallergien gegen diese Harze sind so häufig, dass eine entsprechende Testsubstanz, nämlich ein unmodifiziertes mittelviskoses Epoxidharz auf Basis von DGEBA mit der mittleren Molekularmasse 380-390, in der internationalen, der europäischen und in fast allen nationalen Standardreihen für den Epikutantest enthalten ist. Die Testkonzentration ist üblicher Weise 1% in Vaseline (Vas.).

Der Hersteller der in Deutschland am häufigsten verwendeten Testzubereitung für den Epikutantest mit DGEBA-Harz, die Firma Almirall Hermal, Reinbek, gibt für diese Testsubstanz die CAS Nr. 25068-38-6 an. Andere Hersteller nennen keine CAS-Nummern.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Als Allergen der Standardreihe wird das DGEBA-Harz ungezielt bei allen Patienten epikutan getestet, die wegen des Verdachtes auf eine Kontaktallergie untersucht werden. DGEBA-Harz ist als einzige der hier zu bearbeitenden Substanzen Bestandteil der Standardreihe für den Epikutantest.

In den am Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK) (Schnuch et al. 2008b, Uter et al. 1998) beteiligten dermatologischen Abteilungen betrug in den Jahren 1992 bis 2000 die Häufigkeit positiver Reaktionen auf das in der Epikutantest-Standardreihe enthaltene Epoxidharz 0,9-1,4% (Frauen: 0,6-1,2%, Männer: 1,6-2,3%) (Geier et al. 2003). Die höchsten unadjustierten Sensibilisierungsprävalenzen fand man damals bei Kunststoffverarbeitern (14% positive Reaktionen), Malern und Lackierern (7%) sowie Maurern, Bauarbeitern usw. (6%) (Uter et al. 2002a). Eine Poisson-Regressionsanalyse der Daten unter Berücksichtigung zahlreicher Einflussfaktoren ergab für folgende Berufsgruppen ein im Vergleich zur Referenz „Dienstleistungsberufe“ signifikant erhöhtes Risiko einer

Epoxidharz-Allergie: Bau- und Bergbauberufe (prevalence ratio = 4,1), Maler, Tischler, Keramiker (3,8) und Chemieerberufe (2,7) (Uter et al. 2002a).

Aus den Daten des IVDK extrapolierten Schnuch et al. 2002 eine Sensibilisierungsprävalenz von 0,1-0,2 % in der Bevölkerung, das wären in Deutschland etwa 80.000 bis 160.000 Betroffene (Schnuch et al. 2002b).

In den ersten Jahren des neuen Jahrhunderts lagen die Sensibilisierungsquoten in den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen mit leichten Schwankungen, aber ohne einheitlichen Zeittrend, um 1,6% (positive Reaktionen auf DGEBA-Harz 1% Vas. bei Testung in der Standardreihe), wobei Männer mit ca. 2,4% positiven Reaktionen etwa doppelt so häufig betroffen waren wie Frauen (ca. 1,2%) (Geier et al. 2011a, Geier et al. 2011b).

Aus anderen Industrieländern werden ähnliche Sensibilisierungsquoten bei Ekzempatienten, die in dermatologischen Kliniken untersucht werden, berichtet.

Die North American Contact Dermatitis Group fand bei Testung der Standardreihe an Ekzempatienten in dermatologischen Kliniken seit 1994 etwa 2% positive Reaktionen, wobei 1998-2000 mit 2,7% ein Höchststand erreicht wurde, während in den Jahren 2003-2004 und 2005-2006 die unadjustierte Reaktionsquote bei 1,8% lag. Etwa 31% der 2005-2006 beobachteten Reaktionen wurden als sicher oder wahrscheinlich klinisch relevant angesehen; für weitere 15% wurde eine klinische Relevanz in der Vergangenheit angenommen (keine näheren Angaben) (Pratt et al. 2004, Zug et al. 2009).

Am European Surveillance System on Contact Allergies (ESSCA) nehmen 31 dermatologische Abteilungen aus 11 europäischen Ländern teil. Im Jahr 2004 wurden über 11.000 Patienten in diesen Abteilungen epikutan getestet, wobei in der Standardreihe auch Epoxidharz 1% Vas. überprüft wurde. Sowohl die unadjustierte als auch die alters- und geschlechtsstandardisierte Reaktionsquote lag bei 1,1% positiven Reaktionen. In zwei Zentren wurden gar keine Reaktionen beobachtet; das Zentrum mit der höchsten Reaktionsquote (2,8%) lag in Deutschland (The ESSCA Writing Group 2008).

Aus Coimbra, Portugal, stammt eine retrospektive Datenanalyse über Klinik-Patienten, bei denen im Rahmen der Standardreihe für den Epikutantest auch Epoxidharz auf Basis von DGEBA 1% Vas. getestet wurde. Von den 2.440 in den Jahren 1999 bis 2008 getesteten Patienten reagierten 24 (1%) positiv. Zehn dieser Patienten waren Fußbodenleger, neun litten an einem aerogenen allergischen Kontaktekzem (Canelas et al. 2010).

Aus der Universitäts-Hautklinik Tel Aviv wurde berichtet, dass bei der Epikutantestung im Rahmen der Standardreihe in den Jahren 1998 bis 2004 1,1% der getesteten Patienten (24 von 2.156 Patienten) positiv auf Epoxidharz 1% Vas. reagierten (Lazarov 2006).

Aus einer großen Hautklinik in Peking, China, wurde berichtet, dass in den Jahren 2001-2006 bei ca. 1.350 Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem eine modifizierte europäische Standardreihe epikutan getestet wurde. Von diesen Patienten reagierten 8,5% positiv auf Epoxidharz 1% Vas. (Frauen 8,1%; Männer 9,6%), wobei sich im Untersuchungszeitraum von Jahr zu Jahr eine Zunahme der Sensibilisierungen abzeichnete (Cheng et al. 2011). Diese Daten sind nicht direkt mit den anderen zitierten Untersuchungen vergleichbar, da allgemein sehr hohe Reaktionsquoten erzielt wurden, was auf eine restriktive Indikationsstellung zur Testung schließen lässt.

Im Finnish Institute of Occupational Health (FIOH), Helsinki, wurden in den Jahren 1974 bis 1990 insgesamt 3.731 Patienten mit Verdacht auf Berufsdermatose epikutan getestet. 139 dieser Patienten (3,7%) reagierten positiv auf das in der Standardreihe mitgetestete DGEBA-Harz (1% Vas.). Dabei war im Laufe der Zeit eine steigende Tendenz festzustellen. In den Jahren 1974-1983 lag die Reaktionsquote bei 3,5% (86/2484), in den Jahren 1984-1988 bei 4,0% (36/909) und 1989-1990 bei 5,0% (17/338) (Jolanki 1991). Die im Vergleich zu anderen (europäischen) Ländern und Städten höhere Reaktionsquote ist vor allem darauf zurückzuführen, dass im FIOH ausschließlich Patienten mit (mutmaßlich) berufsbedingten Erkrankungen untersucht werden. Da Epoxidharz-Sensibilisierungen meist durch berufliche Expositionen erworben werden, ist hier eine entsprechende Häufung von Allergie-Fällen zu erwarten.

Anhand von Daten des IVDK in der Zeit von November 1989 bis Juli 1993 verglichen Geier und Schnuch Sensibilisierungshäufigkeiten auf verschiedene Allergene bei Maurern, Bauarbeitern, Fliesenlegern usw. und bei Männern, die nicht im Baugewerbe tätig waren. Dabei ergab sich eine signifikant höhere Reaktionsquote auf das in der Standardreihe epikutan getestete DGEBA-Harz (1% Vas.) bei Maurern usw. (4,7% vs. 1,8%) (Geier und Schnuch 1995).

Im Vergleich zu den Reaktionsquoten bei der (ungezielten) Epikutantestung mit der Standardreihe bei klinischen Ekzempatienten fanden sich im Rahmen des von den gewerblichen Berufsgenossenschaften finanzierten und im IVDK durchgeführten Forschungsvorhabens "Frühzeitige Erkennung allergener Stoffe bei beruflicher und nicht-beruflicher Exposition" bei Männern mit Berufsdermatose stark erhöhte Sensibilisierungsquoten auf Epoxidharz in folgenden Berufsgruppen: Maler und Lackierer (41%), Kunststoffverarbeiter (30%), sowie Maurer und verwandte Berufe (10%) (Geier et al. 2002).

In den letzten Jahren wurden einige retrospektive Analysen von klinischen Epikutantest-Daten publiziert, in denen auf eine signifikante Assoziation zwischen positiven Epikutantests auf Epoxidharz und den Duftstoff-Mix hingewiesen wurde (Andersen et al. 2009,

Pontén et al. 2004a). Die Ergebnisse dieser Analysen sind zweifelhaft, da folgende Punkte nicht beachtet wurden: Erstens wurde nicht ermittelt, wie hoch die Assoziation positiver Reaktionen auf Epoxidharz mit positiven Reaktionen auf andere Allergene oder Allergengemische war, und wie häufig allgemein Mehrfachsensibilisierungen in den untersuchten Patientenpopulationen auftreten. Dies ist aber insofern von Bedeutung, als multiple Sensibilisierungen keine Seltenheit sind, und Patienten mit bereits bestehender Kontaktallergie ganz allgemein ein erhöhtes Risiko haben, sich gegen ein weiteres Allergen zu sensibilisieren (Schnuch et al. 2008a). Möglicher Weise ergäbe sich, dass die Patienten mit Epoxidharz-Allergie generell häufig noch eine oder mehrere weitere Sensibilisierungen haben, so dass die Assoziation mit dem Duftstoff-Mix kein spezieller Befund ist. Zweitens wird in keiner der Publikationen nach der Reaktionsstärke differenziert und berücksichtigt, dass schwach positive Reaktionen auf den Duftstoff-Mix häufig (zu ca. 60%) falsch positiv sind (Schnuch et al. 2002a). Zudem weisen andere, zum Teil wesentlich umfangreichere Datenanalysen nicht auf einen Zusammenhang zwischen Sensibilisierungen gegen Epoxidharz und Duftstoffen hin (Albert et al. 1999, Brasch et al. 2001). Bei der vorliegenden Datenlage kann man also einen epidemiologischen Zusammenhang zwischen Sensibilisierungen gegen Epoxidharz und Duftstoffe nicht als gesichert annehmen, zumal weder aus chemisch-struktureller Sicht ernsthafte Hinweise auf immunologische Kreuzreaktionen bestehen, noch aus allgemeinen Kenntnissen der jeweiligen Exposition eine Kopplungsallergie erklärbar oder wahrscheinlich wäre.

Grundsätzlich besteht bei jeder Epikutantestung die Gefahr, dass der Patient durch die Testung sensibilisiert wird (so genannte aktive Sensibilisierung). Meist äußert sich dieser Vorgang darin, dass eine positive Testreaktion nach 10 Tagen oder später auftritt, und ein danach wiederholter Epikutantest in der normalen Zeitspanne von ca. 3 Tagen positiv wird. Vermutlich werden viele solcher aktiven Sensibilisierungen nicht entdeckt, weil der Test nur ca. 3-4 Tage, aber nicht länger abgelesen wird. Die Deutsche Kontaktallergie-Gruppe (DKG) ist in einer systematischen Untersuchung mit späten Epikutantest-Ablesungen der Frage nachgegangen, wie häufig aktive Sensibilisierungen bei p-Phenylendiamin und Epoxidharz auf Basis von DGEBA auftreten. Mit dem DGEBA-Harz 1% Vas. wurden bei 1.428 Getesteten vier Spätreaktionen (0,3%) beobachtet, und zwar zwei an Tag 7 und jeweils eine an Tag 14 und 24. Nur bei einem der Patienten mit (einfach positiver) Reaktion an Tag 7 wurde der Test wiederholt; dabei zeigte sich eine stark positive Reaktion bereits an Tag 3 (Hillen et al. 2006). Aktive Sensibilisierungen durch den Epikutantest mit DGEBA-Harz 1% Vas. kommen also vor, sind aber insgesamt sehr selten.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

*Patienten mit Verdacht auf Epoxidharz-Allergie.*

Tosti et al. stellten 1988 die klinischen und allergologischen Befunde von 7 Patienten mit aeroogenem allergischem Kontaktekzem durch Epoxidharz zusammen, die in der Universitäts-Hautklinik Bologna gesehen wurden. Die Patienten arbeiteten in unterschiedlichen Branchen. Alle hatten zunächst ein allergisches Kontaktekzem durch direkten Allergenkontakt, und zwar an den Händen oder Unterarmen; erst danach kam ein Ekzem des Gesichtes, insbesondere der Augenlider, hinzu. Alle 7 Patienten waren gegen DGEBA-Harz sensibilisiert, einer zusätzlich gegen Triethylentetramin und Isophorondiamin, ein anderer gegen Ethylendiamin, Diethylentriamin und Triethylentetramin (Tosti et al. 1988). Holness und Nethercott berichteten 1993 von insgesamt 167 Patienten aus einer auf Berufskrankheiten spezialisierten Klinik, bei denen 1981 bis 1988 wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie eine spezielle Epoxidharz-Testreihe epikutan getestet worden war. Von 167 getesteten Patienten reagierten 30 (18%) positiv auf Epoxidharz 1% Vas., wobei in 28 Fällen (93%) eine klinischen Relevanz gegeben war (keine näheren Angaben) (Holness und Nethercott 1993).

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. 146 dieser Patienten (80%) reagierten allergisch auf das getestete DGEBA-Harz, das damit mit großem Abstand das häufigste Allergen war (Jolanki et al. 2001). Angaben zur Anzahl der Epikutantestungen mit den jeweiligen Substanzen, zur klinischen Relevanz oder zur konkreten Exposition der Patienten wurden in dem Bericht nicht gemacht.

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Mit 55 % positiven Reaktionen war das Epoxidharz auf Basis von DGEBA das häufigste Allergen (Geier et al. 2004). In der gesamten Studie (also einschließlich der zweiten und dritten Phase, 2003-2005) reagierten 58% der 217 Patienten positiv auf das DGEBA-Harz (Geier 2010).

### *Patienten mit Verdacht auf Klebstoff-Allergie.*

Hillen et al. werteten Daten des IVDK von 829 Patienten aus, die in den Jahren 1996-2001 unter dem Verdacht auf eine Kontaktallergie gegen Klebstoffe epikutan getestet wurden. 336 dieser Patienten hatten eine Berufsdermatose. Allergische Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz 1% Vas. wurden bei 11,5% der Getesteten festgestellt; unter den Patienten mit Berufsdermatose lag der Prozentsatz höher (21,2%) (Hillen et al. 2007).

Rademaker stellte 2000 eine retrospektive Datenanalyse aus der dermatologischen Abteilung eines Krankenhauses in Hamilton, Neuseeland, vor. Hier wurden innerhalb von 5 Jahren (keine genaueren Angaben zum Zeitraum und zur Zahl der insgesamt getesteten Patienten) 28 Patienten mit klinisch relevanter allergischer Reaktion auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA 1% Vas. beobachtet, und zusätzlich weitere 8 Patienten mit positiver Reaktion ohne eindeutige klinische Relevanz. 16 dieser 36 Patienten litten an einer Berufsdermatose, wobei der Kontakt mit hauptsächlich durch Kleber gegeben war (Rademaker 2000).

Romaguera et al. beschrieben 1986 den Fall einer 26jährigen Frau, die beruflich Hörgeräte montierte, und dabei mit einem Epoxidharz-Kleber arbeitete. Sie erlitt ein allergisches Kontaktekzem der Fingerspitzen. Im Epikutantest wurde eine Kontaktallergie gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA und Bisphenol A nachgewiesen (Romaguera et al. 1986).

### *Patienten aus dem Bau-Bewerbe.*

In den Niederlanden untersuchten van Putten et al. Anfang der 1980er Jahre 135 im Baugewerbe tätige Männer, die gegenüber Epoxidharz-Systemen exponiert waren. 26 dieser 135 Männer hatten innerhalb der letzten drei Jahre Hautveränderungen an den Händen und/oder Unterarmen gehabt. Zwar wird in der Publikation die Zusammensetzung der eingesetzten Epoxidharz-Systeme nicht genau erwähnt; die Autoren schreiben aber, dass sie aufgrund der Informationen über die berufliche Exposition vier Zubereitungen für die Epikutantestung ausgewählt haben, nämlich: DGEBA-Harz 1% Vas., Isophorondiamin 0,1% in Olivenöl, Triethylentetramin 0,5% Vas., und m-Xylidendiamin 0,1% Vas. Positive Reaktionen auf das DGEBA-Harz ergaben sich bei 14 von 23 Ekzem-Patienten (61%) und bei 11 von 112 Männern ohne Ekzem (10%) (van Putten et al. 1984).

In der dermatologischen Abteilung des Institutes für Arbeitssicherheit und Arbeitsmedizin der Universität Madrid wurden in den Jahren 1989-1992 15 Fußbodenleger mit Ekzem nach dem Umgang mit Epoxidharz-Systemen untersucht. Zwölf von ihnen hatten ein Handekzem oder ein Ekzem der Unterarme, 8 ein Gesichtsekzem. Neun Patienten erkrankten innerhalb der ersten drei Monate, in denen sie mit Epoxidharzen arbeiteten, weitere 4 innerhalb der folgenden 15 Monate. Nähere Informationen über die Zusammensetzung der verwendeten Epoxidharz-Systeme waren in der Regel nicht verfügbar. Im Epikutantest reagierten 14

Patienten positiv auf Epoxidharz, 5 auf Phenylglycidylether und 3 auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan. Die Sensibilisierungen gegen Phenylglycidylether wurden ausschließlich bei Patienten mit Epoxidharz-Allergie beobachtet, während ein Patient ausschließlich gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan sensibilisiert war (Condé-Salazar et al. 1994).

Beim Bau des Tunnels unter dem Ärmelkanal wurden 1990-1992 u.a. auch große Mengen von Epoxidharz-Systemen verarbeitet. Bei zahlreichen Beschäftigten traten Hautveränderungen auf. 86 dieser Patienten wurden epikutan getestet; 36 der Gestesteten (30%) reagierten allergisch auf Epoxidharz (Irvine et al. 1994).

Auch aus der Schweiz wurde über eine deutliche Zunahme von Epoxidharz-Sensibilisierungen im Zusammenhang mit dem vermehrten Einsatz von Epoxidharz-Systemen beim Tunnelbau berichtet (Rast 2001).

Im Baugewerbe wurden auch Fälle von aerogenem allergischem Kontaktekzem bei Typ IV-Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz beobachtet (Foti et al. 2010).

Aus dem FIOH wurde über einen Bauarbeiter berichtet, der sich durch einmaligen akzidentellen Kontakt mit einem Epoxidharz in nicht ausgehärteter Form gegen DGEBA-Harz sensibilisiert hat (Kanerva et al. 1994).

#### *Patienten, die in der Rotorblatt-Fertigung arbeiten.*

Ein anderer Industriezweig, in dem Epoxidharz-Allergien in den Blickpunkt des allergologischen Interesses gerückt sind, ist die Fertigung von Rotorenblättern für Windkraftanlagen. In derartigen Betrieben werden Epoxidharze in großen Mengen halb-automatisch verarbeitet, wobei es insbesondere bei dem so genannte Hand-Laminierverfahren und bei Klebearbeiten zu direktem Hautkontakt kommen kann; Sensibilisierungen sind nicht selten, und es werden gehäuft aerogene Kontaktekzeme beobachtet.

Pontén et al. untersuchten 2001 systematisch Fälle von berufsbedingtem Kontaktekzem in einer großen dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen im Handlaminierverfahren hergestellt wurden. Dabei kamen unterschiedliche Epoxidharz-Systeme zum Einsatz. Auf diese Weise waren die Beschäftigten gegenüber Epoxidharzen auf Basis von DGEBA, Bisphenol F-diglycidylether (DGEBF), Trimethylolpropan-triglycidylether und Tetraglycidyl-4,4'-methylendianilin exponiert. Die verwendeten Reaktivverdünner enthielten 1,4-Butandiol diglycidylether und 1,6-Hexandiol diglycidylether sowie C13-C15-Alkylglycidylether. Die in der Produktion verwendeten Härter enthielten 4,4'-Diaminodiphenylmethan, Diethylentriamin und Triethylentetramin. Bei 66 Erkrankten wurden Epikutantestungen durchgeführt, wobei 34 auf das DGEBA-Harz und 26 auf das DGEBF-Harz reagierten. Kreuz- oder Kopplungsallergien waren nicht selten: 24 Patienten reagierten allergisch auf beide Harze. 10 Patienten reagierten auf das DGEBA-Harz, aber nicht auf das DGEBF-Harz; umgekehrt reagierten 2 Patienten auf das DGEBF-Harz, aber nicht auf das DGEBA-Harz.

Vier Patienten reagierten positiv auf Phenylglycidylether, das jedoch nicht in den beruflich verwendeten Produkten enthalten war; diese vier Patienten waren auch gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA sensibilisiert (Pontén et al. 2004b, Pontén et al. 2004c). Die hier referierten Daten zur Sensibilisierung wurden 2005 auch in einer weiteren Publikation dargestellt, die jedoch auch andere Aspekte der beruflich bedingten Hauterkrankungen beleuchtet (Rasmussen et al. 2005).

Göring berichtete 2001, dass 25 von etwa 70 Beschäftigten eines Betriebes, in dem glasfaserverstärkte Kunststoffe für Rotorblätter im Handlaminier-Verfahren bearbeitet wurden, wegen einer beruflich erworbenen Kontaktallergie gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA ihre Tätigkeit aufgeben mussten. In 6 Fällen traten erste Hauterscheinungen bereits innerhalb der ersten drei Monate der Exposition auf, bei weiteren 3 Patienten innerhalb von weiteren drei Monaten (Göring 2001).

Ähnliches berichteten Laskowski und Heise 2000, die bei drei Beschäftigten mit ähnlicher beruflicher Exposition bereits drei bis vier Wochen nach Beginn der Tätigkeit ein allergisches Kontaktekzem manifestierte. Im Epikutantest reagierten die Patienten auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA und Phenylglycidylether (Laskowski und Heise 2000).

#### *Patienten mit anderen beruflichen Epoxidharz-Expositionen.*

Im Rahmen einer Untersuchung über Hauterkrankungen durch Epoxidharz in einer großen finnischen Fabrik für Ski-Stöcke wurden auch zwei Patienten mit urtikarieller Epikutantestreaktion auf DGEBA-Harz (1% Vas.) beobachtet. Während der eine ausschließlich an einem Ekzem litt, klagte der andere Patient neben dem Ekzem auch über Rhinitis bei Exposition gegenüber dem Epoxidharz am Arbeitsplatz (Suhonen 1983).

Auch Jolanki et al. berichteten 1996 über Hauterkrankungen in einer Ski-Fabrik. Von den 22 Beschäftigten litten 8 an einem berufsbedingten allergischen Kontaktekzem. Sechs dieser Patienten waren gegen Bestandteile der beruflich verwendeten Epoxidharz-Systeme sensibilisiert, nämlich DGEBA-Harz (Testkonzentration 1% Vas; 6 Patienten positiv), Phenylglycidylether (0,25% Vas; 3 Patienten positiv), 1,4-Butandiol diglycidylether (0,25% Vas; 3 Patienten positiv), Ethylenglycoldiglycidylether (0,5% Vas; 3 Patienten positiv), Tetrapropylenglycoldiglycidylether (0,5% Vas; 2 Patienten positiv), Ethylendiamin (Ethylendiamindihydrochlorid 1% Vas; 3 Patienten positiv), Diethylentriamin (1% Vas; 2 Patienten positiv), Triethylentetramin (0,5% Vas; 3 Patienten positiv) (Jolanki et al. 1996).

In den 1990er Jahren wurde über mehrere Fälle von allergischem Kontaktekzem durch ein Leica Immersionsöl für die Mikroskopie berichtet, das ein modifiziertes Epoxidharz enthielt. Bei den Patienten waren nicht nur die Hände, sondern auch die Periorbitalregion betroffen, am ehesten als disloziertes allergisches Kontaktekzem durch Kontamination der Okulare. Die Patienten reagierten im Epikutantest allergisch auf DGEBA-Harz, DGEBF-Harz,



Phenylglycidylether und Kresylglycidylether, einige zusätzlich auch auf Butylglycidylether (Géraut und Tripodi 1999, Le Coz et al. 1999).

Hackett berichtete 1999 über 44 Patienten mit berufsbedingtem Kontaktekzem, die im Flugzeugbau mit Epoxidharz in Form so genannter „pre-pegs“ Kontakt hatten. Im Epikutantest konnte nachgewiesen werden, dass von diesen Patienten 11 gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 4 gegen Phenylglycidylether, 4 gegen Diethylentriamin und 3 gegen Triethylentetramin sensibilisiert waren (Hackett 1999).

Fünf von 12 Aushilfsarbeitern, die 2-3 Wochen lang Isolierarbeiten in einem Kraftwerk verrichteten, wobei sie mit einem Epoxidharz auf Basis von DGEBA ohne ausreichenden Schutz umgingen, erkrankten an einem Kontaktekzem. Alle 5 reagierten im Epikutantest stark positiv auf DGEBA-Harz (1% Vas.), und ein Patient reagierte zusätzlich auf einen (nicht näher spezifizierten) Polyamidoamin-Härter (1% Vas.) (Niinimäki und Hassi 1983).

In den betroffenen Berufszweigen werden Epoxidharz-Systeme im nicht ausgehärteten Zustand verarbeitet. Die fertig ausgehärteten Epoxidharze haben in der Regel keine sensibilisierenden Eigenschaften. Es wurden jedoch Einzelfälle von allergischem Kontaktekzem nach Kontakt mit oder Bearbeitung von gehärteten Epoxidharz-Produkten beschrieben, wobei möglicherweise in einigen Fällen eine nicht vollständige Polymerisation (z.B. durch unzureichende Beachtung der Stöchiometrie) ursächlich war (Fregert et al. 1980, Jolanki et al. 2000, Kanerva et al. 2000).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Kreuzreaktionen zwischen DGEBA-Harz und DGEBF-Harz sowie zwischen DGEBA-Harz und Phenylglycidylether sind in Tierversuchen nachgewiesen worden.

In der ersten Phase der Untersuchung EPOX 2002 reagierten 34 von 36 Patienten mit allergischer Reaktion auf das DGEBF-Harz auch allergisch auf das DGEBA-Harz (Geier et al. 2004). Die hohe Konkordanz positiver Reaktionen auf die beiden Harze kann ebenfalls im Sinne immunologischer Kreuzreaktionen gedeutet werden. Allerdings ist davon auszugehen, dass im beruflichen Bereich meist eine gleichzeitige Exposition gegenüber beiden Harzen vorliegt, da den DGEBA-Harzen wegen der besseren Verarbeitbarkeit bei niedrigen Temperaturen meist ein DGEBF-Harz zugegeben wird, so dass eine Ko-Exposition besteht, die auch zu immunologisch voneinander unabhängigen Sensibilisierungen gegen beide Harze führen könnte.

In mehreren Untersuchungen, die in Kapitel 3.9.14 Phenylglycidylether vorgestellt werden, wurde beobachtet, dass allergische Reaktionen auf Phenylglycidylether meist gemeinsam mit allergischen Reaktionen auf DGEBA-Harz auftreten, zum Teil sogar bei Patienten, die keinen Kontakt mit Phenylglycidylether hatten.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

1958 wurde über Versuche zur Irritation und Sensibilisierung mit einem DGEBA-Epoxidharz und verschiedenen weiteren Bestandteilen von Epoxidharz-Systemen (Verdünner und Härter) am Menschen berichtet. Das zu testende Material wurde in verschiedenen Konzentrationen in Vaseline eingearbeitet und in dieser Form auf einem Baumwoll-Läppchen ( $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$  Zoll) okklusiv mit Cellophanabdeckung für 48 Stunden mit einem Pflaster am Rücken des Probanden befestigt. Unmittelbar nach dem Entfernen der Testfelder wurde dieser Irritationstest abgelesen. 14 Tage später wurde in derselben Weise ein Epikutantest mit einer nicht irritierenden Konzentration (keine näheren Angaben) des zu testenden Materials durchgeführt. Die Okklusionszeit war dabei 24 Stunden, und der Test wurde nach 24 und 48 Stunden sowie nach 5 Tagen abgelesen. Im Irritationstest mit dem DGEBA-Harz reagierten 12 von 25 Probanden auf das pure Harz mit einer Irritation, 2 von 25 auf DGEBA-Harz 10% Vas. und keiner von 25 auf DGEBA-Harz 5% bzw. 2,5% Vas. Im nachfolgenden Epikutantest reagierten 5 von 25 Probanden allergisch (Lea et al. 1958).

Kligman berichtete 1966 über den Human-Maximierungstest mit Epoxidharz. Das dabei verwendete Epoxidharz wurde in der Arbeit nicht spezifiziert; es ist aber zu vermuten, dass es sich um ein DGEBA-Harz handelte. Bei 25 Probanden erfolgte die Induktion mit Epoxidharz 25% Vas. Dabei wurde die Testsubstanz 48 Stunden okklusiv aufgebracht. Diese Prozedur wurde fünfmal nacheinander wiederholt. Die Auslösung erfolgte mit Epoxidharz 15% Vas. Über den Zeitraum zwischen Induktion und Auslösung wurden keine genauen Angaben gemacht. Auf diese Weise konnten 21 von 25 Personen sensibilisiert werden. Kligman wertete Epoxidharz daher als extremes Allergen (Kligman 1966).

- Zusammenfassung und Bewertung.

Die häufigsten und wichtigsten Verursacher der Kontaktallergie gegen Epoxidharz beim Menschen sind Monomere und Oligomere (mit einem Molekulargewicht von unter 900) eines Epoxidharzes auf Basis von DGEBA. Bei ungezielten Testungen an Klinikpatienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem findet man 1-2% Sensibilisierte, bei Patienten mit Verdacht auf berufsbedingte Kontaktallergie deutlich mehr. Mehrfach wurde auch ein aerogenes allergisches Kontaktekzem beobachtet. In allen Untersuchungen an Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme ist das DGEBA-Harz das mit Abstand häufigste Allergen. Bemerkenswert ist die zum Teil sehr kurze Dauer vom Beginn des Umganges mit Epoxidharz bis zum Eintreten der Sensibilisierung. Im Einzelfall reichte schon der einmalige akzidentelle Kontakt für eine Sensibilisierung aus. Auch die in den 1950er und 1960er Jahren an Menschen durchgeführten Untersuchungen zur Sensibilisierung ergaben, dass Epoxidharz auf Basis von DGEBA ein potentes Allergen ist.

Bei exponierten Menschen besteht in der Regel eine Ko-Exposition gegenüber DGEBA-Harz und DGEBF-Harz, da kalt härtende Epoxidharz-Systeme meist beides enthalten. Gleichzeitige allergische Reaktionen auf DGEBA-Harz und DGEBF-Harz können sowohl durch immunologische Kreuzreaktionen als auch durch Ko-Sensibilisierung bei Ko-Exposition bedingt sein. Dasselbe gilt für gleichzeitig auftretende allergische Reaktionen auf DGEBA-Harz und Phenylglycidylether.

### **3.1.2 Reaktionsprodukt Bisphenol A Epichlorhydrin, CAS Nr. 025085-99-8**

Unter dieser CAS Nr., die ebenfalls ein Epoxidharz auf Basis von DGEBA bezeichnet, sind keine Untersuchungen zur sensibilisierenden Wirkung am Menschen gefunden worden. Das DGEBA-Harz wird unter der CAS Nr. 025068-38-6 besprochen.

### **3.1.3 Bisphenol-A-Epichlorhydrin MW 340, CAS Nr. 001675-54-3**

Diese CAS Nr. bezeichnet das Monomer des Epoxidharzes auf Basis von DGEBA, also das DGEBA selbst. Wie die Tierversuche zeigten, ist dieses Monomer der stärkste Sensibilisator unter den Mono- und Oligomeren des DGEBA-Harzes.

Die Untersuchungen zur Sensibilisierung am Menschen wurden nicht mit reinem DGEBA-Monomer durchgeführt, sondern mit einem Harz mit niedrigem durchschnittlichem Molekulargewicht, das einen hohen Anteil von Mono- und Oligomeren (insbesondere von Oligomeren mit einem Molekulargewicht von unter 900) hat.

Dieses DGEBA-Harz wird unter der CAS Nr. 025068-38-6 besprochen.

### 3.1.4 Bisphenol F-Harze, CAS Nr. 009003-36-5

In den meisten kalt härtenden Epoxidharz-Systemen ist aus technischen Gründen sowohl Bisphenol A- als auch Bisphenol F-Epoxidharz enthalten. Dementsprechend ist für die Betroffenen eine Ko-Exposition gegenüber beiden Stoffen gegeben. Im Baugewerbe ist Bisphenol F-Harz sehr weit verbreitet, wie die Nennung in 591 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern zeigt. Im Gegensatz zum DGEBA-Harz ist in der Standardreihe für den Epikutantest keine Testzubereitung mit einem DGEBF-Harz enthalten. Mit wenigen Ausnahmen wird DGEBF-Harz daher nur (mehr oder weniger) gezielt getestet.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Eine 1997/98 an der Universität Malmö durchgeführte Studie belegte die allgemeine allergologische Bedeutung von Epoxidharzen auf der Basis von DGEBF. Von 1.299 Klinikpatienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem, bei denen im Rahmen der Standardreihe ein Harz auf Basis von DGEBF 1% Vas. getestet wurde, zeigten 22 (1,7%) eine positive Testreaktion. 13 dieser Patienten reagierten auch positiv auf das gleichzeitig getestete DGEBA-Harz. Bei 6 Patienten konnte eine berufliche Relevanz der Sensibilisierung gegen das DGEBF-Harz festgestellt werden (Pontén und Bruze 2001).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Pontén et al. konnten mittels HPLC in kommerziell erhältlichen DGEBF-Harzen 3 Isomere nachweisen, nämlich p,p'-DGEBF, o,p'-DGEBF, und o,o'-DGEBF, wobei das Letztere meist den geringsten Mengenanteil aufwies (Pontén et al. 2004f). Alle 3 Isomeren des DGEBF erwiesen sich im Meerschweinchen-Maximierungstest als starke Sensibilisatoren (Pontén et al. 2002). Immunologische Kreuzreaktionen wurden im Tierversuch zwischen DGEBA und p,p'-DGEBF, DGEBA und o,p'-DGEBF, sowie p,p'-DGEBF und o,p'-DGEBF beobachtet (Pontén et al. 2002). Beim Menschen (29 Patienten mit bekannter Epoxidharz-Allergie) wurden hauptsächlich Kontaktallergien gegen p,p'-DGEBF und o,p'-DGEBF beobachtet, während allergische Reaktionen auf o,o'-DGEBF nur vereinzelt auftraten (Pontén et al. 2004e).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. Dabei wurde auch ein DGEBF-Harz (Epicote 862 ®) mit 38 % p,p'-

DGEBF, 36 % o,p'-DGEBF, und 13 % o,o'-DGEBF epikutan getestet. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) ergaben sich 44 % positive Reaktionen auf dieses Harz, womit das DGEBF-Harz das zweithäufigste Allergen in dieser Untersuchung war. Von den 36 Patienten mit allergischer Reaktion auf das DGEBF-Harz reagierten 34 auch allergisch auf das DGEBA-Harz (Geier et al. 2004). Die hohe Konkordanz positiver Reaktionen auf die beiden Harze in dieser Untersuchung kann ebenfalls im Sinne immunologischer Kreuzreaktionen gedeutet werden. Allerdings ist davon auszugehen, dass im beruflichen Bereich meist eine gleichzeitige Exposition gegenüber beiden Harzen vorliegt, da den DGEBA-Harzen wegen der besseren Verarbeitbarkeit bei niedrigen Temperaturen meist ein DGEBF-Harz zugegeben wird, so dass eine Ko-Exposition besteht, die auch zu immunologisch voneinander unabhängigen Sensibilisierungen gegen beide Harze führen könnte. In der zweiten und dritten Phase der Studie wurde das DGEBF-Harz nicht mehr mitgetestet (Geier 2010).

Pontén et al. untersuchten 2001 systematisch Fälle von berufsbedingtem Kontaktekzem in einer großen dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen im Handlaminierverfahren hergestellt wurden. Dabei kamen unterschiedliche Epoxidharz-Systeme zum Einsatz. Auf diese Weise waren die Beschäftigten gegenüber Epoxidharzen auf Basis von DGEBA, DGEBF, Trimethylolpropan-triglycidylether und Tetraglycidyl-4,4'-methyldianilin exponiert. Bei 66 Erkrankten wurden Epikutantestungen durchgeführt, wobei 34 auf das DGEBA-Harz und 26 auf das DGEBF-Harz reagierten. Kreuz- oder Kopplungsallergien waren nicht selten: 24 Patienten reagierten allergisch auf beide Harze. 10 Patienten reagierten auf das DGEBA-Harz, aber nicht auf das DGEBF-Harz; umgekehrt reagierten 2 Patienten auf das DGEBF-Harz, aber nicht auf das DGEBA-Harz (Pontén et al. 2004b, Pontén et al. 2004c). Die hier referierten Daten zur Sensibilisierung wurden 2005 auch in einer weiteren Publikation dargestellt, die jedoch auch andere Aspekte der beruflich bedingten Hauterkrankungen beleuchtet (Rasmussen et al. 2005).

In den 1990er Jahren wurde über mehrere Fälle von allergischem Kontaktekzem durch ein Leica Immersionsöl für die Mikroskopie berichtet, das ein modifiziertes Epoxidharz enthielt. Bei den Patienten waren nicht nur die Hände, sondern auch die Periorbitalregion betroffen, am ehesten als disloziertes allergisches Kontaktekzem durch Kontamination der Okulare. Die Patienten reagierten im Epikutantest allergisch auf DGEBA-Harz, DGEBF-Harz, Phenylglycidylether und Kresylglycidylether, einige zusätzlich auch auf Butylglycidylether (Géraud und Tripodi 1999).

Ein 30jähriger Mann, der bei der Produktion von Klebstoffen gegenüber einem DGEBF-Harz exponiert war, das kein DGEBA enthielt, litt an einem arbeitsabhängig verlaufenden Ekzem der Augenlider. Im Epikutantest reagierte er nicht auf das DGEBA-Harz in der Standardreihe, aber auf das am Arbeitsplatz verwendete Epoxidharz auf Basis von DGEBF (1% Vas.). Es wurde ein aerogenes allergisches Kontaktekzem diagnostiziert (Sakata et al. 2005).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Entsprechende Daten sind in den beiden vorherigen Abschnitten dargestellt worden. Immunologische Kreuzreaktionen zwischen DGEBA und zwei Isomeren des DGEBF wurden im Tierversuch nachgewiesen.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Auch Mono- und Oligomere des Epoxidharzes auf Basis von DGEBF sind starke Sensibilisatoren. Im Tierversuch wurden immunologische Kreuzreaktionen zwischen DGEBA und einigen Isomeren des DGEBF nachgewiesen. Sensibilisierungen gegen DGEBF-Harze sind beim Menschen nicht ganz so häufig wie Sensibilisierungen gegen DGEBA-Harze. Bei exponierten Menschen besteht in der Regel eine Ko-Exposition gegenüber DGEBA und DGEBF, da kalt härtende Epoxidharz-Systeme meist beides enthalten. Gleichzeitige allergische Reaktionen auf DGEBA und DGEBF können sowohl durch immunologische Kreuzreaktionen als auch durch Ko-Sensibilisierung bei Ko-Exposition bedingt sein.



### **3.1.5 Bisphenol-F-Epichlorhydrin, CAS Nr. 028064-14-4**

Unter dieser CAS Nr., die ebenfalls ein Epoxidharz auf Basis von DGEHF bezeichnet, sind keine Untersuchungen zur sensibilisierenden Wirkung am Menschen gefunden worden.

Das DGEHF-Harz wird unter der CAS Nr. 009003-36-5 besprochen.

## 3.2 Härter, aromatische Amine

### 3.2.1 4,4'-Diaminodiphenylmethan, CAS Nr. 000101-77-9

In Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe spielt 4,4'-Diaminodiphenylmethan wegen seiner Toxizität aktuell praktisch keine Rolle. Bei GISBAU liegen nur 6 Sicherheitsdatenblätter vor, in denen 4,4'-Diaminodiphenylmethan als Bestandteil genannt ist, und keines davon wurden nach 2005 erstellt. Basis dieser Auswertung sind 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

In einer italienischen Untersuchung aus den Jahren 1997 bis 1999 wurde bei nicht selektiver Testung (Epikutantest parallel zur Standardreihe) bei 1,9% der getesteten Patienten (132 von 6.809) eine positive Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan gefunden (Testkonzentration nicht angegeben). Eine klinische Relevanz dieser Reaktionen konnte nur bei 31 dieser Patienten, also etwa einem Viertel, festgestellt werden. In der Arbeit sind jedoch keine konkreten Produkte oder Expositionen genannt, sondern es wurden nur allgemeine Angaben wie z.B. „Lackierarbeiten“ oder „Kunststoffherstellung“ usw. gemacht. In der untersuchten Patienten-Population reagierten 2,3% der Getesteten positiv auf Epoxidharz (DGEBA-Harz), und eine Reaktion auf dieses Harz war mit einem fünffach erhöhten Risiko für eine positive Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan verbunden. Eine positive Reaktion auf Benzocain, die bei 9,1% der Getesteten beobachtet wurde, erhöhte das Risiko für eine allergische Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan um den Faktor 44, und eine positive Reaktion auf p-Phenylendiamin, wie sie bei 31,5% der Getesteten beobachtet wurde, um den Faktor 24 (Belloni Fortina et al. 2001).

Entsprechendes wurde auch aus Polen berichtet, wobei die Datenanalyse in dieser Kurzmitteilung nicht sehr ausgefeilt ist. Hier reagierten 27 von 1.633 konsekutiv getesteten Patienten (1,7%) positiv auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan; 13 dieser 27 Patienten hatten auch eine positive Reaktion auf p-Phenylendiamin und 7 auf Benzocain (Rudzki et al. 1995). Sowohl p-Phenylendiamin als auch (zumindest im weiteren Sinne) Benzocain gehören zur Gruppe der so genannten Para-Stoffe; das Phänomen der so genannten Para-Gruppen-Allergie, also einer allergischen Reaktion auf mehrere solcher Stoffe bei primärer Sensibilisierung gegen nur einen Vertreter der Gruppe ist lange bekannt (Uter et al. 2002b).

Daher kann eine allergische Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan auch auf eine primäre Sensibilisierung gegen z.B. das in Haarfarben enthalten p-Phenylendiamin zurückgehen.

Eine Untersuchung aus dem IVDK weist ebenfalls darauf hin, dass ein Teil der allergischen Reaktionen auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan wahrscheinlich auf eine so genannte Para-Gruppen-Allergie zurückzuführen ist. In den Jahren 1995 bis 1999 wurde in den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen bei 638 Patienten die Testreihe „Aromatische p-Aminoverbindungen“ der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG) epikutan getestet. 16,2% der Getesteten reagierten positiv auf p-Aminoazobenzol, 14,1% auf p-Phenylendiamin, 10,0% auf p-Toluyldiamin und 8,5% auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan. Die Konkordanz positiver Reaktionen auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan mit allen anderen p-Aminoverbindungen der Testreihe war mittelmäßig (Cohen's Kappa 0,2 bis 0,4). Zur klinischen Relevanz der Testreaktionen wurde nicht Stellung genommen (Uter et al. 2002b).

#### *Patienten mit Verdacht auf Klebstoff-Allergie*

Hillen et al. werteten Daten des IVDK von 829 Patienten aus, die in den Jahren 1996-2001 unter dem Verdacht auf eine Kontaktallergie gegen Klebstoffe epikutan getestet wurden. 336 dieser Patienten hatten eine Berufsdermatose. Allergische Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz 1% Vas. wurden bei 11,5% der Getesteten festgestellt; unter den Patienten mit Berufsdermatose lag der Prozentsatz höher (21,2%). 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. führte bei 5,3% zu positiven Reaktionen (7,0% bei den Patienten mit Berufsdermatose) (Hillen et al. 2007).

Tarvainen berichtete 1995 über die Testergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe, die in der Universitäts-Hautklinik Helsinki in den Jahren 1985 bis 1992 beobachtet wurden. Sieben von 839 mit 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. Getesteten reagierten positiv. Eine klinische Relevanz der Reaktion konnte in nur 2 der 7 Fälle festgestellt werden. Der eine Patient war durch eine epoxidharzhaltige Farbe sensibilisiert worden. Der andere war gegenüber einem Kleber exponiert, der Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat enthielt, was bei Kontakt mit Wasser oder Feuchtigkeit, so auch auf der Haut, rasch zu 4,4'-Diaminodiphenylmethan reagiert (siehe unten) (Tarvainen 1995).

Im Jahr 1997 publizierten Kanerva et al. die Ergebnisse der Epikutantestungen, die in einem Drei-Jahres-Zeitraum (keine näheren Angaben) mit einer 50 Substanzen umfassenden Plastik- und Kleber-Testreihe im FIOH erzielt wurden (Kanerva et al. 1997b). Am häufigsten ergaben sich allergische Reaktionen auf Phenylglycidylether 0,25% Vas. (5 Positive / 145 Getesteten = 3,4%) und 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. (5 / 174 = 2,9%). Angaben zur klinischen Relevanz der positiven Reaktionen und zu Kreuzreaktionen wurden nicht gemacht (Kanerva et al. 1997b).

Aus den drei dermatologischen Abteilungen der US-amerikanischen Mayo-Kliniken wurden 2010 die Epikutantestergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe mitgeteilt. Von 444 in den Jahren 2000 bis 2007 getesteten Patienten reagierten 12 (2,7%) allergisch auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan (0,5% Vas.); alle Reaktionen wurden als klinisch relevant angesehen (keine weiteren Angaben). Zu Kreuzreaktionen wurde in dem Bericht nicht Stellung genommen (Shmidt et al. 2010).

#### *Patienten mit Verdacht auf Epoxidharz-Allergie*

Im FIOH wurden in den Jahren 1974 bis 1983 insgesamt 542 Fälle von beruflich bedingtem Kontaktekzem untersucht. In 71 Fällen handelte es sich um ein allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz; 68 dieser Patienten reagierten im Epikutantest auf DGEBA-Harz 1% Vas. 19 Patienten reagierten allergisch auf einen Härter; alle diese Patienten waren gegen Epoxidharz sensibilisiert. Bei 9 Patienten war nur der Epikutantest mit dem Härter vom Arbeitsplatz positiv, bei 6 Patienten die Testung mit 4,4'-Diaminodiphenylmethan (0,5% Vas.). Drei Patienten reagierten positiv auf Triethylentetramin (0,5% Vas.) und einer auf Ethylendiamin (1% Vas.). Nähere Angaben wurden in dieser summarischen Zusammenstellung nicht gemacht (Jolanki et al. 1987b).

In den Jahren 1984 bis 1988 wurden im FIOH 40 Patienten untersucht, die beim Umgang mit Epoxidharz-Systemen Hautveränderungen erlitten hatten. Vier dieser Patienten reagierten positiv auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. In einem Fall wurde dies auf eine zusätzliche Exposition gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat zurückgeführt, das mit Wasser zu 4,4'-Diaminodiphenylmethan reagiert (siehe unten). In einem weiteren Fall konnte eine Exposition gegenüber 4,4'-Diaminodiphenylmethan definitiv ausgeschlossen werden, so dass die klinische Relevanz der Reaktion bzw. Sensibilisierungsquelle unklar blieb. Bei den beiden weiteren Patienten mit positiver Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan wurden keine Angaben zur klinischen Relevanz gemacht (Jolanki et al. 1990).

2001 wurde eine retrospektive Analyse von Daten von 182 Patienten mit allergischem Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme, die im Laufe von 22 Jahren am FIOH untersucht worden waren, publiziert. Bei 43 dieser Patienten wurde eine Sensibilisierung gegen Härter festgestellt, wobei 4,4'-Diaminodiphenylmethan mit 14 Fällen am häufigsten genannt wurde. Es handelt sich bei diesem Bericht um eine summarische Auflistung positiver Testreaktionen ohne weitere konkrete oder individuelle Angaben wie z.B. Häufigkeit der Epikutantestung mit der jeweiligen Substanz, klinische Relevanz der beobachteten Reaktionen, Exposition der Patienten oder Testkonzentrationen etc. Es wurde eingeräumt, dass in den meisten Fällen die individuelle Exposition nicht genau eruiert werden konnte (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Dabei erwies sich 4,4'-Diaminodiphenylmethan (0,5% Vas.) mit 4,5 % positiven Reaktionen (4 von 88 Getesteten) als das dritthäufigste Allergen unter den Härtern. Die klinische Relevanz der durchweg schwach positiven Reaktionen konnte aber nicht geklärt werden; 4,4'-Diaminodiphenylmethan war in keinem der von den Patienten verwendeten Produkte enthalten (Geier et. al 2004).

Holness und Nethercott berichteten 1993 von 167 Patienten aus einer auf Berufskrankheiten spezialisierten Klinik, bei denen 1981 bis 1988 wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie eine spezielle Epoxidharz-Testreihe epikutan getestet worden war. Von 166 getesteten Patienten reagierten 4 (2,4%) positiv auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas., wobei in allen Fällen eine klinische Relevanz gegeben war (keine näheren Angaben). Drei dieser Patienten reagierten auch auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, bei dem vierten wurde das Harz offenbar nicht getestet (Holness und Nethercott 1993). Dieselben Ergebnisse wurde 1997 noch einmal in einer anderen Zeitschrift publiziert (Holness und Nethercott 1997).

#### *Patienten mit anderen Expositionen*

In der dermatologischen Abteilung des Institutes für Arbeitssicherheit und Arbeitsmedizin der Universität Madrid wurden in den Jahren 1989-1992 15 Fußbodenleger mit Ekzem nach dem Umgang mit Epoxidharz-Systemen untersucht. Zwölf von ihnen hatten ein Handekzem oder ein Ekzem der Unterarme, 8 ein Gesichtsekzem. Neun Patienten erkrankten innerhalb der ersten drei Monate, in denen sie mit Epoxidharzen arbeiteten, weitere vier innerhalb der folgenden 15 Monate. Nähere Informationen über die Zusammensetzung der verwendeten Epoxidharz-Systeme waren in der Regel nicht verfügbar. Im Epikutantest reagierten 14 Patienten positiv auf Epoxidharz, 5 auf Phenylglycidylether und 3 auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan. Die Sensibilisierungen gegen Phenylglycidylether wurden ausschließlich bei Patienten mit Epoxidharz-Allergie beobachtet, während ein Patient ausschließlich gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan sensibilisiert war (Condé-Salazar et al. 1994).

Camarasa und Serra-Baldrich berichteten 1989 über einen Patienten mit allergischem Kontaktekzem der Hände nach längerjährigem Umgang mit Epoxidharz-Produkten, der gegen Isophorondiamin, 4,4'-Diaminodiphenylmethan, Triethylentetramin und Diethylentriamin sensibilisiert war (Camarasa und Serra-Baldrich 1989).

Aus der Universitäts-Hautklinik in Barcelona wurde berichtet, dass bei 3 Patienten mit Fußekzem eine Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan nachgewiesen wurde. Das Fußekzem wurde im Zusammenhang mit dem Tragen von Schuhen aus Asien

beobachtet. Obwohl in diesen Fällen die Sensibilisierungsquelle nicht ermittelt werden konnte und ebenso unklar blieb, ob 4,4'-Diaminodiphenylmethan in den fraglichen Schuhen enthalten war, empfahlen die Autoren, die Substanz in eine Schuh-Testreihe aufzunehmen (Grimalt et al. 2009).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Pontén et al. untersuchten 2001 systematisch Fälle von berufsbedingtem Kontaktekzem in einer großen dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen im Handlaminierverfahren hergestellt wurden. Dabei kamen unterschiedliche Epoxidharz-Systeme zum Einsatz. Auf diese Weise waren die Beschäftigten gegenüber Epoxidharzen auf Basis von DGEBA, DGEBF, Trimethylolpropan-triglycidylether und Tetraglycidyl-4,4'-methyldianilin exponiert. Die verwendeten Reaktivverdünner enthielten 1,4-Butandiolglycidylether und 1,6-Hexandiolglycidylether sowie C13-C15-Alkylglycidylether. Die in der Produktion verwendeten Härter enthielten 4,4'-Diaminodiphenylmethan, Diethylentriamin und Triethyltetramin. Bei 66 Erkrankten wurden Epikutantestungen durchgeführt, wobei 34 auf das DGEBA-Harz und 26 auf das DGEBF-Harz reagierten. Acht Patienten reagierten allergisch auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan (Pontén et al. 2004b, Pontén et al. 2004c). Die hier referierten Daten zur Sensibilisierung wurden 2005 auch in einer weiteren Publikation dargestellt, die jedoch auch andere Aspekte der beruflich bedingten Hauterkrankungen beleuchtet (Rasmussen et al. 2005).

Grundsätzlich besteht bei jeder Epikutantestung die Gefahr, dass der Patient durch die Testung sensibilisiert wird (so genannte aktive Sensibilisierung). Meist äußert sich dieser Vorgang darin, dass eine positive Testreaktion nach 10 Tagen oder später auftritt, und ein danach wiederholter Epikutantest in der normalen Zeitspanne von ca. 3 Tagen positiv wird. Isaksson und Gruvberger, Malmö, berichteten 2003 über eine Patientin, bei der 25 Tage nach einem Epikutantest positive Reaktionen neu auftraten. Die Testfelder konnten nach dieser Zeit noch orientierend den Allergenen zugeordnet werden. Bei der Wiederholung des Epikutantests kam es innerhalb der üblichen Ablesezeitraumes zu einer stark positiven Reaktion auf das Konservierungsmittelgemisch Chlormethylisothiazolinon und Methylisothiazolinon (MCI/M; 200 ppm Aqu.) und 4,4'-Diaminodiphenylmethan (0,5% Vas.) (Isaksson und Gruvberger 2003).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Sensibilisierungen gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan können auch Ausdruck einer immunologischen Kreuzreaktion bei primärer Sensibilisierung gegen andere in Para-Stellung disubstituierte aromatische Amine, insbesondere p-Phenylendiamin oder p-Aminoazobenzol, sein (siehe oben).

Da Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat bei Kontakt mit Wasser oder Feuchtigkeit, wie es auf der Haut gegeben ist, zu 4,4'-Diaminodiphenylmethan reagiert, ist bei Exposition gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat immer auch eine Exposition gegenüber 4,4'-Diaminodiphenylmethan gegeben, die zu einer entsprechenden Sensibilisierung führen kann. Außerdem kann Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat auch auf einem anderen Weg auf und in der Haut zu 4,4'-Diaminodiphenylmethan ungewandelt werden. Daher wird 4,4'-Diaminodiphenylmethan auch als Surrogat-Epikutantestsubstanz bei Verdacht auf Kontaktallergie gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat empfohlen (Frick-Engfeldt et al. 2007).

12 Arbeiter wurden durch den Kontakt mit einer Polyurethanvergussmasse auf Basis von Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat sensibilisiert. Sieben dieser Patienten wurden auch epikutan mit 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% und 1% in Aceton getestet, bei 5 von ihnen mit positivem Ergebnis. Bei 4 dieser 5 Personen wurde eine vorangehende 4,4'-Diaminodiphenylmethan-Exposition ausgeschlossen (Rothe 1976).

Auch darüber hinaus existieren mehrerer Einzelfallberichte von Patienten, die sich durch eine entsprechende Exposition (in der Regel gegenüber nicht polymerisiertem Polyurethan) gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat sensibilisiert haben, und dann im Epikutantest auch auf das korrespondierende Amin 4,4'-Diaminodiphenylmethan allergisch reagierten (Frick et al. 2003b, Hannu et al. 2005, Schröder et al. 1999).

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

4,4'-Diaminodiphenylmethan wird offenbar aktuell nur noch selten in Epoxidharz-Systemen eingesetzt. In Reihenuntersuchungen findet man oft positive Reaktionen auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan, deren klinische Relevanz jedoch meist schwer zu klären ist. Nur in seltenen Fällen kann tatsächlich Exposition gegenüber 4,4'-Diaminodiphenylmethan nachgewiesen werden. Sensibilisierungen gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan können auch Ausdruck einer immunologischen Kreuzreaktion bei primärer Sensibilisierung gegen andere in Para-Stellung

disubstituierte aromatische Amine, insbesondere p-Phenylendiamin oder p-Aminoazobenzol, sein. Da Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat bei Kontakt mit Wasser oder Feuchtigkeit, wie es auf der Haut gegeben ist, zu 4,4'-Diaminodiphenylmethan reagiert, ist bei Exposition gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat immer auch eine Exposition gegenüber 4,4'-Diaminodiphenylmethan gegeben, die zu einer entsprechenden Sensibilisierung führen kann. Außerdem kann Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat auch auf einem anderen Weg auf und in der Haut zu 4,4'-Diaminodiphenylmethan umgewandelt werden. Daher wird 4,4'-Diaminodiphenylmethan auch als Surrogat-Epikutantestsubstanz bei Verdacht auf Kontaktallergie gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat empfohlen (Frick-Engfeldt et al. 2007).



### **3.3 Härter, aliphatische Amine**

#### **3.3.1 Ethylendiamin, CAS Nr. 000107-15-3**

Ethylendiamin wird nicht nur in Epoxidharz-Systemen, sondern auch als Hilfsstoff in Schmierstoffen und Medikamenten verwendet. Sensibilisierungen, die beim Menschen insgesamt eher selten beschrieben werden, können daher durch unterschiedliche Expositionen erworben werden. Oft ist die klinische Relevanz einer positiven Testreaktion nicht eindeutig zu klären. Aus dem Gesagten ergibt sich, dass ggf. die Sensibilisierungsquelle durchaus nicht immer ein Epoxidharz-System sein muss, wo Ethylendiamin insgesamt offenbar sehr selten eingesetzt wird (Nennung in nur 9 Sicherheitsdatenblättern bei GISBAU, davon keines nach 2005 erstellt (Kersting 2011)).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

In mehreren retrospektiven Datenanalysen wird über positive Epikutantestreaktionen auf Ethylendiamin berichtet; dabei handelt es sich meist um Testungen mit Ethylendiamin im Rahmen der Standardreihe, also um relativ ungezielte Testungen. Im Allgemeinen werden aus den USA höhere Reaktionsquoten berichtet als z.B. aus Deutschland, was vermutlich mit der dort höheren Verbreitung von Ethylendiamin als Hilfsstoff in medizinischen Externa zusammenhängt. Eine umfassende Zusammenstellung dieser Arbeiten findet sich in der Begründung des MAK-Wertes für Ethylendiamin (Anonymus 2003).

1976 wurde eine retrospektive Datenanalyse von Rudzki und Krajewska publiziert. Sie hatten bei insgesamt 1544 konsekutiven Patienten und bei 137 Patienten mit Berufsdermatose Ethylendiamin, Diethylentriamin und Triethylentetramin epikutan getestet. Die Testkonzentrationen wurden nicht angegeben. Da nicht alle Patienten mit allen drei Allergenen getestet wurden, konnten keine vergleichenden Aussagen zur Häufigkeit positiver Reaktionen gemacht werden. Alle 23 Patienten mit positiver Reaktion auf Ethylendiamin reagierten auch auf Triethylentetramin. Weitere 48 Patienten mit positiver Reaktion auf Triethylentetramin reagierten nicht auf Ethylendiamin. Ebenso reagierten alle 40 mit positiver Reaktion auf Diethylentriamin auch auf Triethylentetramin. Weitere 12 Patienten mit positiver Reaktion auf Triethylentetramin reagierten dagegen nicht auf Diethylentriamin. Zur klinischen Relevanz der Reaktionen und zur (beruflichen) Exposition der Getesteten gegenüber den Allergenen wurde nicht Stellung genommen. Die Autoren räumten ein, dass mit diesen Zahlen die Frage, ob es sich um immunologische Kreuzreaktionen oder gleichzeitige

Sensibilisierungen gegen mehrere Allergen handelte, nicht geklärt war (Rudzki und Krajewska 1976).

Im FIOH wurden in den Jahren 1974 bis 1983 insgesamt 542 Fälle von beruflich bedingtem Kontaktekzem untersucht. In 71 Fällen handelte es sich um ein allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz; 68 dieser Patienten reagierten im Epikutantest auf DGEBA-Harz 1% Vas. 19 Patienten reagierten allergisch auf einen Härter; alle diese Patienten waren gegen Epoxidharz sensibilisiert. Bei 9 Patienten war nur der Epikutantest mit dem Härter vom Arbeitsplatz positiv, bei 6 Patienten die Testung mit 4,4'-Diaminodiphenylmethan (0,5% Vas.). Drei Patienten reagierten positiv auf Triethylentetramin (0,5% Vas.) und einer auf Ethylendiamin (1% Vas.). Nähere Angaben wurden in dieser summarischen Zusammenstellung nicht gemacht (Jolanki et al. 1987b).

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 83 allergisch auf Epoxidharz-Härter; 2 dieser Patienten reagierten auf ein Ethylendiamin. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, der klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Bei 86 Patienten wurde Ethylendiamin-di-HCl 1% Vas. epikutan getestet; dabei wurden keine positiven Reaktionen beobachtet (Geier et al. 2004).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

In zahlreichen Einzelfallberichten wurden Sensibilisierungen gegen Ethylendiamin durch Epoxidharz-Systeme, Schmierstoffe oder Medikamente, in denen Ethylendiamin als Hilfsstoff enthalten war, beschrieben (z.B. van Hecke 1975). Eine umfassende Zusammenstellung dieser Arbeiten findet sich in der Begründung des MAK-Wertes für Ethylendiamin (Anonymus 2003).

Jolanki et al. berichteten 1996 über Hauterkrankungen in einer Ski-Fabrik. Von den 22 Beschäftigten litten 8 an einem berufsbedingten allergischen Kontaktekzem. Sechs dieser Patienten waren gegen Bestandteile der beruflich verwendeten Epoxidharz-Systeme

sensibilisiert, darunter auch 3 Patienten gegen Ethylendiamin (Testung mit Ethylendiamin-di-HCl 1% Vas (Jolanki et al. 1996).

Ein 24jähriger Chemiarbeiter, der mit Epoxidharz-Systemen Kontakt hatte, wurde wegen eines allergischen Kontaktekzems epikutan getestet. Er reagierte positiv auf Ethylendiamin-di-HCl 1% Vas., Kresylglycidylether 0,25% Vas. und Diisodecylphthalat 5% Vas. Wenngleich die Zusammensetzung des verwendeten Epoxidharz-Systems nicht bekannt war, so nahmen die Autoren dennoch an, dass sich der Patient durch die berufliche Epoxidharz-Exposition gegen Ethylendiamin sensibilisiert hat, da andere (konkurrierende) Expositionsquellen nicht vorlagen (Chieregato et al. 1994).

Ein 45jähriger Drahtzieher sensibilisierte sich durch den Umgang mit einem ethylendiaminhaltigen Schmierstoff gegen Ethylendiamin und erlitt ein allergisches Kontaktekzem der Hände und Unterarme. Im Epikutantest reagierte er nicht nur auf Ethylendiamin (1% Vas.) positiv, sondern auch auf Triethylentetramin (0,5% Vas.), was die Autoren als Ausdruck einer Kreuzreaktion interpretierten (Sasseville und Al-Khenaizan 1997).

Balato et al. beschrieben 50 Patienten mit Kontaktallergie gegen Ethylendiamin, von denen sich 48 durch die Anwendung von corticosteroidhaltigen Externa (Assocort Cream und/oder Halciderm Combi Ointment) sensibilisiert hatten. Alle Patienten reagierten im Epikutantest positiv auf Ethylendiamindihydrochlorid 1% Vas. Vier von 22 Getesteten reagierten darüber hinaus auch auf Diethylentriamin 1% Vas., was die Autoren wegen der engen chemischen Verwandtschaft beider Verbindungen auf immunologische Kreuzreaktionen zurückführten (Balato et al. 1984).

Corazza et al. beschrieben eine Krankenschwester mit Ekzem der Fingerkuppen, die sich durch den Umgang mit ethylendiaminhaltigen Aminophyllin-Zubereitungen gegen Ethylendiamin sensibilisiert hatte (Corazza et al. 1994).

Tarvainen berichtete 1995 über die Testergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe, die in der Universitäts-Hautklinik Helsinki in den Jahren 1985 bis 1992 beobachtet wurden. Drei von 505 mit Ethylendiamindihydrochlorid 1% Vas. Getesteten reagierten positiv. Eine klinische Relevanz der Reaktion konnte in allen drei Fällen festgestellt werden; die Patienten hatten sich nicht durch Epoxidharz-Systeme, sondern durch Corticosteroid-Cremes sensibilisiert (Tarvainen 1995).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Aussagekräftige Untersuchungen zu Kreuzreaktionen liegen nicht vor.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Ethylendiamin wird nicht nur in Epoxidharz-Systemen, sondern auch als Hilfsstoff in Schmierstoffen und Medikamenten verwendet. Ethylendiamin ist als Allergen mit sensibilisierenden Eigenschaften sowohl an der Haut als auch an den Atemwegen gut bekannt. Im Zusammenhang mit dem Einsatz von Epoxidharz-Systemen wurden nur einzelne Fälle von Kontaktallergien beschrieben, was an der geringen Verbreitung von Ethylendiamin in Epoxidharz-Systemen liegen dürfte. Kreuzallergien zwischen Ethylendiamin, Diethylentriamin und/oder Triethylentetramin werden aufgrund gleichzeitig auftretender Reaktionen im Epikutantest diskutiert, können aber anhand der vorliegenden Unterlagen nicht als gesichert angesehen werden.

### 3.3.2 Diethylentriamin, CAS Nr. 000111-40-0

In Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe scheint Diethylentriamin kaum verbreitet zu sein. Bei GISBAU liegen 65 Sicherheitsdatenblätter vor, in denen Diethylentriamin als Bestandteil genannt ist, davon wurden 10 nach 2005 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

1976 wurde eine retrospektive Datenanalyse von Rudzki und Krajewska publiziert. Sie hatten bei insgesamt 1544 konsekutiven Patienten und bei 137 Patienten mit Berufsdermatose Ethylendiamin, Diethylentriamin und Triethylentetramin epikutan getestet. Die Testkonzentrationen wurden nicht angegeben. Da nicht alle Patienten mit allen drei Allergenen getestet wurden, konnten keine vergleichenden Aussagen zur Häufigkeit positiver Reaktionen gemacht werden. Alle 23 Patienten mit positiver Reaktion auf Ethylendiamin reagierten auch auf Triethylentetramin. Weitere 48 Patienten mit positiver Reaktion auf Triethylentetramin reagierten nicht auf Ethylendiamin. Ebenso reagierten alle 40 mit positiver Reaktion auf Diethylentriamin auch auf Triethylentetramin. Weitere 12 Patienten mit positiver Reaktion auf Triethylentetramin reagierten dagegen nicht auf Diethylentriamin. Zur klinischen Relevanz der Reaktionen und zur (beruflichen) Exposition der Getesteten gegenüber den Allergenen wurde nicht Stellung genommen. Die Autoren räumten ein, dass mit diesen Zahlen die Frage, ob es sich um immunologische Kreuzreaktionen oder gleichzeitige Sensibilisierungen gegen mehrere Allergen handelte, nicht geklärt war (Rudzki und Krajewska 1976).

Holness und Nethercott berichteten 1993 von insgesamt 167 Patienten aus einer auf Berufskrankheiten spezialisierten Klinik, bei denen 1981 bis 1988 wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie eine spezielle Epoxidharz-Testreihe epikutan getestet worden war. Von 124 getesteten Patienten reagierten 3 (2,4%) positiv auf Diethylentriamin 1% Vas., wobei in zwei Fällen eine klinische Relevanz gegeben war (keine näheren Angaben). Zwei der drei Patienten mit positiver Reaktion auf Diethylentriamin reagierten auch auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA (Holness und Nethercott 1993). Dieselben Ergebnisse wurde 1997 noch einmal in einer anderen Zeitschrift publiziert (Holness und Nethercott 1997).

2001 wurde eine retrospektive Analyse von Daten von 182 Patienten mit allergischem Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme, die im Laufe von 22 Jahren am FIOH untersucht

worden waren, publiziert. Bei 43 dieser Patienten wurde eine Sensibilisierung gegen Härter festgestellt, wobei Diethylentriamin mit 10 Fällen am zweithäufigsten genannt wurde. Es handelt sich bei diesem Bericht um eine summarische Auflistung positiver Testreaktionen ohne weitere konkrete oder individuelle Angaben wie Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, klinische Relevanz der beobachteten Reaktionen, Exposition der Patienten oder Testkonzentrationen etc. Es wurde eingeräumt, dass in den meisten Fällen die individuelle Exposition nicht genau eruiert werden konnte (Jolanki et al. 1990, Jolanki et al. 2001).

In der ersten Phase von EPOX 2002 konnte nur eine positive Reaktion bei 87 Getesteten beobachtet werden (Geier et al. 2004).

Tarvainen berichtete 1995 über die Testergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe, die in der Universitäts-Hautklinik Helsinki in den Jahren 1985 bis 1992 beobachtet wurden. Nur einer von 343 mit Diethylentriamin 1% Vas. Getesteten reagierte positiv. Eine klinische Relevanz dieser Reaktion konnte nicht festgestellt werden (Tarvainen 1995).

Kanerva et al. stellten 1999 die Ergebnisse der Epikutantestungen mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe zusammen, die im FIOH in den Jahren 1991 bis 1996 bei insgesamt 360 Patienten registriert worden waren. Es ergaben sich folgende Reaktionsquoten: Bisphenol A 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Epichlorhydrin 0,1% Vas. 0/308 positiv = 0%; Diethylentriamin 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Triethylentetramin 0/356 positiv = 0%; Isophorondiamin 0,5% Vas. 0/311 positiv = 0%; Hexamethylentetramin 2% Vas. 7/357 positiv = 2,0%; Phenylglycidylether 0,25% Vas. 8/309 positiv = 2,6%; Kresylglycidylether 0,25% Vas. 5/311 positiv = 1,6%; Butylglycidylether 2/310 positiv = 0,6% (keine näheren Angaben) (Kanerva et al. 1999).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Jolanki et al. berichteten 1996 über Hauterkrankungen in einer Ski-Fabrik. Von den 22 Beschäftigten litten 8 an einem berufsbedingtem allergischen Kontaktekzem. Sechs dieser Patienten waren gegen Bestandteile der beruflich verwendeten Epoxidharz-Systeme sensibilisiert, darunter auch 2 gegen Diethylentriamin (Testkonzentration 1% Vas.) (Jolanki et al. 1996).

Pontén et al. untersuchten 2001 systematisch Fälle von berufsbedingtem Kontaktekzem in einer großen dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen im Handlaminierverfahren hergestellt wurden. Dabei kamen unterschiedliche Epoxidharz-Systeme zum Einsatz. Auf diese Weise waren die Beschäftigten gegenüber Epoxidharzen auf Basis von DGEBA, DGEBAF, Trimethylolpropan-triglycidylether und

Tetraglycidyl-4,4'-methyldianilin exponiert. Die in der Produktion verwendeten Härter enthielten 4,4'-Diaminodiphenylmethan, Diethylentriamin und Triethylentetramin. Bei 66 Erkrankten wurden Epikutantestungen durchgeführt, wobei 34 auf das DGEBA-Harz und 26 auf das DGEBF-Harz reagierten. Acht Patienten reagierten allergisch auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan, und jeweils 1 Patient auf Diethylentriamin und Triethylentetramin (Pontén et al. 2004b, Pontén et al. 2004c). Die hier referierten Daten zur Sensibilisierung wurden 2005 auch in einer weiteren Publikation dargestellt, die jedoch auch andere Aspekte der beruflich bedingten Hauterkrankungen beleuchtet (Rasmussen et al. 2005).

Hackett berichtete 1999 über 44 Patienten mit berufsbedingtem Kontaktekzem, die im Flugzeugbau mit Epoxidharz in Form so genannter „pre-pegs“ Kontakt hatten. Im Epikutantest konnte nachgewiesen werden, dass von diesen Patienten 11 gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 4 gegen Phenylglycidylether, 4 gegen Diethylentriamin und 3 gegen Triethylentetramin sensibilisiert waren (Hackett 1999).

Aus England wurde von drei Männern mit Kontaktallergie gegen Diethylentriamin berichtet, die Wasserleitungen unter Verwendung eines Epoxidharz-Systems reparierten, das unter anderem Diethylentriamin enthielt (Reed und Shaw 1999).

Außerdem berichteten Kanerva et al. 1990 von einem Lackierer mit Handekzem, der mit einer Epoxidharz-basierten Farbe umging, und sich ausschließlich gegen Diethylentriamin, nicht aber gegen das DGEBA-Harz oder andere Bestandteile des beruflich verwendeten Epoxidharz-Systems sensibilisiert hatte. Die Autoren betonten, dies sei der einzige von 100 bisher von Ihnen beobachteten Fällen von allergischem Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme, der nur gegen einen Härter, und nicht auch gegen ein Harz allergisch war (Kanerva et al. 1990).

Im darauffolgenden Jahr berichteten dieselben Autoren über einen weiteren derartigen Fall. Dabei handelte es sich um einen Fliesenleger, der sich durch den Umgang mit einem Epoxidharz-System zum Verkleben von Fußbodenfliesen gegen Diethylentriamin, nicht aber gegen Epoxidharz, sensibilisiert hatte. Der von ihm verwendete Härter bestand zu 98,5% aus Diethylentriamin (Kanerva et al. 1991).

Condé-Salazar et al. Beschrieben 1993 einen Installateur, der nach dem Umgang mit einem epoxidharzhaltigen Zweikomponentenkleber ein Handekzem erlitt. Der Patient war nicht nur gegen Epoxidharz, sondern auch gegen Diethylentriamin sensibilisiert, das in dem Kleber enthalten war (Condé-Salazar et al. 1993).

Camarasa und Serra-Baldrich berichteten 1989 über einen Patienten mit allergischem Kontaktekzem der Hände nach längerjährigem Umgang mit Epoxidharz-Produkten, der gegen Isophorondiamin, 4,4'-Diaminodiphenylmethan, Triethylentetramin und Diethylentriamin sensibilisiert war (Camarasa und Serra-Baldrich 1989).

Ein Patient, der beruflich regelmäßig mit Durchschlagpapier (NCR-Papier, „carbonless copy paper“) Umgang hatte, erlitt ein allergisches Kontaktekzem und reagierte im Epikutantest nicht nur auf das NCR-Papier allergisch, sondern auch auf das darin enthaltene Diethylentriamin, das in einer Verdünnungsreihe von 1% Vas. bis 0,032% Vas. getestet wurde. Selbst die niedrigste Testkonzentration ergab noch eine positive Reaktion. Ein Epoxidharz-System war nicht in dem Papier enthalten (Kanerva et al. 1993).

In der Werkstatt eines Goldschmieds wurde eine Mischung aus Fettsäuren und Diethylentriamin als Detergens für ein Ultraschallbad verwendet. Bei zwei Beschäftigten entwickelte sich ein Handekzem; in beiden Fällen konnte durch den Epikutantest mit Diethylentriamin 1% Vas. eine entsprechende Sensibilisierung nachgewiesen werden (Meding 1982).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Balato et al. beschrieben 50 Patienten mit Kontaktallergie gegen Ethylendiamin, von denen sich 48 durch die Anwendung von corticosteroidhaltigen Externa (Assocort Cream und/oder Halciderm Combi Ointment) sensibilisiert hatten. Alle Patienten reagierten im Epikutantest positiv auf Ethylendiamindihydrochlorid 1% Vas. Vier von 22 Getesteten reagierten darüber hinaus auch auf Diethylentriamin 1% Vas., was die Autoren wegen der engen chemischen Verwandtschaft beider Verbindungen auf immunologische Kreuzreaktionen zurückführten (Balato et al. 1984). Bei einer späteren Untersuchung an 32 Patienten mit Kontaktallergie gegen Ethylendiamin fanden dieselben Autoren positive Reaktionen auf folgende Verbindungen: Diethylentriamin 1% Vas. (17 / 32 = 53%), Triethylentetramin 1% Vas. (12 / 32 = 37,5%) Tetraethylenpentamin 1% Vas. (12 / 32 = 37,5%), 1,4-Diethylendiamin (6 / 32 = 19%) und Hexamethylentetramin (1 / 32 = 3%) (Balato et al. 1986).

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Kligman berichtete 1966 über den Human-Maximierungstest mit Diethylentriamin. Bei 25 Probanden wurde die Induktion mit Diethylentriamin 10% Vas. vorgenommen. Dabei wurde die Testsubstanz 48 Stunden okklusiv aufgebracht. Diese Prozedur wurde fünfmal nacheinander wiederholt. Die Auslösung erfolgte ebenfalls mit Diethylentriamin 10% Vas. Über den Zeitraum zwischen Induktion und Auslösung wurden keine genauen Angaben gemacht. Auf diese Weise konnten 21 von 25 Personen sensibilisiert werden. Kligman wertete Diethylentriamin daher als extremes Allergen (Kligman 1966).



- Zusammenfassung und Bewertung.

Sensibilisierungen gegen Diethylentriamin, das sich im Tierversuch und in einem 1966 durchgeführten Human-Maximierungstest, der nicht in allen Punkten heutigen Standards entspricht, als starkes Allergen erwies, werden auch bei exponierten Menschen beobachtet. Dass die absolute Zahl der Patienten mit Kontaktallergie gegen Diethylentriamin in der Literatur nicht sehr hoch ist, ist wahrscheinlich auf die aktuell eher nur geringe bis mäßige Verbreitung von Diethylentriamin in Epoxidharz-Systemen zurückzuführen. Kreuzallergien zwischen Diethylentriamin, Ethylendiamin und/oder Triethylentetramin werden aufgrund gleichzeitig auftretender Reaktionen im Epikutantest diskutiert, können aber anhand der vorliegenden Unterlagen nicht als gesichert angesehen werden.

### 3.3.3 Dipropylentriamin, CAS Nr. 000056-18-8

In Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe scheint Dipropylentriamin keine nennenswerte Rolle zu spielen. Bei GISBAU liegen nur 2 Sicherheitsdatenblätter vor, in denen Dipropylentriamin als Bestandteil genannt ist. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 83 allergisch auf Epoxidharz-Härter; einer dieser Patienten reagierten auf ein Dipropylentriamin. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angaben zur Testhäufigkeit, zur klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

Auf Dipropylentriamin konnte in der ersten Phase von EPOX 2002 nur eine positive Reaktion bei 87 Getesteten beobachtet werden (Geier et al. 2004). Nach der Verdoppelung der Testkonzentration auf 0,5 % Vas. in der zweiten Studienphase wurden 3,7 % positive Reaktionen beobachtet (3 von 81 Getesteten); außerdem stieg die Zahl fraglicher Reaktionen an.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Dipropylentriamin wurde bisher beim Menschen kaum allergologisch untersucht. Die Verbindung ist aktuell in Epoxidharz-Systemen offenbar nicht sehr weit verbreitet.

### 3.3.4 Trimethylhexamethyldiamin (TMD), CAS Nr. 025620-58-0

Trimethylhexamethyldiamin (syn. Trimethylhexan-1,6-diamin) wird in der Regel als Isomerengemisch eingesetzt und ist offenbar als Härter in Epoxidharz-Systemen, die im Baugewerbe verwendet werden, weit verbreitet: Bei GISBAU wurden 320 Sicherheitsdatenblätter gefunden, in denen Trimethylhexamethyldiamin genannt war, davon stammten 57 aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 83 allergisch auf Epoxidharz-Härter; 3 dieser Patienten reagierten auf ein Trimethylhexamethyldiamin. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, der klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase von EPOX 2002 wurde bei nur einem von 87 Patienten eine positive Reaktion auf Trimethylhexamethyldiamin beobachtet; allerdings war die Testkonzentration mit 0,25 % Vas. ziemlich niedrig, so dass falsch negative Testergebnisse möglich sind (Geier et al. 2004). Ab der zweiten Studienphase wurde die Testkonzentration auf 0,5 % Vas. erhöht; damit ergab sich insgesamt eine Reaktionsquote von 5% positiven Reaktionen (Geier 2010).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Dahlquist und Fregert berichteten 1979 von einem Patienten mit aerogenem Kontaktekzem, der Epoxidharz-Systeme anmischte. Er war nicht nur gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA sensibilisiert, sondern auch gegen Isophorondiamin und Trimethylhexamethyldiamin (Dahlquist und Fregert 1979a).

1991 publizierten Kanerva et al. den Fall eines Fußbodenbeschichters, der mit Epoxidharzen und Polyurethanharzen arbeitete, und bei dem sich ein arbeitsabhängig verlaufendes

aerogenes Gesichtsekzem entwickelte. Im Epikutantest konnte mit Testungen in abgestuften Konzentrationen eine Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz, Isophorondiamin, Trimethylhexamethylendiamin und m-Xylidendiamin nachgewiesen werden (Kanerva et al. 1991).

Kanerva et al. publizierten außerdem 1998 den Fall eines Lackierers, der mit verschiedenen Epoxidharz-Produkten gearbeitet hatte und gegen Isophorondiamin, Diethylentriamin, Tetraethylenpentamin, Trimethylhexamethylendiamin sensibilisiert war (Kanerva et al. 1998).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Trimethylhexamethylendiamin ist offenbar als Härter in Epoxidharz-Systemen, die im Baugewerbe verwendet werden, weit verbreitet. Im Vergleich dazu sind Berichte über Sensibilisierungen beim Menschen bisher selten, was daran liegen kann, dass Trimethylhexamethylendiamin nur selten getestet wurde, weil es bis vor einigen Jahren keine kommerziell erhältliche Testzubereitung gab.

### 3.3.5 Triethylentetramin, CAS Nr. 000112-24-3

Triethylentetramin wird offenbar als Härter in Epoxidharz-Systemen, die im Baugewerbe verwendet werden, häufig, aber nicht so oft wie Trimethylhexamethyldiamin eingesetzt. Bei GISBAU wurden 138 Sicherheitsdatenblätter gefunden, in denen Triethylentetramin genannt war, davon stammten 21 aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

In einer kurzen Mitteilung aus dem Jahr 1980 betonte Rudzki, dass in Polen Sensibilisierungen gegen Triethylentetramin häufig beobachtet worden seien. Er führt einige polnische Publikationen aus den 1960er und 1970er Jahren an, in denen über die Testergebnisse mit Triethylentetramin in Konzentrationen von 0,1%, 1% und 2% berichtet wurde (keine Angabe der verwendeten Vehikel). Die Reaktionsquoten lagen bei 20% (2 von 10 Getesteten), 23,5% (27 von 115), 35% (7 von 20), und 51,2% (229 von 447), während die Quoten positiver Reaktionen auf Epoxidharz in diesen Untersuchungen zwischen 28,7 und 80% lagen. Nähere Angaben zur Art der Studien, zur Exposition der Patienten, oder zur klinischen Relevanz der Testergebnisse wurden nicht gemacht (Rudzki 1980).

1976 wurde eine retrospektive Datenanalyse von Rudzki und Krajewska publiziert. Sie hatten bei insgesamt 1544 konsekutiven Patienten und bei 137 Patienten mit Berufsdermatose Ethylendiamin, Diethylentriamin und Triethylentetramin epikutan getestet. Die Testkonzentration war nicht angegeben. Da nicht alle Patienten mit allen drei Allergenen getestet wurden, konnten keine vergleichenden Aussagen zur Häufigkeit positiver Reaktionen gemacht werden. Alle 23 Patienten mit positiver Reaktion auf Ethylendiamin reagierten auch auf Triethylentetramin. Weitere 48 Patienten mit positiver Reaktion auf Triethylentetramin reagierten nicht auf Ethylendiamin. Ebenso reagierten alle 40 mit positiver Reaktion auf Diethylentriamin auch auf Triethylentetramin. Weitere 12 Patienten mit positiver Reaktion auf Triethylentetramin reagierten dagegen nicht auf Diethylentriamin. Zur klinischen Relevanz der Reaktionen und zur (beruflichen) Exposition der Getesteten gegenüber den Allergenen wurde nicht Stellung genommen. Die Autoren räumten ein, dass mit diesen Zahlen die Frage, ob es sich um immunologische Kreuzreaktionen oder gleichzeitige Sensibilisierungen gegen mehrere Allergene handelte, nicht geklärt war (Rudzki und Krajewska 1976).

Im FIOH wurden in den Jahren 1974 bis 1983 insgesamt 542 Fälle von beruflich bedingtem Kontaktekzem untersucht. In 71 Fällen handelte es sich um ein allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz; 68 dieser Patienten reagierten im Epikutantest auf DGEBA-Harz 1% Vas. 19 Patienten reagierten allergisch auf einen Härter; alle diese Patienten waren gegen Epoxidharz sensibilisiert. Bei 9 Patienten war nur der Epikutantest mit dem Härter vom Arbeitsplatz positiv, bei 6 Patienten die Testung mit 4,4'-Diaminodiphenylmethan (0,5% Vas.). Drei Patienten reagierten positiv auf Triethylentetramin (0,5% Vas.) und einer auf Ethylendiamin (1% Vas.). Nähere Angaben wurden in dieser summarischen Zusammenstellung nicht gemacht (Jolanki et al. 1987b).

2001 wurde eine retrospektive Analyse von Daten von 182 Patienten mit allergischem Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme, die im Laufe von 22 Jahren am FIOH untersucht worden waren, publiziert. Bei 43 dieser Patienten wurde eine Sensibilisierung gegen Härter festgestellt, wobei Triethylentetramin in 5 Fällen genannt wurde. Es handelt sich bei diesem Bericht um eine summarische Auflistung positiver Testreaktionen ohne weitere konkrete oder individuelle Angaben wie Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, klinische Relevanz der beobachteten Reaktionen, Exposition der Patienten oder Testkonzentrationen etc. Es wurde eingeräumt, dass in den meisten Fällen die individuelle Exposition nicht genau eruiert werden konnte (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase von EPOX 2002 reagierte 1 von 83 Getesteten allergisch auf Triethylentetramin (Geier et al. 2004). In der zweiten Studienphase reagierte keiner der 77 mit Triethylentetramin 0,5% Vas. Getesteten positiv.

Holness und Nethercott berichteten 1993 von insgesamt 167 Patienten aus einer auf Berufskrankheiten spezialisierten Klinik, bei denen 1981 bis 1988 wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie eine spezielle Epoxidharz-Testreihe epikutan getestet worden war. Von 162 getesteten Patienten reagierten 4 (2,5%) positiv auf Triethylentetramin 0,5% Vas., wobei in drei Fällen eine klinische Relevanz gegeben war (keine näheren Angaben). Zwei der vier Patienten mit positiver Reaktion auf Triethylentetramin reagierten auch auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA (Holness und Nethercott 1993). Dieselben Ergebnisse wurde 1997 noch einmal in einer anderen Zeitschrift publiziert (Holness und Nethercott 1997).

Tarvainen berichtete 1995 über die Testergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe, die in der Universitäts-Hautklinik Helsinki in den Jahren 1985 bis 1992 beobachtet wurden. Einer von 839 mit Triethylentetramin 0,5% Vas. Getesteten reagierten positiv. Eine klinische Relevanz der Reaktion konnte nicht festgestellt werden (Tarvainen 1995).

Kanerva et al. stellten 1999 die Ergebnisse der Epikutantestungen mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe zusammen, die im FIOH in den Jahren 1991 bis 1996 bei insgesamt 360 Patienten registriert worden waren. Es ergaben sich folgende Reaktionsquoten: Bisphenol A 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Epichlorhydrin 0,1% Vas. 0/308 positiv = 0%; Diethylentriamin 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Triethylentetramin 0/356 positiv = 0%; Isophorondiamin 0,5% Vas. 0/311 positiv = 0%; Hexamethylentetramin 2% Vas. 7/357 positiv = 2,0%; Phenylglycidylether 0,25% Vas. 8/309 positiv = 2,6%; Kresylglycidylether 0,25% Vas. 5/311 positiv = 1,6%; Butylglycidylether 2/310 positiv = 0,6% (keine näheren Angaben) (Kanerva et al. 1999).

Aus den drei dermatologischen Abteilungen der US-amerikanischen Mayo-Kliniken wurden 2010 die Epikutantestergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe mitgeteilt. Von 441 in den Jahren 2000 bis 2007 getesteten Patienten reagierten 2 (0,5%) allergisch auf Triethylentetramin (0,5% Vas.); alle Reaktionen wurden als klinisch relevant angesehen (keine weiteren Angaben) (Shmidt et al. 2010).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Jolanki et al. berichteten 1996 über Hauterkrankungen in einer Ski-Fabrik. Von den 22 Beschäftigten litten 8 an einem berufsbedingten allergischen Kontaktekzem. Sechs dieser Patienten waren gegen Bestandteile der beruflich verwendeten Epoxidharz-Systeme sensibilisiert, darunter auch 3 Patienten gegen Triethylentetramin (Testkonzentration 0,5% Vas.) (Jolanki et al. 1996).

Pontén et al. untersuchten 2001 systematisch Fälle von berufsbedingtem Kontaktekzem in einer großen dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen im Handlaminierverfahren hergestellt wurden. Dabei kamen unterschiedliche Epoxidharz-Systeme zum Einsatz. Auf diese Weise waren die Beschäftigten gegenüber Epoxidharzen auf Basis von DGEBA, DGEBF, Trimethylolpropan-triglycidylether und Tetraglycidyl-4,4'-methyldianilin exponiert. Die in der Produktion verwendeten Härter enthielten 4,4'-Diaminodiphenylmethan, Diethylentriamin und Triethylentetramin. Bei 66 Erkrankten wurden Epikutantestungen durchgeführt, wobei 34 auf das DGEBA-Harz und 26 auf das DGEBF-Harz reagierten. Acht Patienten reagierten allergisch auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan, und jeweils 1 Patient auf Diethylentriamin und Triethylentetramin (Pontén et al. 2004b, Pontén et al. 2004c). Die hier referierten Daten zur Sensibilisierung wurden 2005 auch in einer weiteren Publikation dargestellt, die jedoch auch andere Aspekte der beruflich bedingten Hauterkrankungen beleuchtet (Rasmussen et al. 2005).

Hackett berichtete 1999 über 44 Patienten mit berufsbedingtem Kontaktekzem, die im Flugzeugbau mit Epoxidharz in Form so genannter „pre-pegs“ Kontakt hatten. Im Epikutantest konnte nachgewiesen werden, dass von diesen Patienten 11 gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 4 gegen Phenylglycidylether, 4 gegen Diethylentriamin und 3 gegen Triethylentetramin sensibilisiert waren (Hackett 1999).

In den Niederlanden untersuchten van Putten et al. Anfang der 1980er Jahre 135 im Baugewerbe tätige Männer, die gegenüber Epoxidharz-Systemen exponiert waren. 26 dieser 135 Männer hatten innerhalb der letzten drei Jahre Hautveränderungen an den Händen und/oder Unterarmen gehabt. Zwar wird in der Publikation die Zusammensetzung der eingesetzten Epoxidharz-Systeme nicht genau erwähnt; die Autoren schreiben aber, dass sie aufgrund der Informationen über die berufliche Exposition vier Komponenten für die Epikutantestung ausgewählt haben, nämlich: DGEBA-Harz 1% Vas., Isophorondiamin 0,1% in Olivenöl, Triethylentetramin 0,5% Vas., und m-Xylidendiamin 0,1% Vas. Positive Reaktionen auf das DGEBA-Harz ergaben sich bei 14 von 23 Ekzem-Patienten (61%) und bei 11 von 112 Männern ohne Ekzem (10%). Positive Reaktionen auf Triethylentetramin ergaben sich keinem der 23 Ekzem-Patienten (61%) und bei 2 von 112 Männern ohne Ekzem (2%) (van Putten et al. 1984).

Camarasa und Serra-Baldrich berichteten 1989 über einen Patienten mit allergischem Kontaktekzem der Hände nach langjährigem Umgang mit Epoxidharz-Produkten, der gegen Isophorondiamin, 4,4'-Diaminodiphenylmethan, Triethylentetramin und Diethylentriamin sensibilisiert war (Camarasa und Serra-Baldrich 1989).

Aus dem Jahr 1976 stammt eine Mitteilung aus Polen über Epikutantestergebnisse an 99 Ekzempatienten, die beruflich gegenüber einem Epoxidharz-System exponiert waren, in dem Triethylentetramin als Härter enthalten war. Die Testungen erfolgten mit Triethylentetramin 1% in Wasser. Es zeigten 55 Patienten eine positive Testreaktion (Krajewska und Rudzki 1976). Angesichts der hohen Testkonzentration und der Verwendung von Wasser als Vehikel ist anzunehmen, dass hier bei weitem nicht alle positiven Reaktionen tatsächlich Ausdruck einer Kontaktallergie waren, sondern auch viele falsch-positive, irritative Reaktionen aufgetreten sind.



- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Bei einer Untersuchung an 32 Patienten mit Kontaktallergie gegen Ethylendiamin fanden Balato et al. positive Reaktionen auf folgende Verbindungen: Diethylentriamin 1% Vas. (17 / 32 = 53%), Triethylentetramin 1% Vas. (12 / 32 = 37,5%) Tetraethylenpentamin 1% Vas. (12 / 32 = 37,5%), 1,4-Diethylendiamin (6 / 32 = 19%) und Hexamethylentetramin (1 / 32 = 3%) (Balato et al. 1986).

Aus England kommt ein Fallbericht von Kontaktallergie gegen Diethylentriamin; der betroffene Patient reagierte im Epikutantest auch positiv auf Triethylentetramin 0,5% Vas. Im Gegensatz zu Diethylentriamin war Triethylentetramin jedoch nicht in dem beruflich verwendeten Epoxidharz-System enthalten (Reed und Shaw 1999).

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Allergische Reaktionen auf Triethylentetramin wurden bei Patienten, die wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie getestet wurden, mit unterschiedlicher Häufigkeit beobachtet. Während Berichte mit hohen Reaktionsquoten auf zum Teil recht hohe Testkonzentrationen aus Polen aus den 1970er Jahren stammen, zeigen aktuellere Reihenuntersuchungen aus anderen Teilen Europas und aus den USA deutlich geringere Reaktionsquoten. Ob dies auf eine relativ geringe allergene Potenz oder auf die nur mäßige Verbreitung dieses Härter zurückzuführen ist, kann anhand der vorliegenden Unterlagen nicht entschieden werden. Kreuzallergien zwischen Diethylentriamin, Ethylendiamin und/oder Triethylentetramin werden aufgrund gleichzeitig auftretender Reaktionen im Epikutantest diskutiert, können aber anhand der vorliegenden Unterlagen nicht als gesichert angesehen werden.

### 3.3.6 N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan, CAS Nr. 000109-55-7

N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan (syn. 3-Dimethylaminopropylamine; 3-Aminopropyl-dimethylamin; DMAPA) ist in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe offenbar kaum verbreitet. Nach Informationen von GISBAU wurde DMAPA in nur 18 Sicherheitsdatenblättern gefunden, davon 6 aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter (Kersting 2011).

DMAPA ist aus einem anderen Bereich als den Epoxidharz-Systemen als Allergen bekannt: Cocamidopropylbetain (CAPB; coconut oil amidopropyl betaine; CAS 61789-40-0) ist eine oberflächenaktive Verbindung, die sehr weit verbreitet in Flüssigseifen, Duschgels, Shampoos, Zahnpasten, Körperpflegeprodukten, Kosmetika usw. eingesetzt wird. CAPB wird aus langkettigen Alkylbetainen hergestellt. Im ersten Produktionsschritt reagieren Kokosfettsäuren mit DMAPA, wobei Cocamidopropyldimethylamin (auch „Amidoamin“ genannt) entsteht. Dieses „Amidoamin“ wird dann mit Natriummonochloracetat zu CAPB umgesetzt. CAPB kann als Verunreinigung sowohl DMAPA als auch „Amidoamin“ enthalten (Schnuch et al. 2011). In den 1990er Jahren wurden zunehmend allergische Reaktionen auf CAPB beobachtet (de Groot et al. 1995). Genauere Untersuchungen ergaben jedoch Hinweise darauf, dass nicht das CAPB selbst, sondern sehr wahrscheinlich das als Verunreinigung enthaltene DMAPA das verantwortliche Allergen war (Angelini et al. 1995, Foti et al. 2003).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Wie bereits erwähnt, beschrieben Angelini et al. Sensibilisierungen gegen DMAPA bei 30 Patienten mit Kontaktallergie gegen CAPB. Die Epikutantestung erfolgte mit DMAPA 1% in Wasser (Angelini et al. 1995). Pigatto et al. untersuchten 12 Patienten mit Kontaktekzem nach der Anwendung von CAPB-haltigen Produkten. Alle reagierten im Epikutantest auf DMAPA 1%, 0,5% und 0,1% in Vaseline (Pigatto et al. 1995). Foti et al. berichteten von weiteren 10 Patienten mit Kontaktallergie gegen CAPB, die auf DMAPA 1% in Wasser positiv (allergisch) reagierten (Foti et al. 2003). Fowler dagegen konnte bei keinem von 9 Patienten mit Kontaktallergie gegen CAPB eine positive Epikutantestreaktion auf DMAPA 0,1% Vas.

feststellen. Als mögliche Erklärungen für die Diskrepanz zu den Ergebnissen aus Italien von Angelini et al. und Foti et al. diskutierten die Autoren falsch positive Ergebnisse bei den italienischen Untersuchungen oder unterschiedliche Gehalte an DMAPA in CAPB aus Italien und den USA (Fowler et al. 1997). Auch McFadden et al. zweifelten aufgrund ihrer Epikutantest-Studie mit Verdünnungsreihen an 6 CAPB-Allergikern daran, dass DMAPA das verantwortliche Allergen ist, weil positive Reaktionen auf DMAPA nur bei höheren Konzentrationen (10.000 ppm = 1%) und/oder nach Tape-Stripping bzw. mit Zugabe von Natriumlaurylsulfat auslösbar waren (McFadden et al. 2001).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Sensibilisierungen gegen DMAPA wurden im Zusammenhang mit Epoxidharz-Systemen nicht beschrieben. Es spricht vieles dafür, dass DMAPA das verantwortliche Allergen bei Fällen von allergischem Kontaktekzem durch CAPB war.

### 3.3.7 Tetraethylenpentamin, CAS Nr. 000112-57-2

Tetraethylenpentamin ist in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe kaum verbreitet. Nach Informationen von GISBAU wurde Tetraethylenpentamin in 94 Sicherheitsdatenblättern gefunden, davon 21 aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter (Kersting 2011).

Tetraethylenpentamin wird zwar in berufsdermatologischen Handbüchern und Übersichtsarbeiten als Allergen in Epoxidharz-Systemen aufgeführt, aber offenbar nicht regelmäßig bei entsprechenden Patienten getestet.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Jolanki et al. nennen in ihrer retrospektiven Zusammenstellung von Allergenen in Härtern, die im Laufe von 22 Jahren in der dermatologischen Abteilung des FIOH beobachtet wurden, einen einzigen Fall von Kontaktallergie gegen Tetraethylenpentamin (Jolanki et al. 2001). Die Autoren haben allerdings nicht angegeben, wie oft die Substanz getestet wurde. Bei dem genannten Patienten dürfte es sich um den von Kanerva et al. publizierten Fall eines Lackierers handeln, der mit verschiedenen Epoxidharz-Produkten Umgang hatte und gegen Isophorondiamin, Diethylentriamin, Tetraethylenpentamin, sowie Trimethylhexamethylen-diamin sensibilisiert war (Kanerva et al. 1998).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Bei einer Untersuchung an 32 Patienten mit Kontaktallergie gegen Ethylendiamin fanden Balato et al. positive Reaktionen auf folgende Verbindungen: Diethylentriamin 1% Vas. (17 / 32 = 53%), Triethylentetramin 1% Vas. (12 / 32 = 37,5%) Tetraethylenpentamin 1% Vas. (12 / 32 = 37,5%), 1,4-Diethylendiamin (6 / 32 = 19%) und Hexamethylentetramin (1 / 32 = 3%) (Balato et al. 1986).

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Im Zusammenhang mit Epoxidharz-Systemen wurde Tetraethylenpentamin beim Menschen nur einmal als Allergen beschrieben, was wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, dass die Substanz kaum untersucht wurde. Dies wiederum ist vor allem darauf zurückzuführen, dass keine entsprechende Testzubereitung für den Epikutantest kommerziell verfügbar ist.

### **3.3.8 Pentaethylenhexamin, CAS Nr. 004067-16-7**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### **3.3.9 Polyethylenpolyamin, CAS Nr. 068131-73-7**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### **3.3.10 Polyethylenamine, CAS Nr. 026336-38-9**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.



### 3.4 Härter, cycloaliphatische Amine

#### 3.4.1 4,4'-Diaminocyclohexylmethan, CAS Nr. 001761-71-3

4,4'-Diaminocyclohexylmethan (syn. Dicyclohexylmethan-4,4'-diamin; 4,4'-(methylenebis)-cyclohexylamine; Dicykan) ist in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe kaum verbreitet. Nach Informationen von GISBAU wurde 4,4'-Diaminocyclohexylmethan in nur 23 Sicherheitsdatenblättern gefunden, davon 11 aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Auf 4,4'-Diaminocyclohexylmethan wurden in der ersten Phase der Untersuchung EPOX 2002 bei 87 Patienten keine positiven Testreaktionen beobachtet (Geier et al. 2004). Die damals verwendete Testkonzentration lag mit 0,25 % Vas. recht niedrig; sie wurde in der zweiten Phase von EPOX 2002 auf 0,5 % Vas. und in der dritten Phase auf 1 % Vas. erhöht. Insgesamt ergaben sich in EPOX 2002 3 positive Reaktionen auf 4,4'-Diaminocyclohexylmethan bei 201 Getesteten; zur klinischen Relevanz der Testreaktionen gibt es keine Informationen (Geier et al. 2010).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Der einzige Bericht über Kontaktallergien gegen 4,4'-Diaminocyclohexylmethan, der in der Literatur gefunden wurde, bezieht sich auf 13 Patienten, die sich bei der Arbeit mit einem Kleber auf Basis von Dicyclohexylmethan-4,4'-diisocyanat (DMDI) sensibilisiert haben. Der Kleber enthielt neben DMDI auch das korrespondierende Amin, nämlich 4,4'-Diaminocyclohexylmethan. Fünf der 13 gegen DMDI sensibilisierten Patienten reagierten im Epikutantest auch allergisch auf 4,4'-Diaminocyclohexylmethan; die Reaktionen können Ausdruck einer immunologischen Kreuzreaktion bei primärer Sensibilisierung gegen DMDI sein, oder einer gleichzeitig durch Ko-Exposition erworbenen Kontaktallergie (Frick et al. 2003a).

Bei einer Untersuchung von beruflich bedingten Kontaktallergien in einer dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen hergestellt wurden, fiel auf, dass 14 erkrankte Beschäftigte allergisch auf einen Härter reagierten, der unter anderem 4,4'-Diaminocyclohexylmethan enthielt. Bei der Nachtestung mit 4,4'-Diaminocyclohexylmethan (0,5 % Vas.), die allerdings nur bei 5 dieser 14 Pat. durchgeführt wurde, ergaben sich jedoch keine allergischen Reaktionen (Pontén et al. 2004b, Rasmussen et al. 2005).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar

- Zusammenfassung und Bewertung.

Beim Menschen wurden Sensibilisierungen gegen 4,4'-Diaminocyclohexylmethan nur vereinzelt beobachtet. Die Substanz ist in wahrscheinlich nur gering in Epoxidharz-Systemen verbreitet und wurde allergologisch bisher kaum untersucht. Dicyclohexylmethan-4,4'-diisocyanat kann bei Kontakt mit Wasser oder Feuchtigkeit, wie es auf der Haut gegeben ist, zu 4,4'-Diaminocyclohexylmethan reagieren. Daher ist bei Exposition gegenüber Dicyclohexylmethan-4,4'-diisocyanat immer auch eine Exposition gegenüber 4,4'-Diaminocyclohexylmethan gegeben, die zu einer entsprechenden Sensibilisierung führen kann.

### **3.4.2 Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methane, CAS Nr. 136210-32-7**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### **3.4.3 N-Aminoethylpiperazin, 2-Piperazin-1-ylamin, CAS Nr. 000140-31-8**

N-Aminoethylpiperazin ist in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe offenbar weit verbreitet. Nach Informationen von GISBAU wurde N-Aminoethylpiperazin in 160 Sicherheitsdatenblättern gefunden, davon 28 aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurde bei 87 Getesteten nur eine einzige positive Reaktion auf N-Aminoethylpiperazin 0,25% Vas. beobachtet (Geier et al. 2004). Nach Erhöhung der Testkonzentration auf 0,5 % Vas. wurden in der zweiten und dritten Studienphase zwei positive Reaktionen bei 118 Getesteten beobachtet. Über die klinische Relevanz der positiven Reaktionen wurden keine Angaben gemacht.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

N-Aminoethylpiperazin, das wahrscheinlich in Epoxidharz-Systemen mäßig weit verbreitet ist, wurde beim Menschen allergologisch bisher kaum untersucht.

### **3.4.4 Isophorondiamin (IPD), 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamin, CAS Nr. 002855-13-2**

Isophorondiamin ist in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe sehr weit verbreitet. Nach Informationen von GISBAU wurde Isophorondiamin in 1009 Sicherheitsdatenblättern genannt, davon 165 aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Positive Reaktionen auf Isophorondiamin 0,5% Vas. wurden bei 5 von 87 Getesteten (6%) festgestellt. Damit war Isophorondiamin unter den Härtern das zweithäufigste Allergen nach m-Xylidendiamin. Dies blieb auch in der zweiten und dritten Phase der Studie EPOX 2002 so (Geier 2010).

2001 wurde eine retrospektive Analyse von Daten von 182 Patienten mit allergischem Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme, die im Laufe von 22 Jahren am FIOH untersucht worden waren, publiziert. Bei 43 dieser Patienten wurde eine Sensibilisierung gegen Härter festgestellt, wobei Isophorondiamin mit 8 Fällen am dritthäufigsten genannt wurde. Es handelt sich bei diesem Bericht um eine summarische Auflistung positiver Testreaktionen ohne weitere konkrete oder individuelle Angaben wie Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, klinische Relevanz der beobachteten Reaktionen, Exposition der Patienten oder Testkonzentrationen etc. Es wurde eingeräumt, dass in den meisten Fällen die individuelle Exposition nicht genau eruiert werden konnte (Jolanki et al. 2001).

Kanerva et al. stellten 1999 die Ergebnisse der Epikutantestungen mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe zusammen, die im FIOH in den Jahren 1991 bis 1996 bei insgesamt 360 Patienten registriert worden waren. Es ergaben sich folgende Reaktionsquoten: Bisphenol A 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Epichlorhydrin 0,1% Vas. 0/308 positiv = 0%; Diethylentriamin 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Triethylentetramin 0/356 positiv = 0%; Isophorondiamin 0,5% Vas. 0/311 positiv = 0%; Hexamethylentetramin 2% Vas. 7/357 positiv = 2,0%; Phenylglycidylether 0,25% Vas. 8/309 positiv = 2,6%; Kresylglycidylether 0,25% Vas. 5/311

positiv = 1,6%; Butylglycidylether 2/310 positiv = 0,6% (keine näheren Angaben) (Kanerva et al. 1999).

Hillen et al. werteten Daten des IVDK von 829 Patienten aus, die in den Jahren 1996-2001 unter dem Verdacht auf eine Kontaktallergie gegen Klebstoffe epikutan getestet wurden. 336 dieser Patienten hatten eine Berufsdermatose. Allergische Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz 1% Vas. wurden bei 11,5% der Getesteten festgestellt; unter den Patienten mit Berufsdermatose lag der Prozentsatz höher (21,2%). 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. führte bei 5,3% zu positiven Reaktionen (7,0% bei den Patienten mit Berufsdermatose). Positive Reaktionen auf Phenylglycidylether 0,25% Vas. ergaben sich bei 3,4% (9,1%), auf Kresylglycidylether 0,25% Vas. bei 2,4% (6,3%) und auf Isophorondiamin 0,5% Vas. bei 1,2% (2,5%) (Hillen et al. 2007).

Aus den drei dermatologischen Abteilungen der US-amerikanischen Mayo-Kliniken wurden 2010 die Epikutantestergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe mitgeteilt. Von 322 in den Jahren 2000 bis 2007 getesteten Patienten reagierten 2 (0,6%) allergisch auf Isophorondiamin (0,1% Vas.); alle Reaktionen wurden als klinisch relevant angesehen (keine weiteren Angaben) (Shmidt et al. 2010).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Es gibt zahlreiche Einzelfallberichte über Patienten mit Kontaktallergie gegen Isophorondiamin, die sich durch den Umgang mit Epoxidharz-Systemen, in denen dieser Härter enthalten war, sensibilisiert haben (Camarasa und Serra-Baldrich 1989, Dahlquist und Fregert 1979a, Foti et al. 2010, Guerra et al. 1992, Kanerva et al. 1991, Kanerva et al. 1998, Kelterer et al. 2000, Lachapelle et al. 1978, Lodi et al. 1993, Patussi et al. 1995, Tarvainen et al. 1998, Whitfeld und Rivers 1991). Zum Teil handelt es sich dabei auch um Fälle von aero-genem allergischem Kontaktekzem; in den entsprechenden Berichten ist in der Regel nicht erwähnt, ob die Patienten zuvor ein Ekzem nach direktem Hautkontakt mit dem Epoxidharz-System hatten. Als Testkonzentration wird seit den 1980er Jahren 0,5% Vas. eingesetzt.

In den Niederlanden untersuchten van Putten et al. Anfang der 1980er Jahre 135 im Baugewerbe tätige Männer, die gegenüber Epoxidharz-Systemen exponiert waren. 26 dieser 135 Männer hatten innerhalb der letzten drei Jahre Hautveränderungen an den Händen und/oder Unterarmen gehabt. Zwar wird in der Publikation die Zusammensetzung der eingesetzten Epoxidharz-Systeme nicht genau erwähnt; die Autoren schreiben aber, dass sie aufgrund der Informationen über die berufliche Exposition vier Komponenten für die Epikutantestung ausgewählt haben, nämlich: DGEBA-Harz 1% Vas., Isophorondiamin 0,1% in Olivenöl, Triethylentetramin 0,5% Vas. und m-Xylidendiamin 0,1% Vas. Positive

Reaktionen auf das DGEBA-Harz ergaben sich bei 14 von 23 Ekzem-Patienten (61%) und bei 11 von 112 Männern ohne Ekzem (10%). Positive Reaktionen auf das Isophorondiamin ergaben sich bei keinem der 23 Ekzem-Patienten und bei 3 von 112 Männern ohne Ekzem (3%) (van Putten et al. 1984).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Isophorondiamin wird in Epoxidharz-Systemen für den Bau-Bereich sehr häufig eingesetzt. Es existieren zahlreiche Einzelfallberichte über Kontaktallergie gegen Isophorondiamin, einschließlich airborne dermatitis. In Reihenuntersuchungen an Patienten mit Verdacht auf Epoxidharz-Allergie stellt Isophorondiamin eines der häufigeren Allergene untern der Härten dar.

### **3.4.5 3-Cyclohexylaminopropylamin, CAS Nr. 003312-60-5**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.



### 3.4.6 1,2-Diaminocyclohexan (DCH), CAS Nr. 000694-83-7

1,2-Diaminocyclohexan ist in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe offenbar nicht kaum verbreitet. Nach Informationen von GISBAU wurde 1,2-Diaminocyclohexan in 69 Sicherheitsdatenblättern gefunden, davon 7 aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

1,2-Diaminocyclohexan wird in den von spezialisierten Zentren veröffentlichten retrospektiven Datenanalysen und Reviews (z.B. Jolanki et al. 2001, Kanerva et al. 1991, Kanerva et al. 1996, Tarvainen 1995) nicht als Allergen in Epoxidharz-Systemen aufgeführt. In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. In der ersten Phase von EPOX 2002 reagierte keiner der 87 getesteten Patienten auf 1,2-Diaminocyclohexan 0,25% Vas. (Geier et al. 2004). Nach der Erhöhung der Testkonzentration auf 0,5% Vas. in der zweiten Studienphase wurden 2,5 % positive Reaktionen beobachtet (2 von 81 Getesteten). Angaben zur klinischen Relevanz dieser Reaktionen liegen nicht vor. In der dritten Phase von EPOX 2002 wurde 1,2-Diaminocyclohexan nicht mehr mitgetestet.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Kirkup et al. berichteten 2001 über 4 Patienten mit Kontaktallergie gegen 1,2-Diaminocyclohexan durch den Kontakt mit Epoxidharz-Systemen, die offenbar diesen Härter enthielten; allerdings wurde nur in einem Fall wirklich 1,2-Diaminocyclohexan (0,1% und 0,2% Vas.) getestet, in den drei anderen Fällen ein Derivat der Verbindung (Handelsname ED47/PFA; 0,1% Vas.) (Kirkup et al. 2001).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar

- Zusammenfassung und Bewertung.

1,2-Diaminocyclohexan ist bisher beim Menschen kaum allergologisch untersucht worden.

### **3.5 Härter, sonstige**

#### **3.5.1 N-cyanethyliertes Trimethylhexamethyldiamin, CAS Nr. 093941-62-9**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### 3.5.2 m-Xylidendiamin (MXDA), CAS Nr. 001477-55-0

m-Xylidendiamin (syn. m-Xylendiamin; m-Xylylendiamin; MXDA) wird in Epoxidharz-Produkten für das Baugewerbe sehr häufig eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU findet sich m-Xylidendiamin in 608 Sicherheitsdatenblättern, davon wurden 122 in den Jahren 2006-2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 83 allergisch auf Epoxidharz-Härter; 3 dieser Patienten reagierten auf ein m-Xylidendiamin. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, der klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Positive Reaktionen auf m-Xylidendiamin 0,1% Vas. wurden bei 12 von 87 Getesteten (14%) festgestellt (Geier et al. 2004). Damit war m-Xylidendiamin unter den Härtern das häufigste Allergen. Dies blieb auch in der zweiten und dritten Phase der Studie EPOX 2002 so; insgesamt lag die Quote positiver Reaktionen bei 12% (Geier 2010).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Schon Anfang der 1960er Jahre war m-Xylidendiamin als Kontaktallergen bekannt. Goldmann stellte damals alle 902 Meldungen über den Verdacht auf eine Berufsdermatose zusammen, die bei der Berufsgenossenschaft der Chemischen Industrie in den Jahren 1955 bis 1961 eingegangen waren. Dabei wurden auch 9 Patienten mit allergischem Kontaktekzem durch m-Xylidendiamin beschrieben (keine näheren Angaben) (Goldmann 1963).

In den Niederlanden untersuchten van Putten et al. Anfang der 1980er Jahre 135 im Baugewerbe tätige Männer, die gegenüber Epoxidharz-Systemen exponiert waren. 26 dieser 135 Männer hatten innerhalb der letzten drei Jahre Hautveränderungen an den Händen und/oder Unterarmen gehabt. Zwar wird in der Publikation die Zusammensetzung der eingesetzten Epoxidharz-Systeme nicht genau erwähnt; die Autoren schreiben aber, dass sie aufgrund der Informationen über die berufliche Exposition vier Komponenten für die Epikutantestung ausgewählt haben, nämlich: DGEBA-Harz 1% Vas., Isophorondiamin 0,1% in Olivenöl, Triethylentetramin 0,5% Vas., und m-Xylidendiamin 0,1% Vas. Positive Reaktionen auf das DGEBA-Harz ergaben sich bei 14 von 23 Ekzem-Patienten (61%) und bei 11 von 112 Männern ohne Ekzem (10%). Positive Reaktionen auf m-Xylidendiamin ergaben sich bei 2 von 23 Ekzem-Patienten (9%) und bei 2 von 112 Männern ohne Ekzem (2%) (van Putten et al. 1984).

Beim Bau einer U-Bahn in Taipeh erlitten 9 Arbeiter, die unter unzureichenden Arbeitsschutzmaßnahmen gegenüber einem Epoxidharz-System exponiert waren, ein allergisches Kontaktekzem. Die Harzkomponente des Systems bestand aus einem Bisphenol A-Harz (CAS 25068-38-6), einem Bisphenol F-Harz (CAS 28064-14-4), 1,6-Hexandioldiglycidylether (CAS 16096-31-4) und Trimethylolpropan-triglycidylether (CAS 30499-70-8). Die Härterkomponente enthielt m-Xylidendiamin (CAS 1477-55-0). Bei allen 9 Betroffenen wurde eine Standardreihe einschließlich Epoxidharz auf Basis von DGEBA 1% Vas. getestet, bei 5 der Beschäftigten auch weitere Epoxidharz-Bestandteile. Nur ein Patient (von 9) reagierte auf das DGEBA-Harz, und keiner der 5 Getesteten auf ein DGEBA-Harz 0,25% Vas. Vier der 5 Getesteten reagierten positiv auf 1,6-Hexandioldiglycidylether 0,25% Vas. und 3 von 5 auf Trimethylolpropan-triglycidylether 0,25% Vas. Alle 5 Getesteten reagierten allergisch auf m-Xylidendiamin 0,1% Vas. (Chu et al. 2006).

Kontaktallergien gegen m-Xylidendiamin wurden darüber hinaus in mehreren Einzelfällen bei der Verarbeitung von Epoxidharzen beobachtet (Kanerva et al. 1991, Kanerva et al. 1998, Sommer und Wilkinson 2001).

Auch in der Polyurethaneidenproduktion wurde m-Xylidendiamin verwendet. Richter und Kadner beschrieben 1990 vier Patienten mit dabei erworbener Kontaktallergie gegen m-Xylidendiamin, die im Epikutantest nicht nur auf m-Xylidendiamin 0,1% Vas., sondern auch auf Benzylamin (CAS Nr. 100-46-9) allergisch reagierten (Richter und Kadner 1990).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

m-Xylidendiamin ist in Epoxidharz-Produkten für das Baugewerbe weit verbreitet. Eine Testzubereitung für den Epikutantest ist erst seit etwa 2006 erhältlich, und zwar von einem schwedischen Anbieter. Die Substanz wurde – und wird in Deutschland noch immer – zu selten epikutan getestet. Daher muss man davon ausgehen, dass die Kontaktallergie gegen m-Xylidendiamin häufiger ist, als berichtet wird. In EPOX 2002 wurde m-Xylidendiamin regelmäßig bei Patienten mit Verdacht auf Epoxidharz-Allergie getestet; dabei erwies es sich als das häufigste Allergen unter den Härtern.

### **3.5.3 m-Xylylendiamin/Acrylonitril Adduct, CAS Nr. 73050-11-0**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### **3.5.4 N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan, CAS Nr. 001760-24-3**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.



### **3.5.5 Polyoxyalkylenamin, 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan, CAS Nr. 002997-01-5**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

## 3.6 Säureanhydride

### 3.6.1 Phthalsäureanhydrid, CAS Nr. 000085-44-9

Säureanhydride wie Phthalsäureanhydrid oder dessen Derivate werden als Härter in heißhärtenden Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Sie finden daher vorwiegend im Bau von Transformatoren, elektrischen Geräten usw. Verwendung, und nicht im Baugewerbe. Phthalsäureanhydrid und dessen Derivate sind als Auslöser von beruflich bedingtem Asthma bronchiale bekannt.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Im FIOH wurden in den Jahren 1990 bis 2006 21 Patienten mit Kontakturtikaria durch Säureanhydride gesehen. 17 der 21 Patienten waren bei der Herstellung elektrischer Geräte gegenüber heißhärtenden Epoxidharz-Systemen exponiert, in denen Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid oder Hexahydrophthalsäureanhydrid als Härter verwendet wurden. Die übrigen 4 Patienten waren bei anderen Tätigkeiten beruflich gegenüber Phthalsäureanhydrid, Maleinsäureanhydrid oder „Chlorendic anhydride“ exponiert. Bei 13 Patienten wurde die Kontakturtikaria durch direkten Hautkontakt ausgelöst, bei 8 durch aerogene Exposition. Die Diagnosen wurden durch Pricktest mit Konjugaten von humanem Serum-Albumin und Säureanhydriden, durch Bestimmung von spezifischem Immunglobulin E und durch offene Applikationstests gesichert. Hierdurch wurde bei 13 Patienten eine Sensibilisierung vom Soforttyp gegen Phthalsäureanhydrid festgestellt. 12 Patienten reagierten auf Maleinsäureanhydrid, 18 auf Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, 16 auf Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid, 16 auf Hexahydrophthalsäureanhydrid und 3 auf „Chlorendic anhydride“. Zwar standen die Sensibilisierungen gegen die beruflich kontaktierten Säureanhydride in der Regel im Vordergrund; die meisten Patienten zeigten jedoch positive Reaktionen auf mehrere der genannten Derivate des Phthalsäureanhydrids (Helaskoski et al. 2009).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Phthalsäureanhydrid und dessen Derivate sind als Auslöser von beruflich bedingtem Asthma bronchiale bekannt. Berichte über Sensibilisierungen, die sich klinisch an der Haut manifestieren sind selten; eine Kontakturtikaria wurde in Einzelfällen beschrieben.

### **3.6.2 Tetrahydrophthalsäureanhydrid, CAS Nr. 000085-43-8**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### 3.6.3 Hexahydrophthalsäureanhydrid, CAS Nr. 000085-42-7

Säureanhydride wie Phthalsäureanhydrid oder dessen Derivate werden als Härter in heißhärtenden Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Sie finden daher vorwiegend im Bau von Transformatoren, elektrischen Geräten usw. Verwendung, und nicht im Baugewerbe. Phthalsäureanhydrid und dessen Derivate sind als Auslöser von beruflich bedingtem Asthma bronchiale bekannt.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Im FIOH wurden in den Jahren 1990 bis 2006 21 Patienten mit Kontakturtikaria durch Säureanhydride gesehen. 17 der 21 Patienten waren bei der Herstellung elektrischer Geräte gegenüber heißhärtenden Epoxidharz-Systemen exponiert, in denen Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid oder Hexahydrophthalsäureanhydrid als Härter verwendet wurden. Die übrigen 4 Patienten waren bei anderen Tätigkeiten beruflich gegenüber Phthalsäureanhydrid, Maleinsäureanhydrid oder „Chlorendic anhydride“ exponiert. Bei 13 Patienten wurde die Kontakturtikaria durch direkten Hautkontakt ausgelöst, bei 8 durch aerogene Exposition. Die Diagnosen wurden durch Pricktest mit Konjugaten von humanem Serum-Albumin und Säureanhydriden, durch Bestimmung von spezifischem Immunglobulin E und durch offene Applikationstests gesichert. Hierdurch wurde bei 13 Patienten eine Sensibilisierung vom Soforttyp gegen Phthalsäureanhydrid festgestellt. 12 Patienten reagierten auf Maleinsäureanhydrid, 18 auf Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, 16 auf Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid, 16 auf Hexahydrophthalsäureanhydrid und 3 auf „Chlorendic anhydride“. Zwar standen die Sensibilisierungen gegen die beruflich kontaktierten Säureanhydride in der Regel im Vordergrund; die meisten Patienten zeigten jedoch positive Reaktionen auf mehrere der genannten Derivate des Phthalsäureanhydrids (Helaskoski et al. 2009).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Phthalsäureanhydrid und dessen Derivate sind als Auslöser von beruflich bedingtem Asthma bronchiale bekannt. Berichte über Sensibilisierungen, die sich klinisch an der Haut manifestieren sind selten; eine Kontakturtikaria wurde in Einzelfällen beschrieben.

### 3.6.4 Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid, CAS Nr. 011070-44-3

Säureanhydride wie Phthalsäureanhydrid oder dessen Derivate werden als Härter in heißhärtenden Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Sie finden daher vorwiegend im Bau von Transformatoren, elektrischen Geräten usw. Verwendung, und nicht im Baugewerbe. Phthalsäureanhydrid und dessen Derivate sind als Auslöser von beruflich bedingtem Asthma bronchiale bekannt.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Im FIOH wurden in den Jahren 1990 bis 2006 21 Patienten mit Kontakturtikaria durch Säureanhydride gesehen. 17 der 21 Patienten waren bei der Herstellung elektrischer Geräte gegenüber heißhärtenden Epoxidharz-Systemen exponiert, in denen Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid oder Hexahydrophthalsäureanhydrid als Härter verwendet wurden. Die übrigen 4 Patienten waren bei anderen Tätigkeiten beruflich gegenüber Phthalsäureanhydrid, Maleinsäureanhydrid oder „Chlorendic anhydride“ exponiert. Bei 13 Patienten wurde die Kontakturtikaria durch direkten Hautkontakt ausgelöst, bei 8 durch aerogene Exposition. Die Diagnosen wurden durch Pricktest mit Konjugaten von humanem Serum-Albumin und Säureanhydriden, durch Bestimmung von spezifischem Immunglobulin E und durch offene Applikationstests gesichert. Hierdurch wurde bei 13 Patienten eine Sensibilisierung vom Soforttyp gegen Phthalsäureanhydrid festgestellt. 12 Patienten reagierten auf Maleinsäureanhydrid, 18 auf Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, 16 auf Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid, 16 auf Hexahydrophthalsäureanhydrid und 3 auf „Chlorendic anhydride“. Zwar standen die Sensibilisierungen gegen die beruflich kontaktierten Säureanhydride in der Regel im Vordergrund; die meisten Patienten zeigten jedoch positive Reaktionen auf mehrere der genannten Derivate des Phthalsäureanhydrids (Helaskoski et al. 2009).

Tarvainen et al. berichteten 1995 von zwei Patienten mit immunologischer Kontakturtikaria bei Sensibilisierung gegen Methylhexahydrophthalsäureanhydrid und Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid. Die Diagnose wurde durch Pricktest mit Konjugaten von humanem Serum-Albumin und den Säureanhydriden, sowie durch Bestimmung von spezifischem Immunglobulin E und durch offene Applikationstests gesichert. Beide Patienten waren durch

entsprechende Epoxidharz-Systeme gegenüber Methylhexahydrophthalsäureanhydrid und Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid exponiert; bei beiden entwickelte sich nach der Kontakturtikaria auch eine allergisches Asthma (Tarvainen et al. 1995).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Phthalsäureanhydrid und dessen Derivate sind als Auslöser von beruflich bedingtem Asthma bronchiale bekannt. Berichte über Sensibilisierungen, die sich klinisch an der Haut manifestieren sind selten; eine Kontakturtikaria wurde in Einzelfällen beschrieben.



### 3.6.5 Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, CAS Nr. 025550-51-0

Säureanhydride wie Phthalsäureanhydrid oder dessen Derivate werden als Härter in heißhärtenden Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Sie finden daher vorwiegend im Bau von Transformatoren, elektrischen Geräten usw. Verwendung, und nicht im Baugewerbe. Phthalsäureanhydrid und dessen Derivate sind als Auslöser von beruflich bedingtem Asthma bronchiale bekannt.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 43 allergisch auf Härter; einer dieser Patienten reagierte auf Methylhexahydrophthalsäureanhydrid (Jolanki et al. 2001).

Der dort nur cursorisch erwähnte Patient mit Kontaktallergie gegen Methylhexahydrophthalsäureanhydrid wurde in einem Einzelfallbericht aus dem Jahr 1997 genauer beschrieben. Es handelte sich um einen Arbeiter, der an einer Tunnelbohrmaschine tätig war, und bei dem sich ein arbeitsabhängig verlaufendes Ekzem an Händen, Unterarmen, Gesicht und Hals entwickelt hatte. Außerdem litt er an einer arbeitsabhängigen Rhinitis. Durch Epikutantestung, Provokationstestung, Pricktestung mit Konjugaten von humanem Serum-Albumin und Methylhexahydrophthalsäureanhydrid sowie Bestimmung des spezifischen Immunglobulin E konnte sowohl eine Typ IV-Sensibilisierung als auch eine Typ I-Sensibilisierung gegen Methylhexahydrophthalsäureanhydrid nachgewiesen werden. Wenngleich am Arbeitsplatz auch eine Exposition gegenüber Epoxidharz-Systemen bestand, so konnte doch die Sensibilisierungsquelle nicht mit letzter Sicherheit festgestellt werden (Kanerva et al. 1997a).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Jolanki et al. berichteten 1990 von einem Patienten mit Kontakturtikaria, der beruflich gegenüber einem Epoxidharz-System exponiert war, in dem Methylhexahydrophthalsäureanhydrid als Härter eingesetzt wurde. Bei diesem Patienten wurde im offenen Epikutantest und bei der Bestimmung des spezifischen Immunglobulin E eine Sensibilisierung vom Soforttyp gegenüber Methylhexahydrophthalsäureanhydrid festgestellt (Jolanki et al. 1990).

Im FIOH wurden in den Jahren 1990 bis 2006 21 Patienten mit Kontakturtikaria durch Säureanhydride gesehen. 17 der 21 Patienten waren bei der Herstellung elektrischer Geräte gegenüber heißhärtenden Epoxidharz-Systemen exponiert, in denen Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid oder Hexahydrophthalsäureanhydrid als Härter verwendet wurden. Die übrigen 4 Patienten waren bei anderen Tätigkeiten beruflich gegenüber Phthalsäureanhydrid, Maleinsäureanhydrid oder „Chlorendic anhydride“ exponiert. Bei 13 Patienten wurde die Kontakturtikaria durch direkten Hautkontakt ausgelöst, bei 8 durch aerogene Exposition. Die Diagnosen wurden durch Pricktest mit Konjugaten von humanem Serum-Albumin und Säureanhydriden, durch Bestimmung von spezifischem Immunglobulin E und durch offene Applikationstests gesichert. Hierdurch wurde bei 13 Patienten eine Sensibilisierung vom Soforttyp gegen Phthalsäureanhydrid festgestellt. 12 Patienten reagierten auf Maleinsäureanhydrid, 18 auf Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, 16 auf Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid, 16 auf Hexahydrophthalsäureanhydrid und 3 auf „Chlorendic anhydride“. Zwar standen die Sensibilisierungen gegen die beruflich kontaktierten Säureanhydride in der Regel im Vordergrund; die meisten Patienten zeigten jedoch positive Reaktionen auf mehrere der genannten Derivate des Phthalsäureanhydrids (Helaskoski et al. 2009).

Tarvainen et al. berichteten 1995 von zwei Patienten mit immunologischer Kontakturtikaria bei Sensibilisierung gegen Methylhexahydrophthalsäureanhydrid und Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid. Die Diagnose wurde durch Pricktest mit Konjugaten von humanem Serum-Albumin und den Säureanhydriden, sowie durch Bestimmung von spezifischem Immunglobulin E und durch offene Applikationstests gesichert. Beide Patienten waren durch entsprechende Epoxidharz-Systeme gegenüber Methylhexahydrophthalsäureanhydrid und Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid exponiert; bei beiden entwickelte sich nach der Kontakturtikaria auch eine allergisches Asthma (Tarvainen et al. 1995).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Phthalsäureanhydrid und dessen Derivate sind als Auslöser von beruflich bedingtem Asthma bronchiale bekannt. Berichte über Sensibilisierungen, die sich klinisch an der Haut manifestieren sind selten; eine Kontakturtikaria wurde in Einzelfällen beschrieben, wobei Berichte über entsprechende Erkrankungen durch Methylhexahydrophthalsäureanhydrid etwas häufiger sind als Berichte, in denen anderen Derivate des Phthalsäureanhydrids als Auslöser genannt werden.

### **3.7 tertiäre Amine**

#### **3.7.1 3-((6-Aminotrimethylhexyl)amino)propionitril, CAS Nr. 093941-62-9**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

## 3.8 Phenole

### 3.8.1 tert-Butylphenol, CAS Nr. 000098-54-4

Tert-Butylphenol (syn. p-tert-Butylphenol) ist in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe offenbar weit verbreitet. Nach Informationen von GISBAU wurde die Verbindung in 171 Sicherheitsdatenblättern gefunden, davon 32 aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Tarvainen berichtete 1995 über die Testergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe, die in der Universitäts-Hautklinik Helsinki in den Jahren 1985 bis 1992 beobachtet wurden. Keiner der 343 mit p-tert-Butylphenol 1% Vas. Getesteten reagierte positiv (Tarvainen 1995). p-tert-Butylphenol 1% Vas. ist in den DKG-Testreihen „Lederverarbeitung“ und „Kühlschmierstoffe“ enthalten. In den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen wurden in den Jahren 2001 bis 2010 insgesamt 101.374 Patienten epikutan getestet. Bei 4.462 dieser Patienten (4,4%) wurde auch p-tert-Butylphenol 1% Vas. im Epikutantest überprüft. Dabei ergaben sich positive Reaktionen bei 16 Patienten (0,36%); die klinische Relevanz dieser Reaktionen konnte in der Regel nicht sicher eruiert werden (Geier 2011).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Die vorliegenden Daten deuten darauf hin, dass p-tert-Butylphenol ein eher seltenes Allergen ist.

### 3.8.2 Bisphenol A, CAS Nr. 000080-05-7

In Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe scheint Bisphenol A kaum verbreitet zu sein. Bei GISBAU liegen 73 Sicherheitsdatenblätter vor, in denen Bisphenol A als Bestandteil genannt ist, davon wurden 22 nach 2005 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Jolanki et al. berichteten 1990 über Patienten, die in den Jahren 1984 bis 1988 im FIOH wegen Hautproblemen beim Umgang mit Epoxidharz-Systemen untersucht worden waren. Nur einer der 265 mit Bisphenol A 1% Vas. Getesteten reagierte positiv. Angaben zur klinischen Relevanz wurden nicht gemacht (Jolanki et al. 1990).

Tarvainen berichtete 1995 über die Testergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe, die in der Universitäts-Hautklinik Helsinki in den Jahren 1985 bis 1992 beobachtet wurden. Keiner der 839 mit Bisphenol A 1% Vas. Getesteten reagierte positiv (Tarvainen 1995).

Kanerva et al. stellten 1999 die Ergebnisse der Epikutantestungen mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe zusammen, die im FIOH in den Jahren 1991 bis 1996 bei insgesamt 360 Patienten registriert worden waren. Es ergaben sich folgende Reaktionsquoten: Bisphenol A 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Epichlorhydrin 0,1% Vas. 0/308 positiv = 0%; Diethylentriamin 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Triethylentetramin 0/356 positiv = 0%; Isophorondiamin 0,5% Vas. 0/311 positiv = 0%; Hexamethylentetramin 2% Vas. 7/357 positiv = 2,0%; Phenylglycidylether 0,25% Vas. 8/309 positiv = 2,6%; Kresylglycidylether 0,25% Vas. 5/311 positiv = 1,6%; Butylglycidylether 2/310 positiv = 0,6% (keine näheren Angaben) (Kanerva et al. 1999).

Aus den drei dermatologischen Abteilungen der US-amerikanischen Mayo-Kliniken wurden 2010 die Epikutantestergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe mitgeteilt. Von 441 in den Jahren 2000 bis 2007 getesteten Patienten reagierten 5 (1,1%) allergisch auf Bisphenol A (1% Vas.); alle Reaktionen wurden als klinisch relevant angesehen (keine weiteren Angaben) (Shmidt et al. 2010).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

In einer niederländischen Fabrik, in der Epoxidharze hergestellt wurden, erkrankten 26 von 228 Arbeitern an ekzematösen Hautveränderungen. Bei 19 dieser Patienten wurde ein Epikutantest durchgeführt. 10 Patienten reagierten allergisch auf ein DGEBA-Epoxidharz mit einem Molekulargewicht von 340 (1% Vas.), und 8 auf Epichlorhydrin (1% Vas.), jedoch keiner auf Bisphenol A (Prens et al. 1986).

Van Joost berichtete 1988 von 6 Ekzem-Patienten, von denen 5 in der Produktion von Epoxidharz auf Basis von DGEBA tätig waren. Bei allen 6 Patienten wurde durch den Epikutantest mit Epichlorhydrin 1% Vas. eine Kontaktallergie gegen diesen Ausgangsstoff nachgewiesen. Vier Patienten reagierten außerdem auf ein niedermolekulares DGEBA-Harz (1% Vas.), aber keiner auf den zweiten Ausgangsstoff zur Produktion des DGEBA-Harzes, nämlich Bisphenol A (Epikutantestung 1% Vas.) (van Joost 1988).

Eine ähnliche Mitteilung machten van Joost et al. 1990 (van Joost et al. 1990). Wie die klinischen und anamnestischen Details nahelegen, waren die in diesen drei Publikationen (Prens et al. 1986, van Joost 1988, van Joost et al. 1990) beschriebenen Patienten vermutlich zum Teil identisch.

Ein 53jähriger Mann, der Formen für die Rotorblattproduktion aus synthetischem Wachs herstellte, erlitt ein Handekzem und eine disloziertes allergisches Kontaktekzem im Gesicht. Im Epikutantest reagierte er auf zwei der beruflich verwendeten Wachse. In beiden war Bisphenol A enthalten, auf das er ebenfalls im Epikutantest bei einer Testkonzentration von 1% Vas. allergisch reagierte (Freeman und Warin 1984).

Jolanki et al. berichteten 1995 von einer Zahnarthelferin, die sich durch den Umgang mit einem Kompositharz für Zahnersatz auf Basis von Epoxydimethacrylat gegen Bisphenol A sensibilisiert hatte. Reste von Bisphenol A wurden in dem Harz nachgewiesen. Der Epikutantest mit Bisphenol A 1% Vas. war stark positiv (Jolanki et al. 1995).

Estlander et al. beschrieben eine Patientin, die als Verpackerin in der Lebensmittelindustrie Marmelade in Glas- und PVC-Gefäße abfüllte und etikettierte. Dabei trug sie Latex- oder PVC-Handschuhe, und es entwickelte sich ein arbeitsabhängiges Handekzem. Es konnte per Gaschromatographie nachgewiesen werden, dass sowohl die PVC-Handschuhe als auch die Tinte für die Preis-Etiketten Bisphenol A enthält. Im Epikutantest reagierte die Patientin allergisch auf Bisphenol A 1% Vas., auf ihren PVC-Handschuh und auf ein bedrucktes Preis-Etikett. Nach Meidung der PVC-Handschuhe und des Kontaktes mit den bedruckten Etiketten heilte das Handekzem ab (Estlander et al. 1999).

In den folgenden Jahren wurden im FIOH noch drei weitere Patienten mit Kontaktallergie gegen Bisphenol A beobachtet, die sich durch das Tragen von PVC-Handschuhen sensibilisiert hatten. Bisphenol A war in den Handschuhen als Antioxidans eingesetzt (Aalto-Korte et al. 2003).

Ein ähnlicher Fall wurde wenig später aus Belgien berichtet; auch hier trat ein allergisches Kontaktekzem nach dem Tragen eines PVC-Handschuhs auf. Der Patienten reagiert im Epikutantest stark positiv auf Bisphenol A. Im Handschuh-Material wurde Bisphenol A nachgewiesen (Matthieu et al. 2003).

Aus Indien stammt ein Bericht über zwei Patienten, bei denen sich durch das Tragen von Plastik-Sandalen am Fußrücken im Kontaktbereich mit den Kunststoffteilen ein Kontaktekzem entwickelte. Im Epikutantest reagierten beide stark positiv auf Bisphenol A (1% Vas.). Die Autoren konnten im Plastik der Sandalen Bisphenol A nachweisen (Srinivas et al. 1989).

Romaguera et al. beschrieben 1986 den Fall einer 26jährigen Frau, die beruflich Hörgeräte montierte, und dabei mit einem Epoxidharz-Kleber arbeitete. Sie erlitt ein allergisches Kontaktekzem der Fingerspitzen. Im Epikutantest wurde eine Kontaktallergie gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA und Bisphenol A nachgewiesen (Romaguera et al. 1986). Allen und Kaidbey berichteten 1979 über 8 Patienten, bei denen sich nach Exposition gegenüber heißen Epoxidharz-Dämpfen eine persistierende erhöhte UV-Empfindlichkeit der Haut mit Erythem, Ödem und Papeln entwickelte. Alle Patienten reagierten positiv im Photopatchtest mit Bisphenol A (Allen und Kaidbey 1979).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Fregert und Rorsman hatten 1960 in einem Einzelfallbericht eine Patientin beschrieben, die nach der Anwendung eines diethylstilbestrolhaltigen Haarwassers ein Kopfhaut ekzem erlitten hatte. Im Epikutantest reagierte sie nicht nur auf Diethylstilbestrol (1:100.000 in Ethanol), sondern auch auf mehrere chemisch verwandte Stoffe, darunter Bisphenol A (1:10.000 in Chloroform getestet; Fregert und Rorsman 1960).

1962 berichteten Fregert und Rorsman über Ergebnisse der Epikutantestung mit Bisphenol A 1% in Aceton. Diese Testzubereitung wurde bei 13 Patienten überprüft, bei denen zufällig, also ohne spezielle Anamnese oder gezielte Testung, eine positive Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz beobachtet worden war. 7 dieser 13 Patienten reagierten auch positiv auf Bisphenol A. Bei 6 dieser 7 Patienten ergaben sich weitere Reaktionen auf Substanzen, die chemisch mit Diethylstilbestrol verwandt waren. Da es eine relativ enge chemische



Verwandtschaft zwischen Diethylstilbestrol und Bisphenol A gibt, vermuteten die Autoren eher in diesem Bereich als im Epoxidharz die Quelle der Sensibilisierung gegen Bisphenol A. Von 8 weiteren, gegenüber einem DGEBA-Harz exponierten Ekzempatienten mit positiver Epikutantestreaktion auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA reagierte keiner auf Bisphenol A (Fregert und Rorsman 1962).

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

In Reihentestungen erwies sich Bisphenol A als seltenes Allergen. In Einzelfällen wurde eine klinische relevante Kontaktallergie gegen Bisphenol A nachgewiesen, wobei nicht nur Epoxidharze im Stadium der Produktion oder der Verarbeitung die Allergenquelle darstellten. Auch andere Expositionen, z.B. das Tragen von PVC-Handschuhen, in denen Bisphenol A als Antioxidans enthalten war, wurden als Sensibilisierungsquellen genannt. Schließlich gibt es offenbar immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen Diethylstilbestrol oder chemisch verwandte Stoffe, die zu einer Kontaktallergie gegen Bisphenol A führen können.

### 3.9 Reaktivverdünner

#### 3.9.1 Butylglycidylether, CAS Nr. 002426-08-6

Butylglycidylether wird nach Informationen von GISBAU in Epoxidharz-Systemen in der Bauwirtschaft nicht eingesetzt (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Holness und Nethercott berichteten 1993 von insgesamt 167 Patienten aus einer auf Berufskrankheiten spezialisierten Klinik, bei denen 1981 bis 1988 wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie eine spezielle Epoxidharz-Testreihe epikutan getestet worden war. Von 98 getesteten Patienten reagierte einer (1%) positiv auf Butylglycidylether 0,25% Vas., wobei eine klinische Relevanz gegeben war (keine näheren Angaben). Dieser Patient reagierte auch auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA (Holness und Nethercott 1993). Dieselben Ergebnisse wurden 1997 noch einmal in einer anderen Zeitschrift publiziert (Holness und Nethercott 1997).

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 29 allergisch auf reaktive Verdünner; 5 dieser Patienten reagierten auf Butylglycidylether. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, zu Kreuzreaktionen, zur klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Drei von 87 Getesteten reagierten positiv auf Butylglycidylether 0,25% Vas. (Geier et al. 2004). In der gesamten Studie (also einschließlich der zweiten und dritten Phase, 2003-2005) reagierten 5% der 217 getesteten Patienten positiv auf Butylglycidylether (Geier 2010).

Tarvainen berichtete 1995 über die Testergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe, die in der Universitäts-Hautklinik Helsinki in den Jahren 1985 bis 1992 beobachtet wurden.

Keiner der 343 mit Butylglycidylether 0,25% Vas. Getesteten reagierte positiv (Tarvainen 1995).

Kanerva et al. stellten 1999 die Ergebnisse der Epikutantestungen mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe zusammen, die im FIOH in den Jahren 1991 bis 1996 bei insgesamt 360 Patienten registriert worden waren. Es ergaben sich folgende Reaktionsquoten: Bisphenol A 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Epichlorhydrin 0,1% Vas. 0/308 positiv = 0%; Diethylentriamin 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Triethylentetramin 0/356 positiv = 0%; Isophorondiamin 0,5% Vas. 0/311 positiv = 0%; Hexamethylentetramin 2% Vas. 7/357 positiv = 2,0%; Phenylglycidylether 0,25% Vas. 8/309 positiv = 2,6%; Kresylglycidylether 0,25% Vas. 5/311 positiv = 1,6%; Butylglycidylether 2/310 positiv = 0,6% (keine näheren Angaben) (Kanerva et al. 1999).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Holness berichtete 1992 von 6 Handekzem-Patienten, die mit einem Zwei-Komponenten-Epoxidharz-System arbeiteten, das unter anderem N-Butylglycidylether und Triethylentetramin enthielt. Zwei dieser Patienten reagierten im Epikutantest allergisch auf N-Butylglycidylether (0,25% Vas.), aber keiner auf Triethylentetramin (0,5% Vas.) (Holness 1992).

In den 1990er Jahren wurde über mehrere Fälle von allergischem Kontaktekzem durch ein Leica Immersionsöl für die Mikroskopie berichtet, das ein modifiziertes Epoxidharz enthielt. Bei den Patienten waren nicht nur die Hände, sondern auch die Periorbitalregion betroffen, am ehesten als disloziertes allergisches Kontaktekzem durch Kontamination der Okulare. Die Patienten reagierten im Epikutantest allergisch auf DGEBA-Harz, DGEBF-Harz, Phenylglycidylether und Kresylglycidylether, einige zusätzlich auch auf Butylglycidylether (Géraut und Tripodi 1999).

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Kligman berichtete 1966 über den Human-Maximierungstest mit Butylglycidylether. Bei 24 Probanden wurde die Induktion mit Butylglycidylether 10% Vas. vorgenommen. Dabei wurde die Testsubstanz 48 Stunden okklusiv aufgebracht. Diese Prozedur wurde fünfmal nacheinander wiederholt. Die Auslösung erfolgte ebenfalls mit Butylglycidylether 10% Vas. Über den Zeitraum zwischen Induktion und Auslösung wurden keine genauen Angaben gemacht. Auf diese Weise konnten 19 von 24 Personen sensibilisiert werden. Kligman wertete Butylglycidylether daher als starkes Allergen (Kligman 1966).

- Zusammenfassung und Bewertung.

In einem 1966 durchgeführten Human-Maximierungstest wurde Butylglycidylether als starkes Allergen eingeordnet. Dieser Test entspricht allerdings nicht heutigen wissenschaftlichen Anforderungen, und er ist nicht sehr sorgfältig dokumentiert. Die Ergebnisse sind daher mit Vorsicht zu interpretieren. In Tierversuchen konnte nur eine geringe sensibilisierende Wirkstärke nachgewiesen werden; in vitro- und in silico-Daten sprechen ebenfalls eher für eine geringere sensibilisierende Wirkstärke.

Butylglycidylether ist seit etlichen Jahren als standardisierte Testsubstanz für die Epikutantestung erhältlich und wird deswegen regelmäßig bei entsprechenden Patienten getestet. Die Quoten allergischer Reaktion bei der Epikutantestung im Rahmen von Klebstoff-Testreihen oder bei berufsdermatologischen Patienten mit Verdacht auf Epoxidharz-Allergie sind aber mit ca. 1 % relativ gering. In EPOX 2002 reagierten 5% der Getesteten positiv auf Butylglycidylether.

Die relativ geringe Häufigkeit allergischer Reaktionen auf Butylglycidylether bei Patienten mit Verdacht auf Epoxidharz-Allergie deutet auf ein geringes sensibilisierendes Potential hin; sie könnte allerdings auch auf die relativ geringe Verbreitung von Butylglycidylether in Epoxidharz-Systemen zurückzuführen sein. Analysen zu Kreuzreaktionen mit anderen Glycidylethern stehen noch aus.

### 3.9.2 1,4-Butandiol-diglycidylether, CAS Nr. 002425-79-8

Im Baugewerbe wird 1,4-Butandiol-diglycidylether offenbar nur selten als Härter in Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU findet sich 1,4-Butandiol-diglycidylether 29 Sicherheitsdatenblättern, davon wurden 11 in den Jahren 2006 bis 2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 29 allergisch auf reaktive Verdüner; 12 dieser Patienten reagierten auf 1,4-Butandiol-diglycidylether, der damit das dritthäufigste Allergen unter den Reaktivverdünnern war. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, zu Kreuzreaktionen, zur klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Mit 18% positiven Reaktionen (16 von 87 getesteten Patienten) war 1,4-Butandiol-diglycidylether das zweithäufigste Allergen unter den Reaktivverdünnern, mit einer sehr hohen Konkordanz zu positiven Reaktionen auf 1,6-Hexandiol-diglycidylether (Cohen's kappa 0,73) (Geier et al. 2004). In der gesamten Studie (also einschließlich der zweiten und dritten Phase, 2003-2005) reagierten 22,5% der 204 getesteten Patienten positiv auf 1,4-Butandiol-diglycidylether (Geier 2010).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Pontén et al. untersuchten 2001 systematisch Fälle von berufsbedingtem Kontaktekzem in einer großen dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen im Handlaminierverfahren hergestellt wurden. Dabei kamen unterschiedliche Epoxidharz-Systeme zum Einsatz. Auf diese Weise waren die Beschäftigten gegenüber Epoxidharzen auf Basis

von DGEBA, DGEBF, Trimethylolpropan-triglycidylether und Tetraglycidyl-4,4'-methylen-dianilin exponiert. Die verwendeten Reaktivverdünner enthielten 1,4-Butandiolglycidylether und 1,6-Hexandiolglycidylether sowie C13-C15-Alkylglycidylether. Bei 66 Erkrankten wurden Epikutantestungen durchgeführt, wobei 34 auf das DGEBA-Harz und 26 auf das DGEBF-Harz reagierten. Sechs Patienten reagierten auf 1,4-Butandiolglycidylether und von diesen reagierten vier Patienten auch auf 1,6-Hexandiolglycidylether. Isolierte Reaktionen auf 1,6-Hexandiolglycidylether wurden nicht beobachtet (Pontén et al. 2004b, Pontén et al. 2004c). Die hier referierten Daten zur Sensibilisierung wurden 2005 auch in einer weiteren Publikation dargestellt, die jedoch auch andere Aspekte der beruflich bedingten Hauterkrankungen beleuchtet (Rasmussen et al. 2005).

Jolanki et al. berichteten 1987 von drei Beschäftigten in einer Pinselwerkstatt, die mit einem Zweikomponentenkleber auf Epoxidharz-Basis arbeiteten und ein allergisches Kontaktekzem erlitten. Das verwendete Epoxidharz-System enthielt neben einem DGEBA-Harz die Reaktivverdünner 1,4-Butandiolglycidylether, „Epoxide 8“ (vorwiegend C12/C14-Alkylglycidylether) und Phenylglycidylether. Alle drei Betroffenen waren gegen 1,4-Butandiolglycidylether sensibilisiert (stark positive Reaktionen auf 1,4-Butandiolglycidylether bis hinunter zu 0,25% Vas.). Zwei Patienten reagierten außerdem stark positiv auf Phenylglycidylether und o-Kresylglycidylether, und einer von diesen beiden auch auf das DGEBA-Harz (Jolanki et al. 1987a).

Jolanki et al. berichteten 1996 über Hauterkrankungen in einer Ski-Fabrik. Von den 22 Beschäftigten litten 8 an einem berufsbedingten allergischen Kontaktekzem. Sechs dieser Patienten waren gegen Bestandteile der beruflich verwendeten Epoxidharz-Systeme sensibilisiert, nämlich DGEBA-Harz (Testkonzentration 1% Vas; 6 Patienten positiv), Phenylglycidylether (0,25% Vas; 3 Patienten positiv), 1,4-Butandiolglycidylether (0,25% Vas; 3 Patienten positiv), Ethylenglycoldiglycidylether (0,5% Vas; 3 Patienten positiv), Tetrapropylenglycoldiglycidylether (0,5% Vas; 2 Patienten positiv), Ethylendiamin (Ethylendiamin-di-HCl 1% Vas; 3 Patienten positiv), Diethylentriamin (1% Vas; 2 Patienten positiv), Triethylentetramin (0,5% Vas; 3 Patienten positiv) (Jolanki et al. 1996).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Insbesondere bei der oben genannten Studie EPOX 2002 wurde eine hohe Konkordanz allergischer Reaktionen auf 1,4-Butandiolglycidylether und 1,6-Hexandiolglycidylether beobachtet (Geier et al. 2004, Geier 2010). Aufgrund der engen chemischen Verwandtschaft beider Verbindungen ist anzunehmen, dass hier (auch) immunologische Kreuzreaktionen vorliegen.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Dass bei systematischer Testung trotz der geringen Verbreitung von 1,4-Butandiol-diglycidylether in Epoxidharz-Systemen relativ viele Fälle von Kontaktallergie beobachtet wurden, könnte durch immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen den wesentlich weiter verbreiteten 1,6-Hexandiol-diglycidylether bedingt sein.

### 3.9.3 Neopentylglykol-diglycidylether, CAS Nr. 017557-23-2

Neopentylglykol-diglycidylether hat in Epoxidharz-Systemen für die Bauwirtschaft offenbar nur eine geringe Verbreitung. Nach Informationen von GISBAU findet sich Neopentylglykol-diglycidylether in 26 Sicherheitsdatenblättern, davon wurde 1 in den Jahren 2006 bis 2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

Da keine standardisierte Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlich ist, wird Neopentylglykol-diglycidylether kaum getestet.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 29 allergisch auf reaktive Verdünner; 2 dieser Patienten reagierten auf ein Neopentylglykol-diglycidylether. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, zu Kreuzreaktionen, zur klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Jolanki et al. berichteten 1989 von 18 Ekzem-Patienten, die in der Herstellung von elektrischen Isolatoren beschäftigt waren, und dort mit einem cycloaliphatischen Epoxidharz auf Basis von Hexahydrophthalsäurediglycidylester umgingen. Als Reaktivverdünner waren in dem Epoxidharz-System u.a. Phenylglycidylether, Kresylglycidylether, 1,6-Hexandiol-diglycidylether und Neopentylglykoldiglycidylether enthalten. Bei 12 der Erkrankten konnte eine Kontaktallergie gegen Hexahydrophthalsäurediglycidylester festgestellt werden. Alle hatten eine Handekzem, 7 zusätzlich ein Ekzem im Gesicht und/oder am Hals. Nur einer der 12 Patienten reagierte auch auf das in der Standardreihe epikutan getestete DGEBA-Epoxidharz. Fünf der 12 Patienten reagierten im Epikutantest auch positiv auf Phenylglycidylether, 2 auf Kresylglycidylether, und jeweils 4 auf 1,6-Hexandiol-diglycidylether und Neopentylglykoldiglycidylether (Testkonzentration in allen Fällen 0,25% Vas.) (Jolanki et al. 1989).



- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Dass trotz der im Tierversuch nachgewiesenen allergenen Wirkung von Neopentylglykoldiglycidylether kaum allergische Reaktionen beim Menschen beschrieben wurden, dürfte am ehesten auf dessen geringe Verbreitung und die Nicht-Verfügbarkeit einer standardisierten Testsubstanz zurückzuführen sein.

### **3.9.4 2-Ethylhexylglycidylether, CAS Nr. 002461-15-6**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### 3.9.5 1,6-Hexandiol-diglycidylether, CAS Nr. 016096-31-4

Im Baugewerbe wird 1,6-Hexandiol-diglycidylether weit verbreitet als Reaktivverdünner in Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU findet sich 1,6-Hexandiol-diglycidylether in 321 Sicherheitsdatenblättern, davon wurden 63 in den Jahren 2006 bis 2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 29 allergisch auf reaktive Verdünner; 6 dieser Patienten reagierten auf 1,6-Hexandiol-diglycidylether. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, zu Kreuzreaktionen, zur klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Mit 19,5% positiven Reaktionen (17 von 87 getesteten Patienten) war 1,6-Hexandiol-diglycidylether das häufigste Allergen unter den Reaktivverdünnern, mit einer sehr hohen Konkordanz zu positiven Reaktionen auf 1,4-Butandiol-diglycidylether (Cohen's kappa 0,73) (Geier et al. 2004). In der gesamten Studie (also einschließlich der zweiten und dritten Phase, 2003-2005) reagierten 22,5% der 204 getesteten Patienten positiv auf 1,6-Hexandiol-diglycidylether (Geier 2010).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Jolanki et al. berichteten 1989 von 18 Ekzem-Patienten, die in der Herstellung von elektrischen Isolatoren beschäftigt waren, und dort mit einem cycloaliphatischen Epoxidharz auf Basis von Hexahydrophthalsäurediglycidylester umgingen. Als Reaktivverdünner waren in dem Epoxidharz-System u.a. Phenylglycidylether, Kresylglycidylether, 1,6-Hexandiol-diglycidylether und Neopentylglykoldiglycidylether enthalten. Bei 12 der Erkrankten konnte eine Kontaktallergie gegen Hexahydrophthalsäurediglycidylester festgestellt werden. Alle

hatten eine Handekzem, 7 zusätzlich ein Ekzem im Gesicht und/oder am Hals. Nur einer der 12 Patienten reagierte auch auf das in der Standardreihe epikutan getestete DGEBA-Epoxidharz. Fünf der 12 Patienten reagierten im Epikutantest auch positiv auf Phenylglycidylether, 2 auf Kresylglycidylether, und jeweils 4 auf 1,6-Hexandioldiglycidylether und Neopentylglykoldiglycidylether (Testkonzentration in allen Fällen 0,25% Vas.) (Jolanki et al. 1989).

Pontén et al. untersuchten 2001 systematisch Fälle von berufsbedingtem Kontaktekzem in einer großen dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen im Handlaminierverfahren hergestellt wurden. Dabei kamen unterschiedliche Epoxidharz-Systeme zum Einsatz. Auf diese Weise waren die Beschäftigten gegenüber Epoxidharzen auf Basis von DGEBA, DGEBF, Trimethylolpropan-triglycidylether und Tetraglycidyl-4,4'-methylendianilin exponiert. Die verwendeten Reaktivverdünner enthielten 1,4-Butandioldiglycidylether und 1,6-Hexandioldiglycidylether sowie C13-C15-Alkylglycidylether. Bei 66 Erkrankten wurden Epikutantestungen durchgeführt, wobei 34 auf das DGEBA-Harz und 26 auf das DGEBF-Harz reagierten. Sechs Patienten reagierten auf 1,4-Butandioldiglycidylether und von diesen reagierten vier Patienten auch auf 1,6-Hexandioldiglycidylether. Isolierte Reaktionen auf 1,6-Hexandioldiglycidylether wurden nicht beobachtet (Pontén et al. 2004b, Pontén et al. 2004c). Die hier referierten Daten zur Sensibilisierung wurden 2005 auch in einer weiteren Publikation dargestellt, die jedoch auch andere Aspekte der beruflich bedingten Hauterkrankungen beleuchtet (Rasmussen et al. 2005).

Beim Bau einer U-Bahn in Taipeh erlitten 9 Arbeiter, die unter unzureichenden Arbeitsschutzmaßnahmen gegenüber einem Epoxidharz-System exponiert waren, ein allergisches Kontaktekzem. Die Harzkomponente des Systems bestand aus einem Bisphenol A-Harz (CAS 25068-38-6), einem Bisphenol F-Harz (CAS 28064-14-4), 1,6-Hexandioldiglycidylether (CAS 16096-31-4) und Trimethylolpropan-triglycidylether (CAS 30499-70-8). Die Härterkomponente enthielt m-Xylidendiamin (CAS 1477-55-0). Bei allen 9 Betroffenen wurde eine Standardreihe einschließlich Epoxidharz auf Basis von DGEBA 1% Vas. getestet, bei 5 der Beschäftigten auch weitere Epoxidharz-Bestandteile. Nur ein Patient (von 9) reagierte auf das DGEBA-Harz, und keiner der 5 Getesteten auf ein DGEBF-Harz 0,25% Vas. Vier der 5 Getesteten reagierten positiv auf 1,6-Hexandioldiglycidylether 0,25% Vas. und 3 von 5 auf Trimethylolpropan-triglycidylether 0,25% Vas. Alle 5 Getesteten reagierten allergisch auf m-Xylidendiamin 0,1% Vas. (Chu et al. 2006).

Angelini et al. berichteten 1996 über Fälle von allergischem, zum Teil auch aerogenem allergischen Kontaktekzem einer Firma, die unter Verwendung von Epoxidharz-Systemen Marmorfliesen herstellte. Insgesamt waren 10 Beschäftigte betroffen. Alle reagierten im Epikutantest auf o-Kresylglycidylether 0,25% Vas. und 4 von ihnen auch auf Epoxidharz auf

Basis von DGEBA. Das beruflich verwendete Epoxidharz-System soll neben einem DGEBA-Harz auch Kresylglycidylether enthalten haben; weitere Angaben zur beruflichen Exposition wurden nicht gemacht. Es wurde eine umfangreiche Diagnostik unter Einschluss etlicher Reaktivverdünner (Glycidylether) durchgeführt. Dabei kam es im Epikutantest in zwei Fällen auch zu positiven Reaktionen auf 1,6-Hexandioldiglycidylether. Beide Patienten reagierten auch auf DGEBA-Harz, Kresylglycidylether, Phenylglycidylether und Cyclohexandimethanoldiglycidylether (Angelini et al. 1996).

Ein 22jähriger Mann, der 5 Jahre lang in einer Fabrik Beschichtungen mit Epoxidharzen ausführte, litt an einem subakuten Kontaktekzem der Fingerrücken beider Hände. In diesem Bereich entwickelten sich Depigmentierungen, die auch nach Aufgabe der Tätigkeit und Abheilung des Ekzems persistierten. Im Epikutantest ergaben sich stark positive Reaktionen auf Phenylglycidylether 0,25% Vas., Kresylglycidylether 0,25% Vas. und 1,6-Hexandioldiglycidylether 0,25% Vas., nicht aber auf Epoxidharz (Silvestre et al. 2003).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Insbesondere bei der oben genannten Studie EPOX 2002 wurde eine hohe Konkordanz allergischer Reaktionen auf 1,4-Butandioldiglycidylether und 1,6-Hexandioldiglycidylether beobachtet (Geier et al. 2004, Geier 2010). Aufgrund der engen chemischen Verwandtschaft beider Verbindungen ist anzunehmen, dass hier (auch) immunologische Kreuzreaktionen vorliegen.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

1,6-Hexandioldiglycidylether wird zumindest in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe häufig eingesetzt. Es gibt nur wenige systematische Untersuchungen zur Sensibilisierungshäufigkeit bei exponierten Erkrankten. In EPOX 2002 war 1,6-Hexandioldiglycidylether das häufigste Allergen unter den Reaktivverdünnern. Das häufige Auftreten gleichzeitiger Sensibilisierungen gegen 1,6-Hexandioldiglycidylether und 1,4-Butandioldiglycidylether dürfte am ehesten auf immunologische Kreuzreaktionen zurückzuführen sein.

### **3.9.6 Versaticsäureglycidylester (z.B. Cadura E 10), 2,2'-Dioctyldecansäure-2,3 epoxypropylester, CAS Nr. 026761-45-5**

Im Baugewerbe wird Versaticsäureglycidylester häufig als Reaktivverdünner in Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU wird die Substanz in 170 Sicherheitsdatenblättern erwähnt, davon wurden 18 in den Jahren 2006-2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Versaticsäureglycidylester (syn. Neodecansäureglycidylester) 0,25% Vas. wurde bei 87 Patienten epikutan getestet; dabei wurden zwei fragliche, aber keine positiven Reaktionen beobachtet (Geier et al. 2004). In der zweiten Studienphase wurde die Testkonzentration auf 0,5% Vas. erhöht; bei 81 Getesteten trat keine Reaktion auf. In der dritten Studienphase wurde Versaticsäureglycidylester nicht mehr getestet.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

In zwei Fallmitteilungen wird über zwei Patienten berichtet, die sich beim Umgang mit Epoxidharz-Systemen gegen den Reaktiv-Verdünner Cardura E® bzw. Cardura E 10® (Versaticsäureglycidylester) sensibilisiert haben.

Im ersten Fall war der Patient beruflich mit dem Abfüllen von Epoxidharz-Bestandteilen, darunter auch dieses Reaktivverdünners beschäftigt und er erlitt ein ausgedehntes und schweres allergisches Kontaktekzem mit aerogenem Ekzem. Er reagierte im Epikutantest hochgradig empfindlich auf ein DGEBA-Harz und Cardura E® bis herunter zu einer Konzentration von 0,01% in Aceton (0,0004 Mol/l) (Dahlquist und Fregert 1979b).

Auch ein Arbeiter, der bei der Herstellung eines Epoxidharz-Systems unmittelbar gegenüber dem Verdünner Cardura E 10® exponiert war, erlitt ein ausgedehntes allergisches Kontaktekzem einschließlich aerogenem Ekzem. Im Epikutantest reagierte er stark positiv auf Cardura E 10® 1% Vas. Vier andere nicht erkrankte Beschäftigte reagierten nicht auf diese Testzubereitung. (Lovell et al. 1984).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Obwohl Versaticsäureglycidylester vermutlich nicht selten als Reaktivverdünner in Epoxidharz-Systemen eingesetzt wird, gibt es nur wenige Berichte über Sensibilisierungen beim Menschen. Dies dürfte vor allem daran liegen, dass die Substanz nicht epikutan getestet wird, weil keine geeignete Testzubereitung zur Verfügung steht.

### 3.9.7 Trimethylolpropan-triglycidylether, CAS Nr. 030499-70-8

Im Baugewerbe wird Trimethylolpropan-triglycidylether nur selten als Reaktivverdünner in Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU wird die Substanz in 26 Sicherheitsdatenblättern erwähnt, davon wurden 4 in den Jahren 2006-2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Zwei von 87 getesteten Patienten reagierten allergisch auf Trimethylolpropan-triglycidylether 0,25% Vas. (Geier et al. 2004). In der zweiten Studienphase wurden bei unveränderter Testkonzentration 6 positive Reaktionen bei 81 Getesteten gesehen. In der gesamten Studie (also einschließlich der zweiten und dritten Phase, 2003-2005) reagierten 4,5% der 205 Patienten positiv auf das DGEBA-Harz (Geier 2010). Die klinische Relevanz der positiven Reaktionen konnte nicht geklärt werden.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Pontén et al. untersuchten 2001 systematisch Fälle von berufsbedingtem Kontaktekzem in einer großen dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen im Handlaminierverfahren hergestellt wurden. Dabei kamen unterschiedliche Epoxidharz-Systeme zum Einsatz. Auf diese Weise waren die Beschäftigten gegenüber Epoxidharzen auf Basis von DGEBA, DGEBF, Trimethylolpropan-triglycidylether und Tetraglycidyl-4,4'-methylendianilin exponiert. Bei 66 Erkrankten wurden Epikutantestungen durchgeführt, wobei 34 auf das DGEBA-Harz und 26 auf das DGEBF-Harz reagierten. Zwei Patienten waren gegen Trimethylolpropan-triglycidylether sensibilisiert, und zwei Patienten gegen Tetraglycidyl-4,4'-methylendianilin (Pontén et al. 2004b, Pontén et al. 2004c). Die hier referierten Daten zur Sensibilisierung wurden 2005 auch in einer weiteren Publikation dargestellt, die jedoch auch andere Aspekte der beruflich bedingten Hauterkrankungen beleuchtet (Rasmussen et al. 2005).



Beim Bau einer U-Bahn in Taipeh erlitten 9 Arbeiter, die unter unzureichenden Arbeitsschutzmaßnahmen gegenüber einem Epoxidharz-System exponiert waren, ein allergisches Kontaktekzem. Die Harzkomponente des Systems bestand aus einem Bisphenol A-Harz (CAS 25068-38-6), einem Bisphenol F-Harz (CAS 28064-14-4), 1,6-Hexandioldiglycidylether (CAS 16096-31-4) und Trimethylolpropan-triglycidylether (CAS 30499-70-8). Die Härterkomponente enthielt m-Xylidendiamin (CAS 1477-55-0). Bei allen 9 Betroffenen wurde eine Standardreihe einschließlich Epoxidharz auf Basis von DGEBA 1% Vas. getestet, bei 5 der Beschäftigten auch weitere Epoxidharz-Bestandteile. Nur ein Patient (von 9) reagierte auf das DGEBA-Harz, und keiner der 5 Getesteten auf ein DGEBA-Harz 0,25% Vas. Vier der 5 Getesteten reagierten positiv auf 1,6-Hexandioldiglycidylether 0,25% Vas. und 3 von 5 auf Trimethylolpropan-triglycidylether 0,25% Vas. Alle 5 Getesteten reagierten allergisch auf m-Xylidendiamin 0,1% Vas. (Chu et al. 2006).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Trimethylolpropan-triglycidylether ist allergologisch am Menschen nur wenig untersucht. In wenigen Einzelfällen wurden klinisch relevante Sensibilisierungen festgestellt. In EPOX 2002 wurden einige positive Reaktionen auf Trimethylolpropan-triglycidylether beobachtet, deren klinische Relevanz allerdings ungeklärt blieb.

### 3.9.8 C12/C14-Monoglycidylether, CAS Nr. 068609-97-2

Im Baugewerbe wird C12/C14-Monoglycidylether sehr weit verbreitet als Reaktivverdünner in Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU findet sich C12/C14-Monoglycidylether in 458 Sicherheitsdatenblättern, davon wurden 116 in den Jahren 2006-2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Jolanki et al., beschrieben in ihrer retrospektiven Zusammenstellung der Testergebnisse mit Komponenten von Epoxidharz-Systemen aus dem FIOH aus den 1980er Jahren 31 negativ verlaufende Testungen mit "Epoxide No. 8" 0,25% Vas. "Epoxide No. 8" enthielt vorwiegend C12/C14-Alkylglycidylether (Jolanki et al. 1990).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Bei der Epikutantestung mit C12/C14-Alkylglycidylether 0,25 % Vas. konnten bei 87 Getesteten keine positiven Reaktionen ausgelöst werden. Ausgangsprodukt für die Herstellung der dabei verwendeten Testsubstanz war Araldit DY-E/BD von Ciba. (Geier et al. 2004). In der zweiten Phase der Studie wurde die Testkonzentration verdoppelt; dennoch wurden keine positiven Testreaktionen beobachtet. In der dritten Phase, von EPOX 2002 wurde C12/C14-Alkylglycidylether nicht mehr mitgetestet.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Björkner et al. berichteten 1980 von allergischen Reaktionen auf den Reaktiv-Verdünner "Epoxide No. 8", der vorwiegend C12/C14-Alkylglycidylether enthielt, bei 10 von 30 Patienten mit Kontaktallergie gegen Epoxidharz. Drei der 10 Sensibilisierten hatten zuvor Kontakt mit einem Epoxidharz-System gehabt, das "Epoxide No. 8" enthielt. Für die Epikutantestungen war der Reaktivverdünner 0,1% in Aceton oder Propylenglykol gelöst worden (Björkner et al. 1980).

In derselben Untersuchung werden auch zwei Sensibilisierungen gegen "Epoxide No. 8" durch den einmaligen Epikutantest mit diesem Verdünner beschrieben. Im einen Fall handelte es sich um Sigfrid Fregert selbst, der sich durch den Epikutantest mit "Epoxide No. 8" 1% in Aceton sensibilisierte (Spätreaktion nach 12 Tagen). Bei der Wiederholung des

Epikutantests mit "Epoxide No. 8" reagierte er positive bis hinunter zu einer Testkonzentration von 0,01% in Aceton (Björkner et al. 1980).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Die Berichte über Sensibilisierungen gegen C12/C14-Alkylglycidylether sind widersprüchlich und nicht einfach zu interpretieren. Die positiven Tierversuche zur Sensibilisierung aus den 1970er Jahren wurden mit Gemischen durchgeführt, deren Reinheit nicht näher angegeben ist. Auch die beim Menschen beobachteten Sensibilisierungen wurden mit einem Reaktiv-Verdünner beobachtet, der "vorwiegend" C12/C14-Alkylglycidylether enthielt. Es ist also durchaus möglich, dass hier Verunreinigungen eine wesentliche Rolle gespielt haben. Bemerkenswert ist, dass trotz der großen Verbreitung von C12/C14-Alkylglycidylether in Epoxidharz-Systemen in EPOX 2002 keine allergischen Reaktionen aufgetreten sind.

### **3.9.9 Polypropylenglykoldiglycidylether / Polyoxypropylen-diglycidylether** **CAS Nr. 026142-30-3**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### **3.9.10 Polypropylene glycol chloromethyloxirane polymer, CAS Nr. 009072-62-2**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### **3.9.11 Dipropylene glycol diglycidylether, CAS Nr. 041638-13-5**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### **3.9.12 Cyclohexandimethanol-diglycidylether, CAS Nr. 014228-73-0 und Cyclohexandimethanol-divinylether, CAS Nr. 017351-75-6**

#### 3.9.12.1 Cyclohexandimethanol-diglycidylether, CAS Nr. 014228-73-0

Zur Verbreitung von Cyclohexandimethanol-diglycidylether in Epoxidharz-Systemen liegen keine Informationen vor.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Angelini et al. berichteten 1996 über Fälle von allergischem, zum Teil auch aerogenem allergischen Kontaktekzem einer Firma, die unter Verwendung von Epoxidharz-Systemen Marmorfliesen herstellte. Insgesamt waren 10 Beschäftigte betroffen. Alle reagierten im Epikutantest auf o-Kresylglycidylether 0,25% Vas. und 4 von ihnen auch auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA. Das beruflich verwendete Epoxidharz-System soll neben einem DGEBA-Harz auch Kresylglycidylether enthalten haben; weitere Angaben zur beruflichen Exposition wurden nicht gemacht. Es wurde eine umfangreiche Diagnostik unter Einschluss etlicher Reaktivverdünner (Glycidylether) durchgeführt. Dabei kam es im Epikutantest in zwei Fällen auch zu positiven Reaktionen auf 1,6-Hexandioldiglycidylether. Beide Patienten reagierten auch auf DGEBA-Harz, Kresylglycidylether, Phenylglycidylether und Cyclohexandimethanoldiglycidylether (Angelini et al. 1996).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Es liegen keine ausreichenden Humandaten vor, um eine Bewertung dieser Substanz vorzunehmen.

### 3.9.12.2 Cyclohexandimethanol-divinylether, CAS Nr. 017351-75-6

Die Verbreitung von Cyclohexandimethanol-didivinylether in Epoxidharz-Systemen scheint gering zu sein. In Epoxidharz-Produkten für das Baugewerbe wird die Verbindung nach Informationen von GISBAU (zur CAS Nr. 17351-75-6) nicht eingesetzt (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.
- Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.



### 3.9.13 p-tert-Butylphenol-monoglycidylether, CAS Nr. 003101-60-8

Im Baugewerbe wird p-tert-Butylphenol-monoglycidylether selten als Reaktivverdünner in Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU findet sich p-tert-Butylphenol-monoglycidylether in 54 Sicherheitsdatenblättern, davon wurden 16 in den Jahren 2006-2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Dabei ergaben sich positive Reaktionen auf p-tert-Butylphenol-monoglycidylether 0,25% Vas. bei 10 von 87 Getesteten (11,5 %). p-tert-Butylphenol-monoglycidylether war damit ein ebenso häufiges Allergen unter den Reaktiv-Verdünnern wie das bekannte Allergen Phenylglycidylether (Geier et al. 2004). In der gesamten Studie (also einschließlich der zweiten und dritten Phase, 2003-2005) reagierten 14% der 205 getesteten Patienten positiv auf p-tert-Butylphenol-monoglycidylether (Geier 2010).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

In der ersten Phase von EPOX 2002 reagierten jeweils 10 Patienten positiv auf p-tert-Butylphenol-monoglycidylether und Phenylglycidylether. Fünf dieser Patienten reagierten positiv auf beide Glycidylether. Dies spricht dafür, dass hier nicht unbedingt immunologische Kreuzreaktionen vorliegen müssen, sondern durchaus eigenständige Sensibilisierungen gegen p-tert-Butylphenol-monoglycidylether vorliegen können.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Berichte über Sensibilisierungen gegen p-tert-Butylphenol-monoglycidylether beim Menschen gibt es nur aus der Studie EPOX 2002. Wahrscheinlich wurde die Substanz sonst nicht ausreichend untersucht. Es spricht einiges dafür, dass p-tert-Butylphenol-monoglycidylether ein eigenständiges Allergen ist, und Sensibilisierungen gegen p-tert-Butylphenol-monoglycidylether nicht (immer) Ausdruck einer immunologischen Kreuzreaktion bei primärer Sensibilisierung gegen einen anderen Glycidylether sind. Die relativ hohen Sensibilisierungsquoten in EPOX 2002 sprechen vor allem vor dem Hintergrund der offenbar nicht besonders großen Verbreitung von p-tert-Butylphenol-monoglycidylether dafür, dass es sich um ein eher starkes Allergen handelt.

### 3.9.14 Phenylglycidylether, CAS Nr. 000122-60-1

Im Baugewerbe wird Phenylglycidylether gar nicht (mehr) als Reaktivverdünner in Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU ist Phenylglycidylether in keinem der 3.692 erfassten Sicherheitsdatenblätter erwähnt (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 29 allergisch auf reaktive Verdüner; 25 dieser Patienten reagierten auf ein Phenylglycidylether, der damit das häufigste Allergen unter den Reaktivverdünnern war. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, zu Kreuzreaktionen, zur klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. In der ersten Phase der Studie EPOX 2002 war Phenylglycidylether mit 11,5% positiven Testreaktionen (10 von 87 Getesteten reagierten positiv auf Phenylglycidylether 0,25% Vas.) das dritthäufigste Allergen unter den Reaktiv-Verdünnern (Geier et al. 2004). Sechs der 10 gegen Phenylglycidylether sensibilisierten Patienten reagierten auch auf Kresylglycidylether, und alle Patienten mit Reaktion auf Kresylglycidylether reagierten auch allergisch auf Phenylglycidylether. Neun der 10 Phenylglycidylether-Allergiker waren auch gegen das DGEBA-Harz sensibilisiert (Geier et al. 2004). In der zweiten Studienphase von EPOX 2002 reagierten 15 von 81 Getestete (18,5%) positiv auf Phenylglycidylether 0,25% Vas. In der dritten Phase der Untersuchung wurde Phenylglycidylether nicht mitgetestet.

Holness und Nethercott berichteten 1993 von insgesamt 167 Patienten aus einer auf Berufskrankheiten spezialisierten Klinik, bei denen 1981 bis 1988 wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie eine spezielle Epoxidharz-Testreihe epikutan getestet worden war. Von 98 getesteten Patienten reagierten 6 (6,1%) positiv auf Phenylglycidylether 0,25% Vas., wobei in allen Fällen eine klinische Relevanz gegeben war (keine näheren Angaben). Drei

dieser Patienten reagierten auch auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, drei nicht (Holness und Nethercott 1993). Dieselben Ergebnisse wurde 1997 noch einmal in einer anderen Zeitschrift publiziert (Holness und Nethercott 1997).

Tarvainen berichtete 1995 über die Testergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe, die in der Universitäts-Hautklinik Helsinki in den Jahren 1985 bis 1992 beobachtet wurden. Vier von 343 mit Phenylglycidylether 0,25% Vas. Getesteten reagierten positiv. Eine klinische Relevanz der Reaktion konnte in 3 der 4 Fälle festgestellt werden. Die Patienten hatten sich durch eine epoxidharzhaltige Farbe bzw. einen Epoxidharz-Kleber sensibilisiert (Tarvainen 1995).

Im Jahr 1997 publizierten Kanerva et al. die Ergebnisse der Epikutantestungen, die in einem Drei-Jahres-Zeitraum (keine näheren Angaben) mit einer 50 Substanzen umfassenden Plastik- und Kleber-Testreihe im FIOH erzielt wurden (Kanerva et al. 1997b). Am häufigsten ergaben sich allergische Reaktionen auf Phenylglycidylether 0,25% Vas. (5 Positive / 145 Getesteten = 3,4%) und 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. (5 / 174 = 2,9%). Außerdem reagierten 4 von 174 Getesteten (2,2%) allergisch auf Hexamethylentetramin 2% Vas., und 3 von 146 (2,1%) auf o-Kresylglycidylether 0,25% Vas. Angaben zur klinischen Relevanz der positiven Reaktionen und zu Kreuzreaktionen wurden nicht gemacht (Kanerva et al. 1997b).

Kanerva et al. stellten 1999 die Ergebnisse der Epikutantestungen mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe zusammen, die im FIOH in den Jahren 1991 bis 1996 bei insgesamt 360 Patienten registriert worden waren. Es ergaben sich folgende Reaktionsquoten: Bisphenol A 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Epichlorhydrin 0,1% Vas. 0/308 positiv = 0%; Diethylentriamin 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Triethylentetramin 0/356 positiv = 0%; Isophorondiamin 0,5% Vas. 0/311 positiv = 0%; Hexamethylentetramin 2% Vas. 7/357 positiv = 2,0%; Phenylglycidylether 0,25% Vas. 8/309 positiv = 2,6%; Kresylglycidylether 0,25% Vas. 5/311 positiv = 1,6%; Butylglycidylether 2/310 positiv = 0,6% (keine näheren Angaben) (Kanerva et al. 1999).

Aus den drei dermatologischen Abteilungen der US-amerikanischen Mayo-Kliniken wurden 2010 die Epikutantestergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe mitgeteilt. Von 322 in den Jahren 2000 bis 2007 getesteten Patienten reagierten 3 (0,9%) allergisch auf Phenylglycidylether (0,25% Vas.); alle Reaktionen wurden als klinisch relevant angesehen (keine weiteren Angaben) (Shmidt et al. 2010).

Hillen et al. werteten Daten des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) von 829 Patienten aus, die in den Jahren 1996-2001 unter dem Verdacht auf eine Kontaktallergie gegen Klebstoffe epikutan getestet wurden. 336 dieser Patienten hatten eine Berufsdermatose. Allergische Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz 1% Vas. wurden bei 11,5% der Getesteten festgestellt; unter den Patienten mit Berufsdermatose lag der Prozentsatz höher (21,2%). 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. führte bei 5,3% zu

positiven Reaktionen (7,0% bei den Patienten mit Berufsdermatose). Positive Reaktionen auf Phenylglycidylether 0,25% Vas. ergaben sich bei 3,4% (9,1%), auf Kresylglycidylether 0,25% Vas. bei 2,4% (6,3%) und auf Isophorondiamin 0,5% Vas. bei 1,2% (2,5%) (Hillen et al. 2007).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Rudzki und Krajewska untersuchten 40 Ekzem-Patienten, die gegenüber einem DGEBA-Harz, aber nicht gegenüber Phenylglycidylether exponiert waren. Vierzehn dieser Patienten reagierten im Epikutantest positiv auf DGEBA-Harz 1% in Aceton, und von diesen Patienten reagierten 5 auch auf Phenylglycidylether (0,25% in Ethanol). Isolierte Reaktionen auf Phenylglycidylether wurden nicht beobachtet. Sechszwanzig Patienten reagierten auf keine der beiden Testzubereitungen (Rudzki und Krajewska 1979). Achtundfünfzig weitere Ekzem-Patienten, die sowohl gegenüber DGEBA-Harz als auch gegenüber Phenylglycidylether exponiert waren, zeigten dagegen folgendes Reaktionsmuster im Epikutantest: 26 positiv auf beides, 16 negativ auf beides, 7 positiv auf DGEBA-Harz, aber negativ auf Phenylglycidylether, und 9 positiv auf Phenylglycidylether, aber negativ auf DGEBA-Harz (Rudzki und Krajewska 1979).

Im Rahmen der allergologischen Abklärung einer Reihe von Fällen von allergischem Kontaktekzem bei Arbeitern in einer Flugzeugfabrik, die mit Composite-Materialien Umgang hatten, wurde auch DGEBA-Harz und Phenylglycidylether getestet. Während in dem Composite-Material vom Arbeitsplatz DGEBA-Harz enthalten war, war Phenylglycidylether dort nicht vorhanden; er wurde lediglich im Rahmen einer entsprechenden Testreihe mitgetestet. Sieben Patienten reagierten allergisch auf das DGEBA-Harz, und von diesen Patienten reagierten fünf auch auf Phenylglycidylether. Es wurde keine allergische Reaktion auf Phenylglycidylether ohne Reaktion auf DGEBA-Harz beobachtet (Lembo et al. 1989).

Pontén et al. untersuchten 2001 systematisch Fälle von berufsbedingtem Kontaktekzem in einer großen dänischen Fabrik, in der Rotorblätter für Windkraftanlagen im Handlaminierverfahren hergestellt wurden. Dabei kamen unterschiedliche Epoxidharz-Systeme zum Einsatz. Auf diese Weise waren die Beschäftigten gegenüber Epoxidharzen auf Basis von DGEBA, DGEBF, Trimethylolpropan-triglycidylether und Tetraglycidyl-4,4'-methyldianilin exponiert. Die verwendeten Reaktivverdünner enthielten 1,4-Butandiolglycidylether und 1,6-Hexandiolglycidylether sowie C13-C15-Alkylglycidylether, nicht jedoch Phenylglycidylether. Bei 66 Erkrankten wurden Epikutantestungen durchgeführt, wobei 34 auf das DGEBA-Harz und 26 auf das DGEBF-Harz reagierten. Vier Patienten reagierten positiv auf Phenylglycidylether; alle diese Patienten waren auch gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA sensibilisiert (Pontén et al. 2004b, Pontén et al. 2004c). Die hier referierten Daten

zur Sensibilisierung wurden 2005 auch in einer weiteren Publikation dargestellt, die jedoch auch andere Aspekte der beruflich bedingten Hauterkrankungen beleuchtet (Rasmussen et al. 2005).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Bereits 1964 publizierten Fregert und Rorsman eine Untersuchung zur Sensibilisierung gegen Reaktivverdünner bei Patienten mit Kontaktallergie gegen Epoxidharz. Sie testeten 20 Patienten mit Phenylglycidylether, Butylglycidylether und Allylglycidylether. 14 der 20 Patienten reagierten allergisch auf Phenylglycidylether, 3 auf Butylglycidylether und 2 auf Allylglycidylether. Bei 4 der Patienten mit positiver Reaktion auf Phenylglycidylether wurde auch Kresylglycidylether getestet, und alle 4 zeigten eine positive Reaktion. Die Testkonzentration war in allen Fällen 0,25% in Aceton (Fregert und Rorsman 1964).

Jolanki et al. berichteten 1987 von drei Beschäftigten in einer Pinselfabrik, die mit einem Zweikomponentenkleber auf Epoxidharz-Basis arbeiteten und ein allergisches Kontaktekzem erlitten. Das verwendete Epoxidharz-System enthielt neben einem DGEBA-Harz die Reaktivverdünner 1,4-Butandiol diglycidylether, „Epoxyde 8“ (vorwiegend C12/C14-Alkylglycidylether) und Phenylglycidylether. Alle drei Betroffenen waren gegen 1,4-Butandiol diglycidylether sensibilisiert (stark positive Reaktionen auf 1,4-Butandiol diglycidylether bis hinunter zu 0,25% Vas.). Zwei Patienten reagierten außerdem stark positiv auf Phenylglycidylether und o-Kresylglycidylether, und einer von diesem beiden auch auf das DGEBA-Harz (Jolanki et al. 1987a).

Jolanki et al. berichteten 1989 von 18 Ekzem-Patienten, die in der Herstellung von elektrischen Isolatoren beschäftigt waren, und dort mit einem cycloaliphatischen Epoxidharz auf Basis von Hexahydrophthalsäurediglycidylester umgingen. Als Reaktivverdünner waren in dem Epoxidharz-System u.a. Phenylglycidylether, Kresylglycidylether, 1,6-Hexandiol diglycidylether und Neopentylglykoldiglycidylether enthalten. Bei 12 der Erkrankten konnte eine Kontaktallergie gegen Hexahydrophthalsäurediglycidylester festgestellt werden. Alle hatten eine Handekzem, 7 zusätzlich ein Ekzem im Gesicht und/oder am Hals. Nur einer der 12 Patienten reagierte auch auf das in der Standardreihe epikutan getestete DGEBA-Epoxidharz. Fünf der 12 Patienten reagierten im Epikutantest auch positiv auf Phenylglycidylether, 2 auf Kresylglycidylether, und jeweils 4 auf 1,6-Hexandiol diglycidylether und Neopentylglykoldiglycidylether (Testkonzentration in allen Fällen 0,25% Vas.) (Jolanki et al. 1989).

Jolanki et al. berichteten 1996 über Hauterkrankungen in einer Ski-Fabrik. Von den 22 Beschäftigten litten 8 an einem berufsbedingten allergischen Kontaktekzem. Sechs dieser Patienten waren gegen Bestandteile der beruflich verwendeten Epoxidharz-Systeme

sensibilisiert, nämlich DGEBA-Harz (Testkonzentration 1% Vas; 6 Patienten positiv), Phenylglycidylether (Testkonzentration 0,25% Vas; 3 Patienten positiv), 1,4-Butandiol-diglycidylether (Testkonzentration 0,25% Vas; 3 Patienten positiv), Ethylenglycoldiglycidylether (Testkonzentration 0,5% Vas; 3 Patienten positiv), Tetrapropylenglycoldiglycidylether (Testkonzentration 0,5% Vas; 2 Patienten positiv), Ethylendiamin (Testkonzentration Ethylendiamin-di-HCl 1% Vas; 3 Patienten positiv), Diethylentriamin (Testkonzentration 1% Vas; 2 Patienten positiv), Triethylentetramin (Testkonzentration 0,5% Vas; 3 Patienten positiv) (Jolanki et al. 1996).

Rudzki et al. berichteten 1983, dass in der Dermatologischen Universitätsklinik Warschau in den zwei Jahren zuvor 13 Patienten mit Epoxidharz-Allergie gesehen wurden, von denen 8 auch auf Phenylglycidylether (0,25% in Alkohol) positiv reagierten. Bei einem dieser Patienten und bei einem weiteren, der ausschließlich auf Phenylglycidylether allergisch reagierte (und nicht auf Epoxidharz), wurde aufgrund der Vorgeschichte und der beruflichen Exposition Phenylglycidylether als primäres Allergen angesehen (Rudzki et al. 1983).

Laskowski und Heise berichteten 2000 von drei Beschäftigten eines Betriebes, in dem glasfaserverstärkte Kunststoffe für Rotorblätter im Handlaminier-Verfahren bearbeitet wurden, die bereits drei bis vier Wochen nach Beginn der Tätigkeit ein allergisches Kontaktekzem erlitten. Im Epikutantest reagierten die Patienten auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA und Phenylglycidylether. Ob Phenylglycidylether am Arbeitsplatz vorkam, wurde nicht allerdings angegeben (Laskowski und Heise 2000).

Angelini et al. berichteten 1996 über Fälle von allergischem, zum Teil auch aerogenem allergischen Kontaktekzem einer Firma, die unter Verwendung von Epoxidharz-Systemen Marmorfliesen herstellte. Insgesamt waren 10 Beschäftigte betroffen. Alle reagierten im Epikutantest auf o-Kresylglycidylether 0,25% Vas. und 4 von ihnen auch auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA. Das beruflich verwendete Epoxidharz-System soll neben einem DGEBA-Harz auch Kresylglycidylether enthalten haben; weitere Angaben zur beruflichen Exposition wurden nicht gemacht. Es wurde eine umfangreiche Diagnostik unter Einschluss etlicher Reaktivverdünner (Glycidylether) durchgeführt. Dabei kam es im Epikutantest in zwei Fällen auch zu positiven Reaktionen auf 1,6-Hexandiol-diglycidylether. Beide Patienten reagierten auch auf DGEBA-Harz, Kresylglycidylether, Phenylglycidylether und Cyclohexandimethanol-diglycidylether (Angelini et al. 1996).

In der dermatologischen Abteilung des Institutes für Arbeitssicherheit und Arbeitsmedizin der Universität Madrid wurden in den Jahren 1989-1992 15 Fußbodenleger mit Ekzem nach dem Umgang mit Epoxidharz-Systemen untersucht. Zwölf von ihnen hatten ein Handekzem oder ein Ekzem der Unterarme, 8 ein Gesichtsekzem. Neun Patienten erkrankten innerhalb der ersten drei Monate, in denen sie mit Epoxidharzen arbeiteten, weitere vier innerhalb der

folgenden 15 Monate. Nähere Informationen über die Zusammensetzung der verwendeten Epoxidharz-Systeme waren in der Regel nicht verfügbar. Im Epikutantest reagierten 14 Patienten positiv auf Epoxidharz, 5 auf Phenylglycidylether und 3 auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan. Die Sensibilisierungen gegen Phenylglycidylether wurden ausschließlich bei Patienten mit Epoxidharz-Allergie beobachtet, während ein Patient ausschließlich gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan sensibilisiert war (Condé-Salazar et al. 1994).

In den 1990er Jahren wurde über mehrere Fälle von allergischem Kontaktekzem durch ein Leica Immersionsöl für die Mikroskopie berichtet, das ein modifiziertes Epoxidharz enthielt. Bei den Patienten waren nicht nur die Hände, sondern auch die Periorbitalregion betroffen, am ehesten als disloziertes allergisches Kontaktekzem durch Kontamination der Okulare. Die Patienten reagierten im Epikutantest allergisch auf DGEBA-Harz, DGEBF-Harz, Phenylglycidylether und Kresylglycidylether, einige zusätzlich auch auf Butylglycidylether (Géraut und Tripodi 1999).

Hackett berichtete 1999 über 44 Patienten mit berufsbedingtem Kontaktekzem, die im Flugzeugbau mit Epoxidharz in Form so genannter „pre-pegs“ Kontakt hatten. Im Epikutantest konnte nachgewiesen werden, dass von diesen Patienten 11 gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 4 gegen Phenylglycidylether, 4 gegen Diethylentriamin und 3 gegen Triethylentetramin sensibilisiert waren (Hackett 1999).

Ein 22-jähriger Mann, der 5 Jahre lang in einer Fabrik Beschichtungen mit Epoxidharzen ausführte, litt an einem subakuten Kontaktekzem der Fingerrücken beider Hände. In diesem Bereich entwickelten sich Depigmentierungen, die auch nach Aufgabe der Tätigkeit und Abheilung des Ekzems persistierten. Im Epikutantest ergaben sich stark positive Reaktionen auf Phenylglycidylether 0,25% Vas., Kresylglycidylether 0,25% Vas. und 1,6-Hexandiol-diglycidylether 0,25% Vas., nicht aber auf Epoxidharz (Silvestre et al. 2003).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Pontén et al. gingen 2008 der Frage nach, ob die häufig beobachteten gleichzeitigen Reaktionen auf Epoxidharze auf Basis von DGEBA und/oder DGEBF einerseits und Phenylglycidylether andererseits auf eine Kontamination der Harze mit Phenylglycidylether zurückzuführen sei. Sie stellten dabei heraus, dass alle 7 Patienten mit nachgewiesener Sensibilisierung gegen Phenylglycidylether, die von Anfang 2001 bis Mitte 2004 in der Abteilung für Berufsdermatologie der Lund Universität Malmö, diagnostiziert wurden, auch allergisch auf Epoxidharze auf Basis von DGEBA und DGEBF reagierten. Diese 7 Patienten stellten 30% der 23 Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz bzw. 37% der 19 Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBF-Harz dar. Chemische Untersuchungen ergaben,



dass in 18 der 20 (90%) untersuchten, kommerziell verwendeten Epoxidharze Phenylglycidylether nachweisbar war. Die Konzentrationen waren allerdings sehr gering; sie lagen zwischen 0,004% und 0,18%. Die Autoren schlossen aus ihren Ergebnissen, dass die Sensibilisierungen gegen Phenylglycidylether nicht durch diese Kontaminationen erworben wurden. Vielmehr kämen Kreuzsensibilisierungen bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz als Ursprung der Allergie gegen Phenylglycidylether in Betracht. Der – wenn auch geringe – Gehalt an Phenylglycidylether in den Epoxidharz-Systemen könne aber bei hochgradiger Sensibilisierung für die Auslösung einer allergischen Reaktion von Bedeutung sein (Pontén et al. 2008).

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Im Rahmen der Voruntersuchungen zu der oben beschriebenen Untersuchung zur Sensibilisierung gegen reaktive Verdünner haben Fregert und Rorsman versucht, eine nicht irritierende Testkonzentration für Phenylglycidylether zu ermitteln. Durch die Testung mit Phenylglycidylether 1% in Aceton wurden 2 von 10 gesunden Probanden ohne Epoxidharz-Allergie sensibilisiert. Toxische Reaktionen traten nicht auf. Die Autoren schlossen daraus, dass Phenylglycidylether ein starkes Allergen sei (Fregert und Rorsman 1964).

- Zusammenfassung und Bewertung.

Phenylglycidylether ist ein starkes Allergen. Isolierte allergische Reaktionen auf Phenylglycidylether wurden bei Exponierten beobachtet; weitaus häufiger sind allerdings gleichzeitige Sensibilisierungen gegen Phenylglycidylether und DGEBA-Harz, und zwar sowohl bei Patienten mit Exposition gegenüber beiden Allergenen als auch bei Patienten, die nur gegen DGEBA-Harz, nicht aber gegen Phenylglycidylether exponiert waren.

Dass trotz seiner aktuell geringen Verbreitung in Epoxidharz-Systemen häufig allergische Reaktionen beobachtet werden, dürfte an immunologischen Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA und/oder DGEBF liegen. Diese Kreuzreaktivität wurde auch im Tierversuch nachgewiesen (Pontén et al. 2004d).

### 3.9.15 o-Kresylglycidylether, CAS Nr. 002210-79-9

Sowohl o-Kresylglycidylether als auch das Isomerengemisch von Kresylglycidylether sind in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe kaum verbreitet. Nach Informationen von GISBAU findet sich o-Kresylglycidylether in 14 Sicherheitsdatenblättern, davon wurden 5 in den Jahren 2006-2011 erstellt. Das Isomerengemisch von Kresylglycidylether wird in 24 Sicherheitsdatenblättern genannt, davon keines aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

In den Publikationen zur Sensibilisierung gegen Kresylglycidylether beim Menschen ist nicht immer genau angegeben, worum es sich handelt. Teils schrieben die Autoren ausdrücklich „o-Kresylglycidylether“, teils ist nur von Kresylglycidylether die Rede, teils wird ausdrücklich eine CAS Nr. angegeben, oder es wird darauf verwiesen, dass die Testzubereitung von Almirall Hermal stammt. Diese Firma gibt als CAS Nr. ihrer Testzubereitung 26447-14-3 an, also die CAS Nr. des Isomerengemisches. Sofern eindeutig erkennbar war, dass es sich um o-Kresylglycidylether gehandelt hat, wurden die Publikationen hier berücksichtigt. In allen anderen Fällen wurden sie dem Isomerengemisch zugeordnet.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im FIOH wurde o-Kresylglycidylether 0,25% Vas. in den Jahren 1984 bis 1988 bei insgesamt 140 Patienten epikutan getestet. Davon reagierten 8 positiv (5,7%), darunter auch die zwei Beschäftigten einer Pinselwerkfabrik, die unten erwähnt sind. Nähere Angaben zu Kreuzreaktionen, zur individuellen Exposition oder zur klinischen Relevanz der Reaktionen bei den übrigen 7 Patienten mit positiver Reaktion auf o-Kresylglycidylether liegen nicht vor (Jolanki et al. 1990).

Im Jahr 1997 publizierten Kanerva et al. die Ergebnisse der Epikutantestungen, die in einem Drei-Jahres-Zeitraum (keine näheren Angaben) mit einer 50 Substanzen umfassenden Plastik- und Kleber-Testreihe im FIOH erzielt wurden (Kanerva et al. 1997b). Am häufigsten ergaben sich allergische Reaktionen auf Phenylglycidylether 0,25% Vas. (5 Positive / 145 Getesteten = 3,4%) und 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. (5 / 174 = 2,9%). Außerdem reagierten 4 von 174 Getesteten (2,2%) allergisch auf Hexamethylentetramin 2% Vas., und 3 von 146 (2,1%) auf o-Kresylglycidylether 0,25% Vas. Angaben zur klinischen Relevanz der positiven Reaktionen und zu Kreuzreaktionen wurden nicht gemacht (Kanerva et al. 1997b).

Tarvainen berichtete 1995 über die Testergebnisse mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe, die in der Universitäts-Hautklinik Helsinki in den Jahren 1985 bis 1992 beobachtet wurden. Nur einer von 343 mit o-Kresylglycidylether 0,25% Vas. Getesteten reagierte positiv. Eine klinische Relevanz dieser Reaktion konnte jedoch nicht festgestellt werden (Tarvainen 1995).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Angelini et al. berichteten 1996 über Fälle von allergischem, zum Teil auch aerogenem allergischen Kontaktekzem einer Firma, die unter Verwendung von Epoxidharz-Systemen Marmorfliesen herstellte. Insgesamt waren 10 Beschäftigte betroffen. Alle reagierten im Epikutantest auf o-Kresylglycidylether 0,25% Vas. und 4 von ihnen auch auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA. Das beruflich verwendete Epoxidharz-System soll neben einem DGEBA-Harz auch Kresylglycidylether enthalten haben; weitere Angaben zur beruflichen Exposition wurden nicht gemacht (Angelini et al. 1996).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Jolanki et al. berichteten 1987 von drei Beschäftigten in einer Pinselfabrik, die mit einem Zweikomponentenkleber auf Epoxidharz-Basis arbeiteten und ein allergisches Kontaktekzem erlitten. Das verwendete Epoxidharz-System enthielt neben einem DGEBA-Harz die Reaktivverdünner 1,4-Butandiol-diglycidylether, „Epoxide 8“ (vorwiegend C12/C14-Alkylglycidylether) und Phenylglycidylether. Alle drei Betroffenen waren gegen 1,4-Butandiol-diglycidylether sensibilisiert. Zwei Patienten reagierten außerdem stark positiv auf Phenylglycidylether und o-Kresylglycidylether, und einer von diesem beiden auch auf das DGEBA-Harz (Jolanki et al. 1987a).

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Es gibt nur wenige Berichte über Sensibilisierungen beim Menschen, in denen ausdrücklich o-Kresylglycidylether als Allergen bzw. Testsubstanz genannt ist. Einige Fälle von Kontaktallergie gegen o-Kresylglycidylether wurden beschrieben, meist mit gleichzeitiger Reaktion auf Phenylglycidylether.

### **3.9.16 Kresylglycidylether, Isomerengemisch, CAS Nr. 026447-14-3**

Sowohl o-Kresylglycidylether als auch das Isomerengemisch von Kresylglycidylether sind in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe kaum verbreitet. Nach Informationen von GISBAU findet sich o-Kresylglycidylether in 14 Sicherheitsdatenblättern, davon wurden 5 in den Jahren 2006-2011 erstellt. Das Isomerengemisch von Kresylglycidylether wird in 24 Sicherheitsdatenblättern genannt, davon keines aus den Jahren 2006-2011. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

In den Publikationen zur Sensibilisierung gegen Kresylglycidylether beim Menschen ist nicht immer genau angegeben, worum es sich handelt. Teils schrieben die Autoren ausdrücklich „o-Kresylglycidylether“, teils ist nur von Kresylglycidylether die Rede, teils wird ausdrücklich eine CAS Nr. angegeben oder es wird darauf verwiesen, dass die Testzubereitung von Almirall Hermal stammt. Diese Firma gibt als CAS Nr. ihrer Testzubereitung 26447-14-3 an, also die CAS Nr. des Isomerengemisches. Sofern eindeutig erkennbar war, dass es sich um o-Kresylglycidylether gehandelt hat, wurden die Publikationen dort berücksichtigt. In allen anderen Fällen wurden sie dem Isomerengemisch zugeordnet.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Holness und Nethercott berichteten 1993 von 167 Patienten aus einer auf Berufskrankheiten spezialisierten Klinik, bei denen 1981 bis 1988 wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie eine spezielle Epoxidharz-Testreihe epikutan getestet worden war. Von 96 getesteten Patienten reagierten 2 (2,1%) positiv auf Kresylglycidylether 0,25% Vas., wobei in beiden Fällen eine klinische Relevanz gegeben war (keine näheren Angaben). Einer dieser Patienten reagierte auch auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA (Holness und Nethercott 1993). Dieselben Ergebnisse wurde 1997 noch einmal in einer anderen Zeitschrift publiziert (Holness und Nethercott 1997).

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 29 allergisch auf reaktive Verdüner; 16 dieser Patienten reagierten auf Kresylglycidylether, der damit das zweithäufigste Allergen unter den Reaktivverdünnern war. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der

jeweiligen Substanz, zu Kreuzreaktionen, zur klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Mit 6,8 % positiven Reaktionen (6 von 88) waren Sensibilisierungen gegen Kresylglycidylether deutlich seltener als Reaktionen auf Phenylglycidylether. Alle gegen Kresylglycidylether Sensibilisierten reagierten auch allergisch auf Phenylglycidylether (Geier et al. 2004). In der gesamten Studie (also einschließlich der zweiten und dritten Phase, 2003-2005) reagierten 10% der 206 getesteten Patienten positiv auf Kresylglycidylether 0,25 % Vas. (Geier 2010).

Kanerva et al. stellten 1999 die Ergebnisse der Epikutantestungen mit einer Plastik- und Kleber-Testreihe zusammen, die im FIOH in den Jahren 1991 bis 1996 bei insgesamt 360 Patienten registriert worden waren. Es ergaben sich folgende Reaktionsquoten: Bisphenol A 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Epichlorhydrin 0,1% Vas. 0/308 positiv = 0%; Diethylentriamin 1% Vas. 1/356 positiv = 0,3%; Triethylentetramin 0/356 positiv = 0%; Isophorondiamin 0,5% Vas. 0/311 positiv = 0%; Hexamethylentetramin 2% Vas. 7/357 positiv = 2,0%; Phenylglycidylether 0,25% Vas. 8/309 positiv = 2,6%; Kresylglycidylether 0,25% Vas. 5/311 positiv = 1,6%; Butylglycidylether 2/310 positiv = 0,6% (keine näheren Angaben) (Kanerva et al. 1999).

Hillen et al. werteten Daten des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) von 829 Patienten aus, die in den Jahren 1996-2001 unter dem Verdacht auf eine Kontaktallergie gegen Klebstoffe epikutan getestet wurden. 336 dieser Patienten hatten eine Berufsdermatose. Allergische Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz 1% Vas. wurden bei 11,5% der Getesteten festgestellt; unter den Patienten mit Berufsdermatose lag der Prozentsatz höher (21,2%). 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. führte bei 5,3% zu positiven Reaktionen (7,0% bei den Patienten mit Berufsdermatose). Positive Reaktionen auf Phenylglycidylether 0,25% Vas. ergaben sich bei 3,4% (9,1%), auf Kresylglycidylether 0,25% Vas. bei 2,4% (6,3%) und auf Isophorondiamin 0,5% Vas. bei 1,2% (2,5%) (Hillen et al. 2007).

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Bereits 1964 publizierten Fregert und Rorsman eine Untersuchung zur Sensibilisierung gegen Reaktivverdünner bei Patienten mit Kontaktallergie gegen DGEBA-Epoxidharz. Sie testeten 20 Patienten mit Phenylglycidylether, Butylglycidylether und Allylglycidylether.

14 der 20 Patienten reagierten allergisch auf Phenylglycidylether, 3 auf Butylglycidylether und 2 auf Allylglycidylether. Bei 4 der Patienten mit positiver Reaktion auf Phenylglycidylether wurde auch Kresylglycidylether getestet, und alle 4 zeigten eine positive Reaktion. Die Testkonzentration war in allen Fällen 0,25% in Aceton (Fregert und Rorsman 1964).

Jolanki et al. berichteten 1989 von 18 Ekzem-Patienten, die in der Herstellung von elektrischen Isolatoren beschäftigt waren, und dort mit einem cycloaliphatischen Epoxidharz auf Basis von Hexahydrophthalsäurediglycidylester umgingen. Als Reaktivverdünner waren in dem Epoxidharz-System u.a. Phenylglycidylether, Kresylglycidylether, 1,6-Hexandiol-diglycidylether und Neopentylglykoldiglycidylether enthalten. Bei 12 der Erkrankten konnte eine Kontaktallergie gegen Hexahydrophthalsäurediglycidylester festgestellt werden. Alle hatten eine Handekzem, 7 zusätzlich ein Ekzem im Gesicht und/oder am Hals. Nur einer der 12 Patienten reagierte auch auf das in der Standardreihe epikutan getestete DGEBA-Epoxidharz. Fünf der 12 Patienten reagierten im Epikutantest auch positiv auf Phenylglycidylether, 2 auf Kresylglycidylether, und jeweils 4 auf 1,6-Hexandiol-diglycidylether und Neopentylglykoldiglycidylether (Testkonzentration in allen Fällen 0,25% Vas.) (Jolanki et al. 1989).

Ein 24-jähriger Chemiarbeiter, der mit Epoxidharz-Systemen Kontakt hatte, wurde wegen eines allergischen Kontaktekzems epikutan getestet. Er reagierte positiv auf Ethylendiamin-di-HCl 1% Vas., Kresylglycidylether 0,25% Vas. und Diisodecylphthalat 5% Vas. Wenngleich die Zusammensetzung des verwendeten Epoxidharz-Systems nicht bekannt war, so nahmen die Autoren dennoch an, dass sich der Patient durch seine berufliche Epoxidharz-Exposition gegen Kresylglycidylether sensibilisiert hat (Chierigato et al. 1994).

In den 1990er Jahren wurde über mehrere Fälle von allergischem Kontaktekzem durch ein Leica Immersionsöl für die Mikroskopie berichtet, das ein modifiziertes Epoxidharz enthielt. Bei den Patienten waren nicht nur die Hände, sondern auch die Periorbitalregion betroffen, am ehesten als disloziertes allergisches Kontaktekzem durch Kontamination der Okulare. Die Patienten reagierten im Epikutantest allergisch auf DGEBA-Harz, DGEBF-Harz, Phenylglycidylether und Kresylglycidylether, einige zusätzlich auch auf Butylglycidylether (Géraut und Tripodi 1999, Sasseville et al. 2000).

Ein 22-jähriger Mann, der 5 Jahre lang in einer Fabrik Beschichtungen mit Epoxidharzen ausführte, litt an einem subakuten Kontaktekzem der Fingerrücken beider Hände. In diesem Bereich entwickelten sich Depigmentierungen, die auch nach Aufgabe der Tätigkeit und Abheilung des Ekzems persistierten. Im Epikutantest ergaben sich stark positive Reaktionen auf Phenylglycidylether 0,25% Vas., Kresylglycidylether 0,25% Vas. und 1,6-Hexandiol-diglycidylether 0,25% Vas., nicht aber auf Epoxidharz (Silvestre et al. 2003).

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Allergische Reaktionen auf Kresylglycidylether in Epoxidharz-Systemen sind häufig beschrieben worden, meist gemeinsam mit Reaktionen auf Phenylglycidylether. Wegen der engen strukturellen Verwandtschaft zwischen Phenylglycidylether und Kresylglycidylether ist anzunehmen, dass immunologische Kreuzreaktionen vorkommen.

### **3.9.17 2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol, CAS Nr. 000090-72-2**

2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol (tris-DMP) wird in Epoxidharz-Produkten für das Baugewerbe häufig eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU findet sich tris-DMP in 348 Sicherheitsdatenblättern, davon wurden 81 in den Jahren 2006-2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Im Jahr 2001 veröffentlichten Jolanki et al. vom FIOH ihre Testergebnisse bei 182 Patienten, die dort im Laufe von 22 Jahren wegen eines beruflich bedingten allergischen Kontaktekzems durch Epoxidharze untersucht worden waren. Von diesen Patienten reagierten 43 allergisch auf Härter; 5 dieser Patienten reagierten auf tris-DMP. Es handelt sich nur um eine summarische Auflistung von Testergebnissen und Reaktionshäufigkeiten, ohne nähere Angabe zur Anzahl der Epikutantestungen mit der jeweiligen Substanz, zu Kreuzreaktionen, zur klinischen Relevanz der Testergebnisse oder der Exposition der Patienten (Jolanki et al. 2001).

In der im IVDK durchgeführten Untersuchung EPOX 2002 wurde bei Patienten mit Verdacht auf allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe überprüft. In der ersten Phase dieser Untersuchung (2002-2003) wurden 92 Patienten untersucht. Bei 87 Testungen mit tris-DMP 0,25% Vas. wurden keine positiven Reaktionen beobachtet (Geier et al. 2004). In der zweiten Studienphase wurde die Testkonzentration auf 0,5% Vas. erhöht; doch auch mit tris-DMP 0,5% Vas. wurden keine positiven Reaktionen bei 81 Getesteten gesehen. In der dritten Phase von EPOX 2002 wurde tris-DMP schließlich 1% Vas. getestet. Dabei wurde eine positive Reaktion bei 33 Getesteten beobachtet.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Bisher wurden 14 Fälle von Kontaktallergie gegen tris-DMP publiziert:

Kanerva et al. berichteten von zwei entsprechenden Patienten, die 1989 und 1990 im FIOH diagnostiziert wurden. Ein Patient war ein Industrielackierer, der mit epoxidharzhaltigen Lacken umging, und gegen tris-DMP und Isophorondiamin sensibilisiert war. Der zweite Patient war in der Produktion von Zwei-Komponenten-Fußbodenbeschichtungen tätig; er war



gegen DGEBA-Epoxidharz, tris-DMP und Isophorondiamin sensibilisiert (Kanerva et al. 1991).

Von 1992 bis 2001 wurde ein weiterer Fall von Kontaktallergie gegen tris-DMP im finnischen Berufskrankheitenregister (Finnish Register of Occupational Disease) registriert (Suuronen et al. 2007). Dabei handelte es sich um eine 47jährige Malerin und Lackiererin, die an einer durch eine epoxidharzhaltige Farbe ausgelösten aerogenen allergischen Kontaktdermatitis litt. Die Patientin war gegen tris-DMP, aber nicht gegen Epoxidharz, sensibilisiert (Kanerva et al. 1996).

Im FIOH wurde tris-DMP anfänglich 0,1%, 0,32% und 1% Vas. epikutan getestet. Sensibilisierte Patienten zeigten stark positive Reaktionen auf tris-DMP 1% Vas., während 20 nicht exponierte Kontrollpersonen keine Reaktion zeigten. Da mit tris-DMP 0,1% Vas. falsch negative Reaktionen auftraten, empfahlen die Autoren, tris-DMP 1% Vas. zu testen, auch wenn dies die Haut gelegentlich leicht irritieren könnte (Kanerva et al. 1991, Kanerva et al. 1996). )

Brooke und Beck berichteten von drei beruflich gegenüber Epoxidharz-Systemen exponierten Männern mit allergischem Kontaktekzem, die gegen DGEBA-Harz, tris-DMP und 4,4'-Diaminodiphenylmethan sensibilisiert waren. Die Autoren testeten tris-DMP 0,5% Vas.; 50 Kontrollpersonen reagierten nicht auf diese Testzubereitung (Brooke und Beck 1998).

Bei dem letzten im Detail beschriebenen Fall von Kontaktallergie gegen tris-DMP handelte es sich um einen Betonsanierer, der gegen mehrere Komponenten der beruflich verwendeten Epoxidharz-Systeme sensibilisiert war, nämlich DGEBA-Harz, 1,6-Hexandiol-diglycidylether, m-Xylidendiamin, tris-DMP, und (Z)-N-9-octadecenylpropan-1,3-diamin (Geier et al. 2009). Tris-DMP wurde hier 1% Vas. epikutan getestet (Geier et al. 2009). Rømhyr et al. erwähnten in ihrer Studie über Epoxidharz-Allergien bei Industriemalern und Lackierern positive Epikutantestreaktionen auf tris-DMP 1% Vas. bei 7 von 20 beruflich exponierten Patienten (Rømhyr et al. 2006). Weitere Details wurden nicht berichtet.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Zumindest in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe ist tris-DMP oft enthalten. Die Substanz ist nach Angaben des Herstellers im Tierversuch ein schwaches Allergen. Beim Menschen wurde Sensibilisierungen gegen tris-DMP bei exponierten Patienten mit allergischem Kontaktekzem beobachtet. Dass entsprechende Fälle nur selten diagnostiziert und beschrieben werden, dürfte auch darauf zurückzuführen sein, dass keine standardisierte Testsubstanz kommerziell erhältlich ist. Daher werden Epikutantestungen mit tris-DMP nur selten durchgeführt. In der Untersuchung EPOX 2002 wurden anfänglich sehr niedrigen Testkonzentrationen gewählt, wodurch möglicher Weise Sensibilisierungen übersehen wurden.

### **3.10. Neue Substanzen, identifiziert in der Bewertung der Relevanz aus Sicht der Industrie**

#### **3.10.1 Poly[oxy(methyl-1,2-ethanediyl)], ?-(2-aminomethylethyl)-?- (2-aminomethylethoxy), CAS Nr. 009046-10-0**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### **3.10.2 PolyPropylenEthyleneDiamin**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

**3.10.3 12-Octadecadienoic acid (9Z,12Z)-, dimer,  
polymer with N-(2-aminoethyl)-1,2-ethanediamine, CAS Nr. 037189-83-6**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### 3.10.4 2,2'-dimethyl-4,4'-methylenbis(cyclohexylamine), CAS Nr. 006864-37-5

2,2'-Dimethyl-4,4'-methylenbis(cyclohexylamin) [Synonyma: 4,4'-Diamino-3,3'-dimethyldicyclohexylmethan; 4,4'-Methylenbis-(2-methylcyclohexanamin); Dimethyldicycan; DMDC; CAS Nr. 6864-37-5] wird in Epoxidharz-Produkten für das Baugewerbe selten eingesetzt. Nach Informationen von GISBAU findet sich DMDC in nur 26 Sicherheitsdatenblättern, davon wurden 4 in den Jahren 2006-2011 erstellt. Basis dieser Auswertung waren 3.692 bei GISBAU erfasste Sicherheitsdatenblätter, von denen 635 nach 2005 erstellt worden waren (Kersting 2011).

1980 wurde in Japan bei 6 von 233 Arbeitern, die bei der Polymerisation von Kunstharzen gegenüber DMDC exponiert waren, eine generalisierte Morphea festgestellt. Nach relativ kurzer Expositionsdauer traten eine deutliche Sklerose (Verhärtung) der Haut und eine Muskelschwäche auf. Außerdem lag ein generalisiertes Erythem vor. Nach Beendigung der Exposition gegenüber DMDC waren die Veränderungen reversibel (#Haustein und Ziegler 1986; Yamakage et al. 1980).

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Daten bzgl. einer sensibilisierenden Wirkung von DMDC am Menschen liegen nicht vor. Es wurde aber 1980 in einer kleinen Fallserie das Auftreten einer generalisierten Sklerodermie bei exponierten Arbeitern beobachtet.

### **3.10.5 Polyaminoamido-imidazolines**

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Derzeit keine Humandaten verfügbar.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.

### **3.10.6 Asparaginsäureester**

Es ist unklar, welche Verbindung(en) gemint sind. Daher erfolgte keine Bearbeitung.

- Sensibilisierungshäufigkeiten in klinisch-epidemiologischen Untersuchungen oder seriellen Testungen.

Wird ggf. in späterer Phase des Projekts ergänzt.

- Berichte über Sensibilisierungen bei Exponierten.

Wird ggf. in späterer Phase des Projekts ergänzt.

- Untersuchungen zu Kreuzreaktionen.

Wird ggf. in späterer Phase des Projekts ergänzt.

- Sensibilisierungsversuche am Menschen.

Wird ggf. in späterer Phase des Projekts ergänzt.

- Zusammenfassung und Bewertung.

Entfällt.



### **3.10.7 Bisphenol F-Epoxidharz, CAS Nr. 055492-52-9**

Unter dieser CAS Nr., die ebenfalls ein Epoxidharz auf Basis von DGEHF bezeichnet, sind keine Untersuchungen zur sensibilisierenden Wirkung am Menschen gefunden worden.

Das DGEHF-Harz wird unter der CAS Nr. 009003-36-5 besprochen.

#### 4. Diskussion und Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit ist Teil des Forschungsvorhabens FP-0324, in dem Inhaltsstoffe von Epoxidharz-Systemen nach ihrer jeweiligen sensibilisierenden Wirkstärke differenziert und, soweit möglich, klassifiziert werden sollen. Ziel dieser Arbeit war es, publizierte Daten zur sensibilisierenden Wirkung von Inhaltsstoffen von Epoxidharz-Systemen an der Haut des Menschen zusammenzustellen und zu bewerten. Dabei lag der Schwerpunkt auf Untersuchungen an Patienten, die sich durch den Kontakt mit einem Epoxidharz-Produkt gegen einen oder mehrere Inhaltsstoffe sensibilisiert haben, und auf klinisch-epidemiologischen Daten, z.B. aus Reihenuntersuchungen. Berichte über Sensibilisierungsversuche am Menschen wurden ebenfalls gesucht und referiert; es konnten jedoch nur zwei entsprechende Arbeiten aus den 1960er Jahren gefunden werden. Im ersten Fall (Kligman 1966) wurde zahlreiche potentielle Allergene im Human-Maximierungstest überprüft, darunter auch Epoxidharz (vermutlich auf Basis von Bisphenol A Diglycidylether), Diethylentriamin und Butylglycidylether. Dieser Test entspricht jedoch in mehreren Punkten nicht heutigen wissenschaftlichen Standards und darf daher nicht überbewertet werden. Im zweiten Fall handelte es sich um einen Bericht über eine akzidentelle, iatrogen induzierte Sensibilisierung gegen Phenylglycidylether (Fregert und Rorsman 1964).

Aufgrund der ausgewerteten Literatur wurde versucht, die Bedeutung der Substanzen als Allergene in Epoxidharz-Systemen quantitativ abzuschätzen. Hierzu wurden drei Kategorien gebildet:

H = häufiges (und daher bedeutendes) Allergen bei Ekzempatienten mit Exposition gegenüber Epoxidharz-Systemen.

S = seltenes (und daher weniger bedeutendes) Allergen bei Ekzempatienten mit Exposition gegenüber Epoxidharz-Systemen.

U = Häufigkeit und Bedeutung als Allergen unbekannt; die Substanz wurde am Menschen zu wenig oder gar nicht allergologisch untersucht, so dass man keine aussagekräftige diesbzgl. Abschätzung vornehmen konnte.

Es wurden Daten zu den 59 Substanzen gesucht, die in der vom Projektbegleitkreis vorgegebenen Liste enthalten waren.

- 13 Substanzen wurden als häufige Allergene („H“) in Epoxidharz-Systemen angesehen.
- 6 Substanzen wurden als seltene Allergene („S“) in Epoxidharz-Systemen angesehen.
- Für 40 Substanzen war eine quantitative Abschätzung nicht möglich („U“).

Zu den einzelnen Gruppen:

*H = häufige Allergene bei Ekzempatienten mit Exposition gegenüber Epoxidharz-Systemen.*

Dies sind die Oligomere der Bisphenol A-Harze und der Bisphenol F-Harze (6 Substanzen der Liste), Isophorondiamin, m-Xylidendiamin, 1,4-Butandiol-diglycidylether, 1,6-Hexandiol-diglycidylether, Phenylglycidylether und Kresylglycidylether (in der Liste als o-Kresylglycidylether und als Isomerengemisch aufgeführt).

*S = seltene Allergen bei Ekzempatienten mit Exposition gegenüber Epoxidharz-Systemen.*

Dies sind Ethylendiamin, Diethylentriamin, Triethylentetramin, tert-Butylphenol, Bisphenol A und Butylglycidylether.

*U = Häufigkeit und Bedeutung als Allergen unbekannt.*

Dies ist mit 40 Substanzen die größte Gruppe. An dieser Stelle sollen nicht alle Substanzen aufgelistet werden; einige allergologisch bedeutsame Aspekte sollen jedoch dargestellt werden.

Sensibilisierungen gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan wurden mehrfach beschrieben. Dabei kann es sich um originäre Sensibilisierungen gegen diese Verbindung handeln. Es können aber auch immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen andere in Para-Stellung disubstituierte aromatische Amine, insbesondere p-Phenylendiamin oder p-Aminoazobenzol, vorliegen. Außerdem kann eine Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan durch den Kontakt mit Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat erworben sein. Da Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat bei Kontakt mit Wasser oder Feuchtigkeit, wie es auf der Haut gegeben ist, zu 4,4'-Diaminodiphenylmethan reagiert, ist bei Exposition gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat immer auch eine Exposition gegenüber 4,4'-Diaminodiphenylmethan gegeben, die zu einer entsprechenden Sensibilisierung führen kann.

Sensibilisierungen gegen N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan wurden im Zusammenhang mit Epoxidharz-Systemen nicht beschrieben. Es spricht einiges dafür, dass N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan, das als Verunreinigung in Cocamidopropylbetain enthalten war, das verantwortliche Allergen bei vielen Fällen von allergischem Kontaktekzem durch Cocamidopropylbetain war.

Säureanhydride wie Phthalsäureanhydrid oder dessen Derivate Tetrahydrophthalsäureanhydrid, Hexahydrophthalsäureanhydrid, Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid und Methylhexahydrophthalsäureanhydrid werden als Härter in heißhärtenden Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Sie finden vorwiegend im Bau von Transformatoren, elektrischen Geräten usw. Verwendung. Phthalsäureanhydrid und dessen Derivate sind als Auslöser von beruflich

bedingten allergischen Atemwegserkrankungen bekannt; auch Fälle von Kontakturtikaria mit nachgewiesener Typ I-Sensibilisierung wurden mehrfach beobachtet.

#### *Allergene in den Harzen.*

Die häufigsten und wichtigsten Allergene in Epoxidharz-Systemen sind Oligomere eines Epoxidharzes auf Basis von Bisphenol A Diglycidylether (DGEBA). Auch die Oligomere eines Epoxidharzes auf Basis von Bisphenol F Diglycidylether (DGEBF) sind wichtige Allergene, wobei immunologische Kreuzreaktionen mit dem DGEBA-Harz nachgewiesen wurden.

Ein Ausgangsstoff für die Herstellung von DGEBA-Harzen ist Bisphenol A. In Reihentestungen erwies sich Bisphenol A zwar als seltenes Allergen. In Einzelfällen wurde aber eine klinische relevante Kontaktallergie gegen Bisphenol A nachgewiesen, wobei nicht nur Epoxidharze im Stadium der Produktion oder der Verarbeitung die Allergenquelle darstellten. Auch andere Expositionen, z.B. das Tragen von PVC-Handschuhen, in denen Bisphenol A als Antioxidans enthalten war, wurden als Sensibilisierungsquellen genannt. Offenbar gibt es auch immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen Diethylstilbestrol oder chemisch verwandte Stoffe, die zu einer Kontaktallergie gegen Bisphenol A führen können.

#### *Allergene in den Härtern.*

Unter den Härtern für kalthärtende Epoxidharz-Systeme sind m-Xylidendiamin und Isophorondiamin die häufigsten und wichtigsten Allergene.

Ethylendiamin ist als Allergen mit sensibilisierenden Eigenschaften sowohl an der Haut als auch an den Atemwegen bekannt. Ethylendiamin wird nicht nur in Epoxidharz-Systemen, sondern auch als Hilfsstoff in Schmierstoffen und Medikamenten verwendet, wo entsprechende Sensibilisierungen erworben werden können.

Sensibilisierungen gegen Diethylentriamin werden bei exponierten Patienten selten beobachtet, wahrscheinlich weil die Substanz aktuell eher nur gering bis mäßig in Epoxidharz-Systemen verbreitet ist.

Allergische Reaktionen auf Triethylentetramin wurden bei Patienten, die wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie getestet wurden, mit unterschiedlicher Häufigkeit beobachtet. Während Berichte mit hohen Reaktionsquoten auf zum Teil recht hohe Testkonzentrationen aus Polen aus den 1970er Jahren stammen, zeigen aktuellere Reihenuntersuchungen aus anderen Teilen Europas und aus den USA deutlich geringere Reaktionsquoten.

Kreuzallergien zwischen Ethylendiamin, Diethylentriamin und/oder Triethylentetramin werden aufgrund gleichzeitig auftretender Reaktionen im Epikutantest diskutiert, können aber anhand der vorliegenden Unterlagen nicht als gesichert angesehen werden.

*Allergene in den Reaktivverdünnern.*

Unter den Reaktivverdünnern sind 1,6-Hexandioldiglycidylether und 1,4-Butandiol-diglycidylether die häufigsten Allergene, mit einer hohen Quote konkordanter Reaktionen, die wahrscheinlich durch immunologische Kreuzreaktionen bedingt sind.

Trotz aktuell nur noch geringer Verbreitung in Epoxidharz-Systemen werden Sensibilisierungen gegen Phenylglycidylether relativ häufig beobachtet. Dies hat seinen Grund sehr wahrscheinlich in immunologischen Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA.

Auch allergische Reaktionen auf Kresylglycidylether in Epoxidharz-Systemen sind häufig beschrieben worden, meist gemeinsam mit Reaktionen auf Phenylglycidylether. Wegen der engen strukturellen Verwandtschaft zwischen Phenylglycidylether und Kresylglycidylether ist anzunehmen, dass immunologische Kreuzreaktionen vorkommen. Meist wurde das Isomergemisch des Kresylglycidylethers getestet, und nicht der reine o-Kresylglycidylether.

Die relativ geringe Häufigkeit allergischer Reaktionen auf Butylglycidylether bei Patienten mit Verdacht auf Epoxidharz-Allergie deutet auf ein geringes sensibilisierendes Potential hin; sie könnte allerdings auch auf die relativ geringe Verbreitung von Butylglycidylether in Epoxidharz-Systemen zurückzuführen sein. Analysen zu Kreuzreaktionen mit anderen Glycidylethern stehen noch aus.

Die Bewertung der gefundenen Daten und damit die Vergleichbarkeit der einzelnen Komponenten von Epoxidharz-Systemen wird durch folgende Faktoren erschwert:

1. Die Zahl bzw. Quote der sensibilisierten Patienten müsste in Beziehung zur Zahl der Exponierten gesetzt werden. Hierzu liegen aber keine Daten vor. Es fehlt also gewissermaßen der Nenner des Quotienten. Hilfsweise wurde hier die Zahl der bei dem Gefahrstoff-Informationssystem der BG BAU registrierten Sicherheitsdatenblätter herangezogen, in dem der jeweilige Stoff genannt ist. Auf diese Weise ist zumindest in gewisser Weise eine orientierende quantitative Abschätzung der Verbreitung möglich.

2. Nur ein Teil der allergologisch relevanten Komponenten von Epoxidharz-Systemen ist als Testzubereitung für den Epikutantest kommerziell erhältlich. Dies führt zu einer Verzerrung der diagnostizierten und publizierten Sensibilisierungshäufigkeiten.
  - 2.1. Kommerziell erhältliche Testzubereitungen werden häufiger epikutan getestet, zum Teil auch ohne dass der betroffene Patient konkret exponiert war. Positive Testreaktionen werden dann als allergisch registriert, ohne dass die klinische Relevanz geklärt wird oder werden kann.
  - 2.2. Nicht als Testzubereitung kommerziell erhältliche Allergene werden sehr oft trotz entsprechender Indikation nicht getestet, so dass Sensibilisierungen gegen diese Stoffe zu selten diagnostiziert und dementsprechend auch zu selten berichtet werden („underreporting“).

Daher ist auf der Basis der hier betrachteten Publikationen nur eine sehr grobe und zurückhaltend zu beurteilende Einteilung in häufige und seltene Allergene möglich. Zumindest die Extreme sollten aber in die allergologische Gesamtbeurteilung eines Stoffes einfließen.

## 5. Literatur

Aalto-Korte K, Alanko K, Henriks-Eckerman M-L, Estlander T, Jolanki R. Allergic contact dermatitis from bisphenol A in PVC gloves. *Contact Dermatitis* 2003; 49: 202-205

Albert MR, Chang Y, Gonzalez E. Concomitant positive reactions to allergens in a patch testing standard series from 1988-1997. *Am J Contact Dermat* 1999; 10: 219-223

Allen H, Kaidbey K. Persistent photosensitivity following occupational exposure to epoxy resin. *Arch Dermatol* 1979; 115: 1307-1310

Andersen KE, Christensen LP, Volund A, Johansen JD, Paulsen E. Association between positive patch tests to epoxy resin and fragrance mix I ingredients. *Contact Dermatitis* 2009; 60: 155-157

Angelini G, Foti C, Rigano L, Vena GA. 3-Dimethylaminopropylamine: a key substance in contact allergy to cocamidopropylbetaine? *Contact Dermatitis* 1995; 32: 96-99

Angelini G, Rigano L, Foti C, Grandolfo M, Vena GA, Bonamonte D, Soleo L, Scorpiniti AA. Occupational sensitization to epoxy resin and reactive diluents in marble workers. *Contact Dermatitis* 1996; 35: 11-16

Anonymus. Ethylendiamin. In: Greim H (Hrsg.): *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten*. VCH Wiley Verlagsgesellschaft, Weinheim, 2003

Balato N, Cusano F, Lembo G, Ayala F. Ethylenediamine contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1984; 11: 112-114

Balato N, Cusano F, Lembo G, Ayala F. Ethylenediamine dermatitis. *Contact Dermatitis* 1986; 15: 263-265

Belloni Fortina A, Piaserico S, Larese F, Recchia GP, Corradin MT, Gennaro F, Carrabba E, Peserico A. Diaminodiphenylmethane (DDM): frequency of sensitization, clinical relevance and concomitant positive reactions. *Contact Dermatitis* 2001; 44: 283-288

Björkner B, Dahlquist I, Fregert S, Magnusson B. Contact allergy to Epoxide 8, an epoxy reactive diluent. *Contact Dermatitis* 1980; 6: 156-157

Brasch J, Uter W, Geier J, Schnuch A. Associated positive patch test reactions to standard contact allergens. *American Journal of Contact Dermatitis* 2001; 12: 197-202

Brooke R, Beck MH. Contact allergy to 2,4,6-tris(dimethylaminomethyl)phenol. *Contact Dermatitis* 1998; 38: 284-285

Camarasa JG, Serra-Baldrich E. Isophoronediamine (IPD) dermatitis in Spain. *Contact Dermatitis* 1989; 20: 382-383

Canelas MM, Goncalo M, Figueiredo A. Contact allergy to epoxy resins - a 10-year study *Contact Dermatitis* 2010; 62: 55

Cheng S, Cao M, Zhang Y, Peng S, Dong J, Zhang D, Jiang Z. Time trend of contact allergy to a modified European baseline series in Beijing between 2001 and 2006. *Contact Dermatitis* 2011; 65: 22-27

Chierigato C, Vencenzi C, Guerra L, Farina P. Occupational allergic contact dermatitis due to ethylenediamine dihydrochloride and cresyl glycidyl ether in epoxy resin system. *Contact Dermatitis* 1994; 30: 120

Chu C-Y, Pontén A, Sun C-C, Jee S-H. Concomitant contact allergy to the resins, reactive diluents and hardener of a bisphenol A/F-based epoxy resin in subway construction workers. *Contact Dermatitis* 2006; 54: 131-139

Condé-Salazar L, Gonzalez de Domingo MA, Guimaraens D. Sensitization to epoxy resin system in special flooring workers. *Contact Dermatitis* 1994; 31: 157-160

Condé-Salazar L, Gorospe M, Guimaraens D. A new source of sensitivity to epoxy resin. *Contact Dermatitis* 1993; 28: 292

Corazza M, Mantovani L, Trimurti S, Virgili A. Occupational contact sensitization to ethylenediamine in a nurse. *Contact Dermatitis* 1994; 31: 328-329



Dahlquist I, Fregert S. Contact allergy to the epoxy hardener isophoronediamine (IPD). *Contact Dermatitis* 1979a; 5: 120-121

Dahlquist I, Fregert S. Contact allergy to Cardura ® E, an epoxy reactive diluent of the ester type. *Contact Dermatitis* 1979b; 5: 121-122

Dickel H, Künzlberger B, Becker D, Geier J, John SM, Lessmann H, Mahler V, Zagrodnik F, Skudlik C, Wagner E, Weisshaar E, Diepgen TL für die Arbeitsgruppe "Bewertung der Allergene bei BK 5101" der Arbeitsgemeinschaft für Berufs- und Umweltdermatologie in der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. Begründung für die Beurteilung der Auswirkung einer Allergie gegenüber Methyltribromoglutaronitril und Phenoxyethanol (MDBGN und PE) im Rahmen der MdE-Bewertung. *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2009; 57: 107-112

Estlander T, Jolanki R, Henriks-Eckerman M-L, Kanerva L. Occupational contact allergy to bisphenol A. *Contact Dermatitis* 1999; 40: 52-53

Foti C, Bonamonte D, Antelmi A, Nettis E, Cassano N, Vena GA, Angelini G. Airborne allergy to isophoronediamine and epoxy resin. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 2010; 32: 528-529

Foti C, Bonamonte D, Mascolo G, Corcelli A, Lobasso S, Rigano L, Angelini G. The role of 3-dimethylaminopropylamine and amidoamine in contact allergy to cocamidopropylbetaine. *Contact Dermatitis* 2003; 48: 194-198

Fowler JF, Fowler LM, Hunter JE. Allergy to cocamidopropyl betaine may be due to amidoamine: a patch test and product use test study. *Contact Dermatitis* 1997; 37: 276-281

Freeman K, Warin AP. Contact dermatitis due to Bisphenol A in semi-synthetic waxes. *Contact Dermatitis* 1984; 11: 259-260

Fregert S, Persson K, Trulsson L. Hidden sources of unhardened epoxy resin of bisphenol A type. *Contact Dermatitis* 1980; 6: 446-447

Fregert S, Rorsman H. Hypersensitivity to diethylstilbestrol. *Acta Derm Venereol* 1960; 40: 206-219

Fregert S, Rorsman H. Hypersensitivity to epoxy resins with reference to the role played by bisphenol A. *Journal of Investigative Dermatology* 1962; 39: 471-472

Fregert S, Rorsman H. Allergens in Epoxy Resins. *Acta Allergol* 1964; 19: 296-269

Fregert S, Thorgeirsson A. Patch testing with low molecular oligomers of epoxy resins in humans. *Contact Dermatitis* 1977; 3: 301-303

Frick M, Björkner B, Hamnerius N, Zimerson E. Allergic contact dermatitis from dicyclohexylmethane-4,4'-diisocyanate. *Contact Dermatitis* 2003a; 48: 305-309

Frick M, Isaksson M, Björkner B, Hindsén M, Pontén A, Bruze M. Occupational allergic contact dermatitis in a company manufacturing boards coated with isocyanate lacquer. *Contact Dermatitis* 2003b; 48: 255-260

Frick-Engfeldt M, Isaksson M, Zimerson E, Bruze M. How to optimize patch testing with diphenylmethane diisocyanate. *Contact Dermatitis* 2007; 57: 138-151

Geier J. Kontaktallergie gegen Epoxidharze aus der Perspektive des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) und der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG). *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft* 2010; 70: 7-9

Geier J. Auswertung von Daten des IVDK, unveröffentlicht, 28.11.2011

Geier J, Lessmann H, Hillen U, Jappe U, Dickel H, Koch P, Frosch PJ, Schnuch A, Uter W. An attempt to improve diagnostics of contact allergy due to epoxy resin systems. First results of the multicentre study EPOX 2002. *Contact Dermatitis* 2004; 51: 263-272

Geier J, Lessmann H, Reinecke S. Occupational airborne allergic contact dermatitis in a concrete repair worker. *Contact Dermatitis* 2009; 60: 50-51

Geier J, Schnuch A. A comparison of contact allergies among construction and non-construction workers attending contact dermatitis clinics in Germany: Results of the Information Network of Departments of Dermatology from November 1989 to July 1993. *American Journal of Contact Dermatitis* 1995; 6: 86-94

Geier J, Uter W, Krautheim A, Lessmann H, Schnuch A. Die häufigsten Kontaktallergene der Jahre 2007 - 2009. Aktuelle Daten aus dem Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK). *Allergo Journal* 2011a; 20: 93-101

Geier J, Uter W, Lessmann H, Hillen U, Goergens U, Kersting K, Fuchs Th, Schnuch A. Kontaktallergien gegen Epoxidharze - ein unterdiagnostiziertes Problem. *Allergo Journal* 2003; 12: 323-328

Geier J, Uter W, Lessmann H, Schnuch A. Forschungsvorhaben "Frühzeitige Erkennung allergener Stoffe bei beruflicher und nicht-beruflicher Exposition" (FaSt). Abschlussbericht des IVDK, Göttingen, 2002. <http://www.dguv.de/ifa/de/pro/pro1/pr9114/pr9114.pdf> (letzter Zugriff: 08.09.2011)

Geier J, Uter W, Lessmann H, Schnuch A. Aktuelle Kontaktallergene. *Hautarzt* 2011b; 62: 751-756

Géraut C, Tripodi D. 'Airborne' contact dermatitis due to Leica immersion oil. *International Journal of Dermatology* 1999; 38: 676-679

Göring H-D. Allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharze und Härter in einem Betrieb für faserverstärkte Kunststoffe. *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2001; 49: 19

Goldmann P. Betriebsbedingte Hauterkrankungen in der chemischen Industrie. *Z Haut Geschlechtskr* 1963; 35: 14-30

de Groot A, van der Walle HB, Weyland W. Contact allergy to cocamidopropylbetaine. *Contact Dermatitis* 1995; 33: 419-422

Grimalt R, Vilaplana J, Romaguera C. Three cases of allergic contact dermatitis to 4,4'-diaminodiphenylmethane. *Contact Dermatitis* 2009; 60: 346-347

Guerra L, Vincenzi C, Bardazzi F, Tosti A. Contact sensitization due to isophoronediamine. *Contact Dermatitis* 1992; 27: 52-53

Hackett JP. Allergic contact dermatitis in American aircraft manufacture. *American Journal of Contact Dermatitis* 1999; 10: 157-166

Hannu T, Estlander T, Jolanki R. Allergic contact dermatitis due to MDI and MDA from accidental occupational exposure. *Contact Dermatitis* 2005; 52: 108-109

Haustein U-F, Ziegler V. Sklerodermie und Sklerodermie-ähnliche Erkrankungen durch Umweltsubstanzen. *Dermatosen in Beruf und Umwelt* 1986; 34: 61-67

van Hecke E. Ethylenediamine sensitivity from exposure to epoxy resin hardeners and Mycolog Cream. *Contact Dermatitis* 1975; 1: 344-348

Helaskoski E, Kuuliala O, Aalto-Korte K. Occupational contact urticaria caused by cyclic acid anhydrides. *Contact Dermatitis* 2009; 60: 214-221

Hillen U, Jappe U, Frosch PJ, Becker D, Brasch J, Lilie M, Fuchs T, Kreft B, Pirker C, Geier J. Late reactions to the patch-test preparations para-phenylenediamine and epoxy resin: a prospective multicentre investigation of the German Contact Dermatitis Research Group. *British Journal of Dermatology* 2006; 154: 665-670

Hillen U, Lessmann H, Grabbe S, Geier J. Kontaktsensibilisierungen gegen Bestandteile von Klebstoffen unter Berücksichtigung beruflicher Kontaktsensibilisierungen. *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2007; 55: 10-19

Holness DL. Outbreak of allergic contact dermatitis caused by epoxy resin in a gluing and swaging operation. *American Journal of Contact Dermatitis* 1992; 3: 150-154

Holness DL, Nethercott JR. The performance of specialized collections of bisphenol A epoxy resin system components in the evaluation of workers in an occupational health clinic population. *Contact Dermatitis* 1993; 28: 216-219

Holness DL, Nethercott JR. Results of patch testing with a specialized collection of plastic and glue allergens. *American Journal of Contact Dermatitis* 1997; 8: 121-124

Irvine C, Pugh CE, Hansen E, Rycroft RJG. Cement dermatitis in underground workers during construction of the Channel Tunnel. *Occupational Medicine (Oxford)* 1994; 44: 17-23

Isaksson M, Gruvberger B (2003) Patch test sensitization to methylchloroisothiazolinone + methylisothiazolinone and 4,4' diaminodiphenylmethane. *Contact Dermatitis* 48: 53-54

Jolanki R. Occupational skin diseases from epoxy compounds. *Acta Derm Venereol* 1991; Suppl 159: 1-80

Jolanki R, Estlander T, Kanerva L. Contact allergy to an epoxy reactive diluent: 1,4-butanediol diglycidyl ether. *Contact Dermatitis* 1987a; 16: 87-92

Jolanki R, Estlander T, Kanerva L. Occupational contact dermatitis and contact urticaria caused by epoxy resins. *Acta Derm Venereol* 1987b; Suppl 134: 90-94

Jolanki R, Estlander T, Kanerva L. 182 patients with occupational allergic epoxy contact dermatitis over 22 years. *Contact Dermatitis* 2001; 44: 121-123

Jolanki R, Kanerva L, Estlander T. Occupational allergic contact dermatitis caused by epoxy diacrylate in ultraviolet-light-cured paint, and bisphenol A in dental composite resin. *Contact Dermatitis* 1995; 33: 94-99

Jolanki R, Kanerva L, Estlander T. Epoxy Resins. In: Kanerva L, Elsner P, Wahlberg JE, Maibach HI, editors. *Handbook of Occupational Dermatology*. Chapter 73, p. 570-590. Berlin: Springer; 2000

Jolanki R, Kanerva L, Estlander T, Tarvainen K, Keskinen H, Henriks-Eckerman M-L. Occupational dermatoses from epoxy resin compounds. *Contact Dermatitis* 1990; 23: 172-183

Jolanki R, Sysilampi M-L, Kanerva L, Estlander T. Contact allergy to cycloaliphatic epoxy resins. In: Frosch PJ, Dooms-Goossens A, Lachapelle J-M, Rycroft RJG, Scheper RJ (editors): *Current Topics in Contact Dermatitis*. Springer-Verlag, Berlin, 1989: 360-367

Jolanki R, Tarvainen K, Tatar T, Estlander T, Henriks-Eckerman ML, Mustakallio KK, Kanerva L. Occupational dermatoses from exposure to epoxy resin compounds in a ski factory. *Contact Dermatitis* 1996; 34: 390-396

van Joost T. Occupational sensitization to epichlorohydrin and epoxy resin. *Contact Dermatitis* 1988; 19: 278-280

van Joost T, Roesyanto ID, Satyawan I. Occupational sensitization to epichlorohydrin (ECH) and bisphenol-A during the manufacture of epoxy resin. *Contact Dermatitis* 1990; 22: 125-126

Kanerva L, Estlander T, Jolanki R. Occupational allergic contact dermatitis due to diethylenetriamine (DETA) from carbonless copy paper and from an epoxy compound. *Contact Dermatitis* 1990; 23: 272-273

Kanerva L, Estlander T, Jolanki R. Occupational allergic contact dermatitis caused by 2,4,6-Tris-(dimethylaminomethyl)phenol, and review of sensitizing epoxy resin hardeners. *International Journal of Dermatology* 1996; 35: 852-856

Kanerva L, Estlander T, Jolanki R, Henriks-Eckerman ML. Occupational allergic contact dermatitis caused by diethylenetriamine in carbonless copy paper. *Contact Dermatitis* 1993; 29: 147-151

Kanerva L, Hyry H, Jolanki R, Hytönen M, Estlander T. Delayed and immediate allergy caused by methylhexahydrophthalic anhydride. *Contact Dermatitis* 1997a; 36: 34-38

Kanerva L, Jolanki R, Alanko K, Estlander T. Patch-test reactions to plastic and glue allergens. *Acta Derm Venereol* 1999; 79: 296-300

Kanerva L, Jolanki R, Estlander T. Allergic contact dermatitis from epoxy resin hardeners. *Am J Contact Dermatitis* 1991; 2: 89-97

Kanerva L, Jolanki R, Estlander T. Allergic and irritant patch test reactions to plastic and glue allergens. *Contact Dermatitis* 1997b; 37: 301-302

Kanerva L, Jolanki R, Estlander T. Occupational epoxy dermatitis with patch test reactions to multiple hardeners including tetraethylenepentamine. *Contact Dermatitis* 1998; 38: 299-301

Kanerva L, Jolanki R, Estlander T, Alanko K. Latent (subclinical) contact dermatitis evolving into occupational allergic contact dermatitis from extremely small amounts of epoxy resins. *Contact Dermatitis* 2000; 43: 47-49.

Kanerva L, Tarvainen K, Pinola A, Leino T, Granlund H, Estlander T, Jolanki R, Förström L. A single accidental exposure may result in a chemical burn, primary sensitization and allergic contact sensitization. *Contact Dermatitis* 1994; 31: 229-235

Kelterer D, Bauer A, Elsner P. Spill-induced sensitization to isophoronediamine (IPD) *Contact Dermatitis* 2000; 43: 110

Kersting K, GISBAU, persönliche Mitteilung 2011

Kirkup ME, Murphy J, Beck MH, Sansom JE. Occupational contact sensitization to 1,2-diaminocyclohexane. *Contact Dermatitis* 2001; 45: 121-122

Kligman AM. The Identification of contact allergens by human assay. III. The maximization test: a procedure for screening and rating contact sensitizers. *J Invest Dermatol* 1966; 47: 393-409

Krajewska D, Rudzki E. Sensitivity to epoxy resins and triethylenetetramine. *Contact Dermatitis* 1976; 2: 135-138

Lachapelle JM, Tennstedt D, Dumont-Fruytier M. Occupational allergic contact dermatitis to isophorone diamine (IPD) used as an epoxy resin hardener. *Contact Dermatitis* 1978; 4: 109-112

Laskowski J, Heise H. Kasuistik über gehäufte Hauterscheinungen in einem Betrieb zum Windflügelbau. *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2000; 48: 151

Lazarov A. European Standard Series patch test results from a contact dermatitis clinic in Israel during the 7-year period from 1998 to 2004. *Contact Dermatitis* 2006; 55: 73-76

Le Coz CJ, Coninx D, van Rengen A, El Aboubi S, Ducombs G, Benz M-H, Boursier S, Avenel-Audran M, Verret J-L, Erikstam U, Bruze M, Goossens A. An epidemic of occupational contact dermatitis from an immersion oil for microscopy in laboratory personnel. *Contact Dermatitis* 1999; 40: 77-83

Lea WA, Block WB, Cornish HH. The irritating and sensitizing capacity of epoxy resins. *Archives of Dermatology* 1958; 78: 304-308

Lembo G, Balato N, Cusano F, Baldo A, Ayala F. Contact dermatitis to epoxy resins in composite material. In: Frosch PJ, Dooms-Goossens A, Lachapelle J-M, Rycroft RJG, Scheper RJ (editors): *Current Topics in Contact Dermatitis*. Springer-Verlag, Berlin, 1989: 377-380

Lodi A, Mancini LL, Pozzi M, Chiarelli G, Crosti C. Occupational airborne allergic contact dermatitis in parquet layers. *Contact Dermatitis* 1993; 29: 281-282

Lovell CR, Rycroft RJG, Matood J. Isolated Cardura E10 sensitivity in an epoxy resin chemical process. *Contact Dermatitis* 1984; 11: 190-191

Matthieu L, Godoi AFL, Lambert J, van Grieken R. Occupational allergic contact dermatitis from bisphenol A in vinyl gloves. *Contact Dermatitis* 2003; 49: 281-283

McFadden JP, Ross JS, White IR, Basketter DA. Clinical allergy to cocamidopropyl betaine: reactivity to cocamidopropylamine and lack of reactivity to 3-dimethylaminopropylamine. *Contact Dermatitis* 2001; 45: 72-74

Meding B. Allergic contact dermatitis from diethylenetriamine in a goldsmith workshop. *Contact Dermatitis* 1982; 8; 142

Niinimäki A, Hassi J. An outbreak of epoxy dermatitis in insulation workers at an electric power station. *Dermatosen in Beruf und Umwelt* 1983; 31: 23-25

Patussi V, Kokelj F, Buttazzi P. Occupational airborne allergic contact dermatitis due to 3-amino-methyl-3,5,5-trimethylcyclo-hexylamine. *Contact Dermatitis* 1995; 32: 239

Pigatto PD, Bigardi AS, Cusano F. Contact dermatitis to cocamidopropyl-betaine is caused by residual amines: relevance, clinical characteristics and review of the literature. *American Journal of Contact Dermatitis* 1995; 6: 13-16

Pontén A, Björk J, Carstensen O, Gruvberger B, Isaksson M, Rasmussen K, Bruze M. Associations between contact allergy to epoxy resin and fragrance mix. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 2004a; 84: 151-152



Pontén A, Bruze M. Contact allergy to epoxy resin based on diglycidyl ether of bisphenol F. *Contact Dermatitis* 2001; 44: 98-99

Pontén A, Carstensen O, Rasmussen K, Gruvberger B, Isaksson M, Bruze M. Epoxy-based production of wind turbine rotor blades: occupational contact allergies. *Dermatitis* 2004b; 15: 33-40

Pontén A, Carstensen O, Rasmussen K, Gruvberger B, Isaksson M, Bruze M. Epoxy-based production of wind turbine rotor blades: occupational dermatoses. *Contact Dermatitis* 2004c; 50: 329-338

Pontén A, Zimerson E, Bruze M. Sensitizing capacity and cross-reactivity of phenyl glycidyl ether. *Contact Dermatitis* 2004d; 50: 166

Pontén A, Zimerson E, Bruze M. Contact allergy to the isomers of diglycidyl ether of bisphenol F. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 2004e; 84: 12-17

Pontén A, Zimerson E, Bruze M. Can simultaneous contact allergies to phenyl glycidyl ether and epoxy resins of the bisphenol A/F-types be explained by contamination of the epoxy resins? *Contact Dermatitis* 2008; 59: 273-279

Pontén A, Zimerson E, Sörensen Ö, Bruze M. Sensitizing capacity and cross-reaction pattern of the isomers of diglycidyl ether of bisphenol F in the guinea pig. *Contact Dermatitis* 2002; 47: 293-298

Pontén A, Zimerson E, Sörensen Ö, Bruze M. Chemical analysis of monomers in epoxy resins based on bisphenol F and A. *Contact Dermatitis* 2004f; 50: 289-297

Pratt MD, Belsito DV, DeLeo VA, Fowler JF et al. North American Contact Dermatitis Group patch-test results, 2001-2002 study period. *Dermatitis* 2004; 15: 176-183

Prens EP, de Jong G, van Joost T. Sensitization to epichlorohydrin and epoxy system components. *Contact Dermatitis* 1986; 15: 85-90

van Putten PB, Coenraads PJ, Nater JP. Hand dermatoses and contact allergic reactions in construction workers exposed to epoxy resins. *Contact Dermatitis* 1984; 10: 146-150

Rademaker M. Occupational epoxy resin allergic contact dermatitis. *Australasian Journal of Dermatology* 2000; 41: 222-224

Rasmussen K, Carstensen O, Pontén A, Gruvberger B, Isaksson M, Bruze M. Risk of contact allergy and dermatitis at a wind turbine plant using epoxy resin-based plastics. *Int Arch Occup Environ Health* 2005; 78: 211-217

Rast H. Berufliche Hautkrankheiten bei Bauarbeitern in der Schweiz: Ursachen, Bedeutung und Prävention. *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2001; 49: 20-21

Reed J, Shaw S. Occupational allergic contact dermatitis in water-pipe renovators from diethylenetriamine in an epoxy resin system. *Contact Dermatitis* 1999; 41: 297

Richter G, Kadner H. Allergische Kontaktekzeme durch m-Xylylen-diamin in der Polyurethaneidenproduktion. *Dermatosen in Beruf und Umwelt* 1990; 38: 117-120

Romaguera C, Grimalt F, Vilaplana J. Occupational dermatitis from epoxy resin. *Contact Dermatitis* 1986; 14: 187

Rømhyr O, Nyfors A, Leira HL, Smedbold HT. Allergic contact dermatitis caused by epoxy resin systems in industrial painters. *Contact Dermatitis* 2006; 55: 167-172

Rothe A. Zur Frage arbeitsbedingter Hautschädigungen durch Polyurethanchemikalien. *Berufsdermatosen* 1976; 24: 7-24

Rudzki E. Dermatitis from triethylenetetramine in Poland. *Contact Dermatitis* 1980; 6: 235-236

Rudzki E, Krajewska D. Cross-reactions between ethylenediamine, diethylenetriamine and triethylenetetramine. *Contact Dermatitis* 1976; 2: 311-313

Rudzki E, Krajewska D. Contact sensitivity to phenylglycidyl ether. *Dermatosen* 1979; 27: 42-44

Rudzki E, Rebandel P, Grzywa Z, Jakiminska B. Dermatitis from phenyl glycidyl ether. *Contact Dermatitis* 1983; 9: 90-91

Rudzki E, Rebandel P, Zawadzka A. Sensitivity to diaminodiphenylmethane. *Contact Dermatitis* 1995; 32: 303

Sakata S, Cahill J, Barton D, Nixon R. Occupational allergic contact dermatitis to bisphenol F epoxy resin. *Australasian Journal of Dermatology* 2005; 46: 90-92

Sasseville D, Al-Khenaizan S. Occupational contact dermatitis from ethylenediamine in a wire drawing lubricant. *Contact Dermatitis* 1997; 36: 228-229

Sasseville D, Moreau L, Brassard J, Leclerc G. Allergic contact dermatitis to epoxy resin in microscopy immersion oil: cases from Canada. *American Journal of Contact Dermatitis* 2000; 11: 99-103

Schnuch A, Brasch J, Uter W. Polysensitization and increased susceptibility in contact allergy: a review. *Allergy* 2008a; 63: 156-167

Schnuch A, Geier J, Uter W, Frosch PJ. Another look at allergies to fragrances: frequencies of sensitisation to the fragrance mix and its constituents. Results from the IVDK. *Exogenous Dermatology* 2002a; 1: 231-237

Schnuch A, Lessmann H, Geier J, Uter W. Is cocamidopropyl betaine a contact allergen? Analysis of network data and short review of the literature. *Contact Dermatitis* 2011; 64: 203-211

Schnuch A, Uter W, Geier J, Gefeller O for the IVDK study group. Epidemiology of contact allergy: an estimation of morbidity employing the clinical epidemiology and drug-utilization research (CE-DUR) approach. *Contact Dermatitis* 2002b; 47: 32-39

Schnuch A, Uter W, Lessmann H, Arnold R, Geier J. Klinische Epidemiologie der Kontaktallergien. Das Register und das Überwachungssystem des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK). *Allergo Journal* 2008b; 17: 611-624

Shmidt E, Farmer SA, Davis MDP. Patch-testing with plastics and glues series allergens *Dermatitis* 2010; 21: 269-274

Schröder C, Uter W, Schwanitz HJ. Occupational allergic contact dermatitis, partly airborne, due to isocyanates and epoxy resin. *Contact Dermatitis* 1999; 41: 117-118

Silvestre JF, Albares MP, Escutia B, Vergara G, Pascual JC, Botella R. Contact vitiligo appearing after allergic contact dermatitis from aromatic reactive diluents in an epoxy resin system. *Contact Dermatitis* 2003; 49: 113-114

Sommer S, Wilkinson SM. Occupational contact dermatitis due to the epoxy hardener m-xylylenediamine. *Contact Dermatitis* 2001; 44: 374

Srinivas CR, Devadiga R, Arboor AR. Footwear dermatitis due to Bisphenol A. *Contact Dermatitis* 1989; 20: 150-151

Suhonen R. Epoxy-dermatitis in a ski-stick factory. *Contact Dermatitis* 1983; 9: 131-133

Suuronen K, Aalto-Korte K, Piipari R, Tuomi T, Jolanki R. Occupational dermatitis and allergic respiratory diseases in Finnish metalworking machinists. *Occup Med (Lond)* 2007; 57: 277-283

Tarvainen K. Analysis of patients with allergic patch test reactions to a plastics and glues series. *Contact Dermatitis* 1995; 32: 346-351

Tarvainen K, Jolanki R, Estlander T, Tupasela O, Pfäffli P, Kanerva L. Immunologic contact urticaria due to airborne methylhexahydrophthalic and methyltetrahydrophthalic anhydride. *Contact Dermatitis* 1995; 32: 204-209

Tarvainen K, Jolanki R, Henriks-Eckerman ML, Estlander T. Occupational allergic contact dermatitis from isophoronediamine (IPDA) in operative-clothing manufacture. *Contact Dermatitis* 1998; 39: 46-47

The ESSCA Writing Group. The European Surveillance System of Contact Allergies (ESSCA): results of patch testing the standard series, 2004. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 2008; 22: 174-181

Thorgeirsson A, Fregert S. Allergenicity of epoxy resins in the guinea pig. *Acta Dermatovenereologica* 1977; 57: 253-256

Thorgeirsson A, Fregert S, Ramnäs O. Sensitization capacity of epoxy resin oligomers in the guinea pig. *Acta Dermato-venereologica* 1978; 58: 17-21

Tosti A, Guerra L, Toni F. Occupational airborne contact dermatitis due to epoxy resin. *Contact Dermatitis* 1988; 19: 220-222

Uter W, Gefeller O, Geier J, Lessmann H, Pfahlberg A, Schnuch A. Untersuchungen zur Abhängigkeit der Sensibilisierung gegen wichtige Allergene von arbeitsbedingten sowie individuellen Faktoren. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Fb 949. Bremerhaven: Wissenschaftsverlag NW, 2002a

Uter W, Lessmann H, Geier J, Becker D, Fuchs Th, Richter G. The spectrum of allergic (cross-)sensitivity in clinical patch testing with 'para amino' compounds. *Allergy* 2002b; 57: 319-322

Uter W, Schnuch A, Geier J, Frosch PJ. Epidemiology of contact dermatitis. The Information Network of Departments of Dermatology (IVDK) in Germany *European Journal of Dermatology* 1998; 8: 36-40

Whitfield MJ, Rivers JK. Erythema multiforme after contact dermatitis in response to an epoxy sealant. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 386-388

Yamakage A, Ishikawa H, Saito Y, Hattori A. Occupational scleroderma-like disorder occurring in an engaged in the polymerization of epoxy resins. *Dermatologica* 1980; 161: 33-44

Zug KA, Warshaw EM, Fowler JF jr., Maibach HI, Belsito DL, Pratt MD, Sasseville D, Storrs FJ, Taylor JS, Mathias CGT, DeLeo VA, Rietschel RL. Patch-test results of the North American Contact Dermatitis Group 2005-2006. *Dermatitis* 2009; 20: 149-160

Forschungsvorhaben

**„Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen  
aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke“**

gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung

Kennziffer FP-0324

Abschlussbericht zum

Teilprojekt 5.4.2

des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK)

**„Prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten im IVDK“**

**EPOX 2011**

Prof. Dr. med. Johannes Geier  
Dr. rer. nat. Holger Lessmann  
Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK)  
Institut an der Universität Göttingen  
von-Siebold-Str. 3  
37075 Göttingen  
Tel. 0551 398984  
e-mail: [jgeier@gwdg.de](mailto:jgeier@gwdg.de)  
<http://www.ivdk.org>



## Inhaltsverzeichnis

	Seite
0. Kurzfassung des Abschlussberichts in deutscher und englischer Sprache.....	E 3
1. Titel und Laufzeit des Vorhabens.....	E 5
2. Problemstellung.....	E 6
3. Forschungszweck / Forschungsziel.....	E 8
4. Methodik.....	E 9
5. Ergebnisse.....	E 10
6. Auflistung der für das Vorhaben relevanten Ergebnisse.....	E 21
7. Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels.....	E 22
8. Literatur.....	E 24
9. Anhang: Studienprotokoll, Dokumentationsbogen, Testprotokoll .....	E 26

Abschlussbericht zum Teilprojekt 5.4.2 des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK)  
**„Prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten im IVDK“**  
im Rahmen des Forschungsvorhabens  
**„Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke“**  
gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung,  
Kennziffer FP-0324

### **Kurzfassung**

Das Forschungsvorhaben FP 324 hat zum Ziel, Inhaltsstoffe von Epoxidharz-Systemen nach ihrer jeweiligen sensibilisierenden Wirkstärke zu differenzieren. Primär werden dazu wissenschaftliche Veröffentlichungen zur Sensibilisierung auf der Basis von Tierversuchen, in vitro-Untersuchungen oder in silico-Methoden ausgewertet. Diese Daten werden ergänzt um Daten zu Sensibilisierungshäufigkeiten des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK), der sich mit drei Teilprojekten am Forschungsvorhaben FP 324 beteiligt.

Eins dieser Teilprojekte (Teilprojekt 5.4.2) ist eine prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten (EPOX 2011). Da besondere Expositionsbedingungen das Sensibilisierungsrisiko erhöhen können, werden im Rahmen dieser Studie die Anamnese und die Expositionsbedingungen (Lokalisation der Hautveränderungen, Diagnose, Tätigkeit, Hautschutz, Dauer der Exposition) bei Patienten mit Verdacht auf Epoxidharzallergie detailliert und standardisiert erfasst. Außerdem wird eine standardisierte Epikutantestung mit einem festgelegten Panel von Epoxidharz-Bestandteilen durchgeführt. Zusätzlich werden auch solche potentiell allergenen Komponenten des individuell verwendeten Epoxidharzproduktes epikutan getestet, die nicht kommerziell als Testsubstanz angeboten werden.

Laut Studienplan sollten 150 bis 200 Patienten in die Studie (geplante Laufzeit der Datenerfassung: 01.10.2011 – 30.09.2012) aufgenommen werden. Da bis April 2012 nur 26 Patienten in die Studie eingegangen waren und sich abzeichnete, dass die geplante Patientenzahl nicht erreicht werden würde, wurde die Studie am 24.04.2012 abgebrochen.

Die Studie umfasst 26 Patienten mit Verdacht auf Epoxidharzallergie (20 Männer, 6 Frauen; Alter 22 – 62 Jahre). Sieben Patienten waren im Baugewerbe tätig, 4 in der Kunststoffproduktion oder -verarbeitung, jeweils 3 waren KFZ-Mechaniker und Korrosionsschützer; der Rest war in anderen Berufen tätig. Die Dauer der individuellen Epoxidharzexposition reichte von 2 Monaten bis 33 Jahren; Hautveränderungen entstanden in einem Zeitraum von 1 Woche bis 31 Jahren nach Beginn der Exposition. Besonders risikobehaftete Expositionen konnten nicht festgestellt werden.

Die Hälfte der Patienten zeigte im Epikutantest mindestens eine positive Reaktion auf einen Bestandteil von Epoxidharzsystemen. Dabei war das Epoxidharz auf Basis von Bisphenol A-diglycidylether (DGEBA) mit 12 positiven Reaktionen das häufigste Allergen. Bei 8 dieser 12 Patienten lag auch eine Sensibilisierung gegen ein Harz auf Basis von Bisphenol F-diglycidylether (DGEBF) vor. Auf die getesteten Reaktivverdünner ergaben sich zahlreiche Reaktionen, am häufigsten auf 1,6-Hexandioldiglycidylether und 1,4-Butandioldiglycidylether (jeweils 8 Sensibilisierte) mit einem hohen Maß an konkordanten Reaktionen. Unter den Härtern war m-Xylendiamin mit 6 positiven Reaktionen das häufigste Allergen. Insgesamt entsprach die relative Häufigkeit der festgestellten Sensibilisierungen bereits bekannten Mustern.

Die 3 Epikutantestungen mit Epoxidharzprodukten vom Arbeitsplatz des betroffenen Patienten erbrachten keinen Erkenntnisgewinn. Im Gegensatz dazu konnte durch die Epikutantestung mit einzelnen Inhaltsstoffen in 2 von 3 Fällen ein zusätzliches Epoxidharzallergen nachgewiesen werden. Die weiteren erfassten klinischen Daten ergeben in Hinblick auf spezielle Sensibilisierungsrisiken oder auf zu ergreifende Präventionsmaßnahmen keine neuen Erkenntnisse.



Final report about the subproject 5.4.2  
of the Information Network of Departments of Dermatology (IVDK)  
**"Prospective study on epoxy resin exposed patients in the IVDK"**  
as part of the research project  
**“Ranking of epoxy resin components according to their sensitizing capacity”**  
funded by the German Social Accident Insurance, project no. FP-0324

**Abstract**

The aim of the research project FP 324 is to differentiate components of epoxy resin systems according to their sensitizing potency. For this purpose, primarily scientific publications about sensitization based on animal experiments, in vitro-studies or in silico- methods are evaluated. These data are supplemented with data on sensitization frequencies from the Information Network of Departments of Dermatology (IVDK) which is involved in the research project FP 324 with three subprojects.

One of these subprojects (subproject 5.4.2) is a prospective study on patients exposed to epoxy resin systems (EPOX 2011). In patients with suspected epoxy resin contact allergy, medical history and conditions of exposure (clinical signs and symptoms, diagnosis, activities, skin protection, duration of exposure) are documented in detail in a standardized way, because particular exposure conditions may increase the risk of sensitization. Additionally, a standardized patch test with a defined panel of epoxy resin components is performed. Furthermore, additional potentially allergenic components of the individually used epoxy resin products, which are not commercially available as a patch test preparation, are patch tested.

According to the study plan, 150 to 200 patients should be included in the study (runtime of data collection 01.10.2011 -30.09.2012). As only 26 patients had entered the study by April 2012, and it loomed that the planned number of patients would not be reached, the study was aborted on 24.04.2012.

The prospective study included 26 patients with suspected epoxy resin allergy (20 males, 6 females; age 22 – 62 years). Seven patients worked in the construction industry, 4 in the production or processing of plastics, 3 patients were automobile mechanics, and 3 worked in the corrosion protection. The remainder had other professions. The duration of the individual epoxy resin exposure ranged from 2 months to 33 years. Skin complaints developed within 1 week to 31 years after the beginning of the epoxy resin exposure. No exposures with a particular high risk of sensitization could be found.

Half of the patients had at least one positive patch test reaction to at least one epoxy resin component. With 12 patients concerned, the resin based on diglycidylether of bisphenol A (DGEBA) was the most frequent allergen. In 8 of these 12 patients, an additional sensitization to a resin based on diglycidylether of bisphenol F (DGEBF) could be found. Numerous positive reactions were seen to the reactive diluents, with 1,6-hexanediol diglycidylether and 1,4-butanediol diglycidylether (8 sensitized patients each) being the most prominent allergens, with a high proportion of concordant reactions. Among the hardeners, m-xylene diamine was the most frequent allergen, eliciting 6 positive reactions. Altogether, relative frequency of sensitizations to epoxy resin components correlated with known patterns.

Patch testing with epoxy resin products from the patient's workplace, which was performed in 3 patients, was of no use. By contrast, patch testing with ingredients of the epoxy resin products used by the patients revealed additional allergens in 2 out of 3 cases.

Further clinical data which were collected were not helpful in identifying particular risks of sensitization or preventive measures to be taken.

## **1. Titel und Laufzeit des Vorhabens.**

Das Forschungsvorhaben „Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke“ (Kennziffer FP 324) hat eine Laufzeit vom 01.03.2011 bis zum 31.12.2012. Das Teilprojekt 5.4.2 „Prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten im IVDK“ (EPOX 2011), auf das sich dieser Abschlussbericht bezieht, hatte ursprünglich dieselbe Laufzeit.

Wie unter Punkt 3 ausgeführt (siehe unten), war geplant, 150 bis 200 Patienten in die Studie aufzunehmen, um aussagekräftige Ergebnisse im Sinne des Forschungsziels zu erreichen. Nach den vorbereitenden Arbeiten wurde die Datenerfassung im Rahmen des Teilprojektes 5.4.2 am 01.10.2011 gestartet. Bis zum 16.04.2012 gingen leider nur 26 Patienten in die Untersuchung ein. Da abzusehen war, dass die angestrebte Mindestfallzahl bis zum Projektende nicht zu erreichen sein würde, wurde bei der Sitzung des Begleitkreises zum Forschungsvorhaben FP 324 am 23.04.2012 beschlossen, das Teilprojekt 5.4.2 mit sofortiger Wirkung vorzeitig zu beenden. Dies wurde am folgenden Tag von der Abteilung Forschungsförderung der DGUV bestätigt; die tatsächliche Laufzeit des Teilprojektes 5.4.2 endete also am 24.04.2012.

### Geplanter Zeitablauf

- Entwicklung des Datenerfassungsbogens unter Beteiligung des Projektbegleitkreises möglichst bald nach der ersten Sitzung des Begleitkreises am 02.09.2011.
- Rekrutierung von Patienten nach Fertigstellung des Erfassungsbogens, möglichst ab Oktober 2011.
- Untersuchung der Patienten und Datenerfassung von Oktober 2011 bis 30.09.2012.
- Auswertung der Ergebnisse und Abfassung des Abschlussberichtes zum Teilprojekt bis zum Ende des Gesamt-Projektes FP 324 am 31.12.2012.

### Tatsächlicher Zeitablauf

- Entwicklung des Datenerfassungsbogens; Versand an die Mitglieder des IVDK am 31.08.2012.
- Verbesserung des Fragebogens unter Beteiligung des Projektbegleitkreises; Versand der überarbeiteten Version des Fragebogens am 26.09.2012 an die Mitglieder des IVDK; dabei auch Versand der Kurzfassung des Studienprotokolls zur Erinnerung und Motivation für die Studienteilnahme.
- Rekrutierung von Patienten ab Oktober 2011.
- Vorzeitiges Ende der Studie EPOX 2011 am 24.04.2012.
- Auswertung der Ergebnisse und Abfassung des Abschlussberichtes zum Teilprojekt bis Ende August 2012.

## **2. Problemstellung.**

Das Forschungsvorhaben FP-0324 hat zum Ziel, Inhaltsstoffe von Epoxidharz-Systemen nach ihrer jeweiligen sensibilisierenden Wirkstärke zu differenzieren und, soweit möglich, zu klassifizieren. Primär werden dazu wissenschaftliche Veröffentlichungen zur Sensibilisierung auf der Basis von Tierversuchen, in vitro-Untersuchungen oder in silico-Methoden (Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen) ausgewertet.

Diese Daten werden ergänzt um Daten zu Sensibilisierungshäufigkeiten und Häufigkeiten kombinierter Reaktionen auf Basis von Erkenntnissen des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK). Der IVDK betreibt im Bereich der Kontaktallergien die größte Faktendatenbank der Welt. An dem Verbund sind derzeit 56 dermatologische Abteilungen in Deutschland, der Schweiz und Österreich beteiligt. Jährlich werden die Daten von weiteren etwa 11.000 epikutan getesteten Patienten dokumentiert. Der Gesamtbestand umfasst derzeit die Daten von ca. 200.000 Patienten [Schnuch et al. 2008, Schnuch et al. 2012]. Zum toxikologischen Ranking von Epoxidharzbestandteilen trägt der IVDK im vorliegenden Projekt dadurch bei, dass er Sensibilisierungshäufigkeiten und Häufigkeiten kombinierter Reaktionen ermittelt und in Beziehung zu Anwendungsfrequenzen bzw. der Verbreitung auf dem Markt und bestimmten Expositionen setzt. In diesem Zusammenhang sind drei Teilprojekte durch den IVDK vorgesehen. Das erste Teilprojekt (5.4.1) ist eine Expertise zu Bestandteilen von Epoxidharzsystemen auf der Basis einer vertieften Datenanalyse (IVDK-Daten). Das zweite Teilprojekt (5.4.2) ist die prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten im IVDK, auf die sich dieser Abschlussbericht bezieht. Das dritte Teilprojekt (5.4.3) ist eine Literaturstudie zu Humanbefunden zu Epoxidharz-inhaltsstoffen (Allergiehäufigkeiten, Testungen, Einzelfallberichte).

### *Prospektive Studie an Epoxidharz-exponierten Patienten im IVDK – EPOX 2011*

Die oben beschriebene retrospektive Datenauswertung erfasst zwar ein umfangreiches Allergenspektrum, hat aber den Nachteil, dass nur die routinemäßig in der IVDK-Dokumentation erfassten Angaben zur Krankheitsvorgeschichte für die Datenanalyse zur Verfügung stehen. Es fehlen z.B. konkrete Angaben zur individuellen beruflichen Exposition, also den Bedingungen, unter denen Umgang mit Epoxidharzsystemen besteht, und zu den verwendeten Produkten.

Außerdem zeigen bisherige retrospektive Datenauswertungen und Fallberichte, dass der Umfang der Epikutantestung oft zu knapp ist, so dass nicht alle relevanten Allergene erfasst werden. Darüber hinaus unterbleibt oft eine individuelle Diagnostik, die sich an der tatsächlichen Arbeitsplatzexposition orientiert, weil die notwendigen Informationen und die

einzelnen Inhaltsstoffe schwer zu beschaffen sind. Bei weitem nicht alle potentiell allergenen Bestandteile von Epoxidharzsystemen sind als Testzubereitungen für den Epikutantest kommerziell erhältlich. Sensibilisierungen gegen diese Bestandteile von Epoxidharzsystemen können daher nur durch individuelle Diagnostik, also die Epikutantestung mit den einzelnen Bestandteilen der vom betroffenen Patienten verwendeten Epoxidharzprodukte festgestellt werden [Geier 2012].

Im Rahmen einer prospektiven Studie werden daher bei entsprechend exponierten Patienten mit Verdacht auf Epoxidharzallergie die Anamnese und die Expositionsbedingungen (Lokalisation der Hautveränderungen, Diagnose, Tätigkeit, Hautschutz, Dauer der Exposition) detailliert und standardisiert erfasst. Außerdem wird eine standardisierte Epikutantestung mit einem größeren Panel von Epoxidharz-Bestandteilen durchgeführt, als dies im Rahmen der DKG-Testreihen gegeben ist. Dabei werden nur solche Testsubstanzen berücksichtigt, die kommerziell als Testallergene erhältlich sind; es handelt sich also nicht um eine Arzneimittelstudie im Sinne des Arzneimittelgesetzes. Außerdem werden auch solche potentiell allergenen Komponenten des verwendeten Epoxidharzproduktes epikutan getestet, die nicht kommerziell als Testsubstanz angeboten werden. Durch diese Studie ist es möglich, die festgestellten Sensibilisierungen im Detail der beruflichen Exposition zuzuordnen, so dass eine Relation zwischen Exposition und Sensibilisierungshäufigkeit bei Erkrankten ermittelt werden kann. Außerdem würden durch die individuelle Diagnostik auch solche Epoxidharzkomponenten einbezogen, die bisher bei Reihenuntersuchungen nicht ausreichend berücksichtigt werden konnten. Um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen, sollten 150 bis 200 Patienten in die Studie aufgenommen werden.

### **3. Forschungszweck / Forschungsziel.**

Allgemeine Ziele dieser prospektiven Studie sind die Verbesserung der Diagnostik der Epoxidharzallergie, das Erkennen von spezifischen Sensibilisierungsrisiken sowie Bereitstellung von Informationen für die Prävention.

Im Detail verfolgt die Studie folgende Ziele:

1. Erkennen von Risikoberufen und -expositionen für die Epoxidharzallergie.
2. Beurteilung der Treffsicherheit eines Panels von Epoxidharzallegenen (für die Epikutantestung zugelassene Arzneimittel).
3. Individuelle Allergiediagnostik unter standardisierten Bedingungen; Optimierung der Testempfehlungen für die Epikutantestung mit weiteren Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen.

Diese prospektive Studie ermöglicht es, die im Einzelfall festgestellten Sensibilisierungen im Detail der beruflichen Exposition zuzuordnen, so dass eine Relation zwischen Exposition und Sensibilisierungshäufigkeit bei Erkrankten ermittelt werden kann. Außerdem werden durch die individuelle Diagnostik auch solche Epoxidharzkomponenten einbezogen, die bisher bei Reihenuntersuchungen nicht ausreichend berücksichtigt werden konnten.

Um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen, sollten 150 bis 200 Patienten in die Studie aufgenommen werden.

Die so gewonnen Informationen fließen wiederum in die Risikobewertung einzelner Komponenten von Epoxidharzsystemen im Sinne des gesamten Forschungsvorhabens ein.

Eine Kurzfassung des Studienprotokolls befindet sich im Anhang (siehe Anhang 1).

#### **4. Methodik.**

Bei entsprechend exponierten Patienten mit Verdacht auf Epoxidharzallergie werden die Anamnese und die Expositionsbedingungen (Lokalisation der Hautveränderungen, Diagnose, Tätigkeit, Hautschutz, Dauer der Exposition, klinische Erscheinungen) detailliert und standardisiert erfasst. Für die Erfassung der Exposition gegenüber Epoxidharzprodukten wurde ein Dokumentationsbogen entwickelt, der sowohl auf den Erkenntnissen einer früheren Studie der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG) zur Epoxidharzallergie (EPOX 2002) [Geier et al. 2004] als auch auf dem Erfassungsbogen des bereits erwähnten Forschungsvorhabens "Stoffsubstitution als Präventionsansatz beruflich bedingter Hauterkrankungen Netzwerk „Kontaktallergien durch Berufsstoffe“ (KAB-Netzwerk)" [Geier und Krautheim 2010, Geier 2012] beruhte (siehe Anhang 2). Dieser Erfassungsbogen wurde im Projektbegleitkreis vorgestellt, diskutiert und modifiziert.

Außerdem wird eine standardisierte Epikutantestung mit einem größeren Panel von Epoxidharz-Bestandteilen durchgeführt, als dies im Rahmen der DKG-Testreihen gegeben ist. (Hierbei werden jedoch nur solche Testsubstanzen berücksichtigt, die kommerziell als Testallergene erhältlich sind; es handelt sich also nicht um eine Arzneimittelstudie im Sinne des Arzneimittelgesetzes.) Dazu wurde eine Testreihe mit 16 potentiell allergenen Bestandteilen von Epoxidharzsystemen zusammengestellt (siehe Anhang 3).

Zusätzlich sollen ggf. weitere Komponenten des verwendeten Epoxidharzproduktes epikutan getestet werden, und zwar gemäß Empfehlungen des IVDK, die sich zum großen Teil auf die Erkenntnisse aus dem Forschungsvorhaben "Stoffsubstitution als Präventionsansatz beruflich bedingter Hauterkrankungen Netzwerk „Kontaktallergien durch Berufsstoffe“ (KAB-Netzwerk)", gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, Kennziffer FP 272 [Geier und Krautheim 2010, Geier 2012], stützen.

Weitere Details zur Methodik entnehme man der Kurzfassung des Studienprotokolls im Anhang (siehe Anhang 1).

## 5. Ergebnisse.

### Anamnestische Angaben

Bis zum Abbruch des Projektes am 24.04.2012 wurden die Daten von 26 Patienten erfasst. Es handelte sich um 20 Männer und 6 Frauen im Alter von 22 bis 62 Jahren (Mittelwert 41,2 Jahre, Standardabweichung 11,8 Jahre; Median 44 Jahre; 25%-Quartile 31 Jahre; 75%-Quartile 49 Jahre). Die am IVDK beteiligten dermatologischen Abteilungen, aus denen die Patienten gemeldet wurden, sind in Tabelle 5.1 aufgelistet.

Tabelle 5.1: beteiligte IVDK-Zentren.

<b>Klinik</b>	<b>Anzahl Patienten</b>
Universitätshautklinik Homburg/ Saar	9
Berufsgenossenschaftliches Unfallkrankenhaus Hamburg (BUKH), Abteilung Dermatologie	4
Universität Osnabrück, Abteilung Dermatologie	4
Universitäts-Hautklinik Dresden	3
Universitäts-Hautklinik Göttingen	3
Universitäts-Hautklinik Mainz	2
Universitäts-Hautklinik Bochum	1
<b>Summe</b>	<b>26</b>

Die Berufe bzw. Beschäftigungszweige der betroffenen Patienten sind in Tabelle 5.2 dargestellt.

Tabelle 5.2: Berufe der betroffenen Patienten.

<b>Beruf / Branche</b>	<b>Anzahl Patienten</b>
Baugewerbe	7
Kunststoff-Produktion, -Verarbeitung	4
KFZ-Mechaniker	3
Korrosionsschützer	3
Lackierer	2
Zahnarzthelferin/ Zahntechnikerin	2
andere Berufe	5
<b>Summe</b>	<b>26</b>

In Tabelle 5.3 sind die beruflich verwendeten Epoxidharzprodukte der erfassten Patienten aufgelistet. Außerdem ist hier aufgeführt, ob bei dem betreffenden Patienten eine Sensibilisierung gegen einen Bestandteil eines Epoxidharzsystems nachgewiesen werden konnte.

Tabelle 5.3: beruflich verwendete Epoxidharzprodukte.

Lfd. Nr.	Klinik	Beruf	Exposition / Epoxidharzprodukte	Epoxidharz positiv?*
1	BUKH	Natursteinverleger	AkepoX-Kleber	Nein
2	BUKH	Laminierer (Flugzeugbau)	Produkte unbekannt	Ja
3	Osnabrück	Formgeber-Helfer (Kunststoff-Produktion)	Produkte unbekannt	Ja
4	Homburg / Saar	Zahnarzthelferin	Unklar. (Testung wegen positiver Reaktion auf Epoxidharz in 1990ern.)	Nein
5	Homburg / Saar	Chemiewerker (Klebstoff-Herstellung)	Produkte unbekannt	Nein
6	Bochum	Lackierer	Diverse Rostschutz-Farben	Nein
7	Dresden	Chemiewerkerin (Produktion von „Prepregs“)	HexPly M34	Ja
8	Dresden	Fußbodenleger	Diverse Barit Produkte	Ja
9	BUKH	Elektroinstallateur	Kleber Loctite Hysol 3430	Nein
10	Mainz	Autolackierer	diverse Epoxidharzsysteme	Ja
11	Homburg / Saar	Platinenlöterin	2K-Kleber Delo-Duopox 1895	Nein
12	Homburg / Saar	Kfz-Mechaniker	Teroson Produkte	Nein
13	Homburg / Saar	Arbeiterin Elektro-Spulen-Produktion	diverse Loctite-Produkte	Nein
14	Homburg / Saar	Zahntechnikerin	Produkte unbekannt; laut Patientin bestand Epoxidharz-Exposition	Nein
15	Göttingen	Korrosionsschützer / Metallbauer	SikaCor SW 500	Ja
16	Göttingen	Korrosionsschützer / Metallbauer	SikaCor SW 500	Nein
17	Göttingen	Korrosionsschützer / Metallbauer	SikaCor SW 500	Ja
18	Osnabrück	Betonfacharbeiter	Reckli Epoxi BT	Ja
19	Osnabrück	Glasfaserkabel-Produktion	Resintech RT 153 F, RT 156	Ja
20	Dresden	Fußbodenleger	Sikafloor 159, 161, 264	Ja
21	Mainz	Betonsanierer, Fußbodenbeschichter	Sikafloor 156/280, 261 StoPox GH 205, BB OS	Ja
22	Homburg / Saar	Lagerist	Produkte unbekannt	Nein
23	Homburg / Saar	Mechatroniker	Produkte unbekannt	Nein
24	BUKH	Estrichleger	Thomsit R 755, StoPox GH 205	Ja
25	Homburg / Saar	KFZ-Mechaniker	Produkte unbekannt	Nein
26	Osnabrück	Fliesenleger	Kagesol EP-B950 L, Plastikol Multipox BE, KG Flex	Ja

\* Allergische Reaktion im Epikutantest auf mindestens eine Substanz aus der Epoxidharz-Testreihe und/oder mindestens ein verwendetes Epoxidharzprodukt und/oder mindestens einen Bestandteil eines verwendeten Epoxidharzproduktes.



In den weiteren folgenden Tabellen sind die Angaben zur Dauer und Frequenz der Epoxidharzexposition, zum Hautschutz, zu den Hautveränderungen und zu den Diagnosen zusammengestellt. Dabei werden die Angaben der 13 Patienten mit allergischen Reaktionen auf Bestandteile von Epoxidharzsystemen getrennt von den Angaben der 13 Patienten ohne entsprechende allergische Reaktionen aufgeführt.

Tabelle 5.4: Zeit und Frequenz der Epoxidharzexposition

	<b>Anzahl Pat. mit Epoxidharz-Sensibilisierung*</b>	<b>Anzahl Pat. ohne Epoxidharz-Sensibilisierung*</b>
Epoxidharzexposition:		
aktuell	8	5
früher	1	4
Angabe fehlt	4	4
Frequenz der Exposition:		
täglich	10	9
ca. 1 x / Woche	2	1
ca. 1 x / Monat	1	1
nur selten (< 1 x / Monat)	0	0
Angabe fehlt	0	2

\* Patienten mit bzw. ohne allergische Reaktion im Epikutantest auf mindestens eine Substanz aus der Epoxidharz-Testreihe und/oder mindestens ein verwendetes Epoxidharzprodukt und/oder mindestens einen Bestandteil eines verwendeten Epoxidharzproduktes.

Unter den Patienten mit Sensibilisierung gegen mindestens einen Bestandteil von Epoxidharzsystemen waren mehr Patienten mit aktueller und weniger Patienten mit früherer Epoxidharzexposition. Hier zeigt sich, dass die anamnestischen Angaben bei zurückliegender Exposition nicht so exakt sind wie bei aktueller Exposition, weshalb in den Fällen mit zurückliegender Exposition seltener eine entsprechende Kontaktallergie nachgewiesen werden konnte. Im Hinblick auf die weiteren in dieser Tabelle aufgeführten Punkte sind keine wesentlichen Unterschiede zwischen beiden Gruppen erkennbar.

Tabelle 5.6: Dauer der Epoxidharzexposition insgesamt und bis zum ersten Auftreten von Hautveränderungen

	<b>Pat. mit Epoxidharz-Sensibilisierung*</b>	<b>Pat. ohne Epoxidharz-Sensibilisierung*</b>
Dauer der Exposition:	2 Monate – 33 Jahre Mittelwert 7,8 Jahre Median 4,25 Jahre 1 fehlende Angabe	2 Monate – 26 Jahre Mittelwert 7,7 Jahre Median 5,0 Jahre 2 fehlende Angaben
Erste Hautveränderungen nach:	1 Woche – 31 Jahre Mittelwert 4,9 Jahre Median 2,0 Jahre 0 fehlende Angaben	1 Woche – 20 Jahre Mittelwert 5,1 Jahre Median 4,0 Jahre 4 fehlende Angaben

\* Patienten mit bzw. ohne allergische Reaktion im Epikutantest auf mindestens eine Substanz aus der Epoxidharz-Testreihe und/oder mindestens ein verwendetes Epoxidharzprodukt und/oder mindestens einen Bestandteil eines verwendeten Epoxidharzproduktes.

Im Hinblick auf die Gesamtdauer der Epoxidharzexposition und die Expositionsdauer vor dem ersten Auftreten von Hautveränderungen sind keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Patienten mit und ohne Sensibilisierung erkennbar.

Tabelle 5.5: Hautschutz beim Umgang mit Epoxidharzprodukten

	Anzahl Pat. mit Epoxidharz-Sensibilisierung*	Anzahl Pat. ohne Epoxidharz-Sensibilisierung*
Bedeckte Areale**:		
Hände	11	5
Unterarme	7	3
Oberarme	9	9
Hals	0	1
Gesicht	0	0
Angabe fehlt	0	0
verwendete Handschuhe**:		
keine	1	2
Leder	0	1
Baumwolle	2	0
Leder/Textil	0	4
Latex	3	0
Gummi	4	0
Vinyl	0	2
Butyl	1	0
Nitril	4	2
nitrilgetränkte Baumwolle	3	0
mit PU beschichtete Polyamid-Strickhandschuhe	1	0
Angabe fehlt	0	3

\* Patienten mit bzw. ohne allergische Reaktion im Epikutantest auf mindestens eine Substanz aus der Epoxidharz-Testreihe und/oder mindestens ein verwendetes Epoxidharzprodukt und/oder mindestens einen Bestandteil eines verwendeten Epoxidharzproduktes.

\*\* Mehrfachnennungen möglich.

Die Angaben bzgl. der bedeckten Hautpartien und der Handschuhe, wie sie in Tabelle 5.5 wiedergegeben sind, erscheinen bei mehreren Patienten nicht kongruent bzw. plausibel. Zudem ist meist nicht klar erkennbar, ob die Angaben – wie vorgesehen – die Situation beschreiben, wie sie *vor* dem Auftreten von Hautveränderungen bestand oder nicht, bzw. welche Änderungen nach dem Auftreten von Hautveränderungen vorgenommen wurden. Leider konnten die meisten dieser Unklarheiten nicht beseitigt werden.

Tabelle 5.7: Hautveränderungen und Diagnosen

	Anzahl Pat. mit Epoxidharz-Sensibilisierung*	Anzahl Pat. ohne Epoxidharz-Sensibilisierung*
Auftreten von Hautveränderungen		
...nur bei direktem Hautkontakt mit Epoxidharz-Systemen	9	6
...bereits beim Aufenthalt in Räumen, in denen Epoxidharze verarbeitet werden	4	4
Angabe fehlt	0	3
Lokalisation der Hautveränderungen**:		
Hände	8	9
Unterarme	11	7
Oberarme	5	2
Hals	4	5
Gesicht	7	5
Augenlider	3	4
andere Lokalisationen	6	0
Angabe fehlt	0	0
Diagnosen**:		
<u>allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme im direkten Kontaktbereich</u>	8	0
<u>allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme mit Allergen-Verschleppung</u> , z.B. mit von der Hand oder dem Handschuh in das Gesicht	4	0
<u>aerogenes</u> allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme durch Dämpfe oder Stäube ( <u>nicht</u> Spritzer)	5	0
irritatives Kontaktekzem	2	7
atopisches Dermatitis	2	2
numuläres Ekzem	0	1
Urticaria	0	1
Angabe fehlt	0	2

\* Patienten mit bzw. ohne allergische Reaktion im Epikutantest auf mindestens eine Substanz aus der Epoxidharz-Testreihe und/oder mindestens ein verwendetes Epoxidharzprodukt und/oder mindestens einen Bestandteil eines verwendeten Epoxidharzproduktes.

\*\* Mehrfachnennungen möglich.

Die Angaben bzgl. des Auftretens von Hauterscheinungen bereits beim Aufenthalt in Räumen, in denen Epoxidharze verarbeitet werden, einerseits und der Lokalisation der Hauterscheinungen sowie der Diagnose andererseits erscheinen bei mehreren Patienten nicht kongruent bzw. plausibel. Dasselbe gilt für die Lokalisation der Hautveränderungen einerseits und die Diagnosen andererseits. Leider konnten die meisten dieser Unklarheiten nicht beseitigt werden.

Bemerkenswert ist, dass in einem einzigen Fall von aerogenem allergischem Kontaktekzem dokumentiert wurde, dass dieser Erkrankung ein akutes Ekzem nach akzidentellem direktem Hautkontakt vorgegangen war.

### Testergebnisse

Die Ergebnisse der Epikutantestungen mit der im Rahmen des Teilprojektes vorgesehenen Epoxidharz-Testreihe sind in Tabelle 5.8 zusammengefasst. Die Testreihe wurde bei allen 26 Patienten getestet; bei 2 Patienten wurde jedoch das DGEBF-Harz nicht getestet, bei einem dieser beiden Patienten wurde außerdem Triethylentetramin nicht getestet. Insgesamt zeigten 13 der 26 Patienten eine positive Reaktion auf mindestens ein Allergen der Testreihe (siehe Tabelle 5.3).

Tabelle 5.8: Testergebnisse mit standardisierten Zubereitungen von Epoxidharz-Allergenen.

<b>Substanz</b>	<b>Testkonz.</b>	<b>Positive Reaktionen</b>	<b>Relevanz nachgewiesen*</b>
Epoxidharz (DGEBA)	1 % Vas.	12	10
Epoxidharz (DGEBF)	0,25 % Vas.	8	5
BIS-GMA (Bisphenol A-diglycidylmethacrylat)	2 % Vas.	2	0
m-Xylendiamin (MXDA)	0,1 % Vas.	6	5
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 % Vas.	1	0
Diethylentriamin	1 % Vas.	0	0
Triethylentetramin	0,5 % Vas.	0	0
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch)	0,5 % Vas.	0	0
4,4'-Diaminodiphenylmethan	0,5 % Vas.	5	1**
1,6-Hexandioldiglycidylether	0,25 % Vas.	8	2
1,4-Butandioldiglycidylether	0,25 % Vas.	8	0
Cresylglycidylether	0,25 % Vas.	6	0
Phenylglycidylether	0,25 % Vas.	6	0
Butylglycidylether	0,25 % Vas.	4	0
Trimethylpropan-triglycidylether	0,25 % Vas.	4	0
p-tert-Butylphenylglycidylether	0,25 % Vas.	3	2

\* Positiv getestete Substanz im verwendeten Produkt nachgewiesen.

\*\* Kontakt mit Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat.

In der rechten Spalte sind diejenigen Fälle gezählt, bei denen die positiv getestete Substanz laut den vorliegenden Informationen im verwendeten Produkt enthalten war. Dies bedeutet nicht, dass die übrigen Reaktionen klinisch nicht relevante Sensibilisierungen anzeigen oder gar falsch-positive Reaktionen sind. In etlichen Fällen lagen keine ausreichenden Informationen über die aktuell und früher verwendeten Epoxidharzprodukte vor, so dass eine aktuelle oder frühere klinische Relevanz der festgestellten Sensibilisierung möglich ist, obwohl sie jetzt nicht nachgewiesen werden kann. Dies gilt besonders für solche Patienten, die seit mehreren Jahren mit unterschiedlichen Epoxidharzprodukten arbeiten.

Ein Patient mit Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan war gegenüber einem Polyurethanprodukt exponiert, wobei er Kontakt mit Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat hatte. Aus dem Letzteren entsteht bei Kontakt mit Wasser rasch das korrespondierende Amin, nämlich 4,4'-Diaminodiphenylmethan. Man geht davon aus, dass bei entsprechenden Patienten die Testreaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan eine Sensibilisierung anzeigt, die durch den Kontakt mit Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat erworben wurde [Frick-Engfeldt et al. 2007, Aalto-Korte et al. 2012].

Alle 8 positiven Testreaktionen auf das DGEBF-Harz traten bei Patienten auf, die auch auf das DGEBA-Harz reagierten. Die 6 Patienten mit positiver Reaktion auf Phenylglycidylether (PGE) reagierten durchweg auch allergisch auf das DGEBA-Harz. Die positiven Reaktionen auf Phenylglycidylether (PGE) und Cresylglycidylether (CGE) traten bei denselben 6 Patienten auf. Alle 3 Patienten mit positiver Reaktion auf p-tert-Butylphenylglycidylether zeigten auch auf PGE eine positive Reaktion. Auf 1,6-HDDGE und 1,4-BDDGE kam es bei 7 von jeweils 8 Patienten zu konkordant positiven Reaktionen; nur jeweils 1 Patienten reagierte auf 1,4-BDDGE, aber nicht auf 1,6-HDDGE, und umgekehrt. Die positiven Reaktionen auf Butylglycidylether und Trimethylolpropan-triglycidylether waren durchweg mit positiven Reaktionen auf weitere Glycidylether vergesellschaftet.

Der einzige Patient, der im Epikutantest nicht eindeutig positiv auf DGEBA-Epoxidharz, aber auf andere Bestandteile von Epoxidharzsystemen reagierte, war der Patient mit der Fall-Nr. 15. Es handelte sich um einen 55-jährigen Korrosionsschützer, der auf die im beruflich verwendeten Produkt SikaCor SW 500 enthaltene Mannichbase und auf m-Xylendiamin (MXDA) stark positiv reagierte. Außerdem reagierte er schwach positiv auf 1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE) und 4,4'-Diaminodiphenylmethan. Sowohl MXDA als auch 1,6-HDDGE waren ebenfalls in dem beruflich verwendeten Epoxidharzprodukt enthalten. Auf das DGEBA-Epoxidharz ergab sich nur eine fragliche Reaktion.

Bei 3 Patienten wurden Produkte vom Arbeitsplatz epikutan getestet (Fälle Nr. 3, 10 und 20). In 2 Fällen ergaben sich Reaktionen auf die Harzkomponenten der verwendeten Produkte; beide Patienten waren gegen das in den jeweiligen Produkten enthaltene DGEBA-Harz sensibilisiert und reagierten auch auf die standardisierte Testzubereitung (Epoxidharz (DGEBA) 1% Vas.). In einem der beiden Fälle (Fall Nr. 20) ergab sich darüber hinaus eine positive Reaktion auf die Komponente B des Produktes Sikaflor 159 und das darin enthaltene m-Xylendiamin (MXDA). Im 3. Fall ergaben sich lediglich irritative und fragliche Reaktionen auf einen Spachtel und einen Härter, wobei der Produktname im Testprotokoll nicht aufgeführt war.

Inhaltsstoffe der beruflich verwendeten Produkte, die nicht in der Testreihe enthalten waren, wurden bei nur 3 Patienten getestet, die vom Verfasser diese Berichtes persönlich betreut wurden (Fälle Nr. 15, 16 und 17). Es handelte sich in allen 3 Fällen um Korrosionsschützer, die in ein- und demselben Betrieb arbeiteten. Während ein Patient keinerlei allergische Reaktionen zeigte, reagierten die beiden anderen auf jeweils mehrere verschiedene Inhaltsstoffe, die als standardisierte Testzubereitung zur Verfügung standen, und die in den beruflich verwendeten Produkten enthalten waren, und darüber hinaus auf eine Mannichbase.

### Diskussion der Ergebnisse

Das Berufsspektrum der 26 in die Studie aufgenommenen Patienten entspricht dem, was man aufgrund der bereits vorliegenden Erkenntnisse über die Verbreitung von Epoxidharzsystemen im Berufsleben erwartet hätte [Bangsgaard et al. 2012, Canelas et al. 2010, Geier et al. 2004, Geier 2010, Jolanki 1991, Jolanki et al. 1990, Jolanki et al. 2000, Jolanki et al. 2001]. In etlichen Fällen wurden die Einschlusskriterien und die Indikation zur Testung der Epoxidharzreihe relativ liberal gehandhabt, was das Berufsspektrum der in die Untersuchung eingegangenen Patienten in gewisser Weise verzerrt. Bei den entsprechenden Patienten war eine aktuelle Epoxidharzexposition nicht eindeutig nachgewiesen, geschweige denn, dass konkrete Produkte hätten benannt werden können. Insgesamt dominieren die Bau-Berufe; wegen der geringen Stichprobengröße können daraus jedoch keine weiter reichenden Schlüsse gezogen werden.

Die Dauer der Exposition gegenüber Epoxidharzen bis zum Auftreten erster Hauterscheinungen weist, in Übereinstimmung mit der Literatur [Jolanki et al. 2000], eine enorme Streuung auf, wobei keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Sensibilisierten

und den Nicht-Sensibilisierten erkennbar sind. Dasselbe gilt für die Frequenz der Arbeit mit Epoxidharzsystemen.

Wie bereits erwähnt, sind die Angaben zum Hautschutz beim Umgang mit Epoxidharzprodukten nicht immer eindeutig bzw. plausibel. Da zudem erwartungsgemäß unter den Nicht-Sensibilisierten wesentlich mehr Patienten mit liberaler Indikation zur Testung und unklarer Exposition vertreten sind, wird das Bild noch weiter verzerrt, so dass ein Vergleich zwischen Sensibilisierten und Nicht-Sensibilisierten nicht sinnvoll ist. Beim flüchtigen Blick auf Tabelle 5.5 könnte der Eindruck entstehen, dass das Tragen von Handschuhen das Risiko für eine Epoxidharzallergie erhöht. Dies ist jedoch mit Sicherheit nicht der Fall; die Verzerrung des Bildes ist nicht nur durch die bereits erwähnten Faktoren verursacht, sondern sehr wahrscheinlich auch dadurch, dass in einigen Fällen der Handschuhschutz *nach* dem Auftreten von Hautveränderungen, also nach bereits erfolgter Sensibilisierung beschrieben wurde. Letztlich ergeben diese Daten also keine verwertbare Aussage.

In Bezug auf die Aussage, ob Hautveränderungen nur bei direktem Hautkontakt mit Epoxidharzsystemen auftreten, oder bereits beim Aufenthalt in Räumen, in denen Epoxidharzsysteme verarbeitet werden, gibt es ebenfalls gewisse Unsicherheiten. Im letzteren Fall würde man ein aerogenes Ekzem mit entsprechender Lokalisation der Hautveränderungen erwarten, was jedoch durchaus nicht immer gegeben war. Ähnliches gilt für die Assoziation der Lokalisationen und Diagnosen. Leider konnten die meisten dieser Unklarheiten nicht beseitigt werden, so dass auch in dieser Hinsicht keine verwertbaren Aussagen gemacht werden können.

Die Testergebnisse mit den standardisierten Allergenzubereitungen der Testreihe entsprechen dem, was aufgrund der bisherigen Kenntnisse über die Epoxidharzallergie im beruflichen Kontext bekannt ist [Canelas et al. 2010, Geier et al. 2004, Geier 2010, Jolanki et al. 1990, Jolanki 1991, Jolanki et al. 2000, Jolanki et al. 2001]. Hier ist ebenfalls zu berücksichtigen, dass die Indikation zur Testung in einigen Fällen sehr liberal gehandhabt wurde, was dazu führt, dass die Reaktionsquoten insgesamt niedriger ausgefallen sind als erwartet. Die Relation der Häufigkeit positiver Reaktionen auf die verschiedenen Bestandteile der Epoxidharzsysteme (Harze, Reaktivverdünner, Härter) sowie die Konkordanz positiver Reaktionen auf verschiedene Allergene aus diesem Bereich entsprechen jedoch dem, was man aufgrund der bisherigen Erkenntnisse erwartet hätte:

Das häufigste Allergen war das Epoxidharz auf Basis von DGEBA, oft mit konkordanten Reaktionen auf DGEBF-Harz, bedingt durch immunologische Kreuzreaktionen und Ko-Exposition. Unter den Reaktivverdünnern erwiesen sich 1,6-HDDGE und 1,4-BDDGE als die häufigsten Allergene, wobei auch hier immunologische Kreuzreaktionen für den hohen Anteil

konkordanter Reaktionen verantwortlich sein dürften. Auch bei den aromatischen Glycidylethern PGE, CGE und PTBPGE ergaben sich meist konkordante Reaktionen. Die Reaktionen auf PGE traten ausschließlich bei Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz auf; es ist bekannt, dass bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz auch allergische Reaktionen gegen PGE auftreten, ohne dass zuvor Kontakt mit PGE bestanden hat [Pontén et al. 2004a, Pontén et al. 2004b]. In Bezug auf allergische Reaktionen auf Härter in Epoxidharzsystemen bestätigte sich, dass MXDA das führende Allergen ist. Auf IPDA ergab sich bemerkenswerter Weise nur eine einzige allergische Reaktion, auf andere Aminhärter gar keine. Angesichts der geringen Stichprobengröße kann man aus diesen Daten jedoch nicht herleiten, dass IPDA oder andere Aminhärter keine allergologisches Problem darstellen. Hierzu gibt es etliche Berichte in der Literatur [Camarasa und Serra-Baldrich 1989, Canelas et al. 2010, Geier et al. 2004, Guerra et al. 1992, Jolanki et al. 1990, Jolanki et al. 2000, Jolanki et al. 2001, Kanerva et al. 1991].

Die Testung mit Produkten vom Arbeitsplatz des Patienten wurde nur in 3 Fällen vorgenommen (Fälle Nr. 3, 10 und 20). Letztlich lieferten diese Testungen keine neuen Erkenntnisse, da in den beiden Fällen, in denen die Patienten positive Reaktionen auf die verwendeten Produkte zeigten, auch in der standardisierten Testung positive Reaktionen auf die entsprechenden Inhaltsstoffe der Produkte aufgetreten sind. Insofern erbrachte die Produkttestung keine zusätzliche Information, da das jeweilige Allergen schon aus der Testung mit standardisierten Testzubereitungen bekannt war.

Inhaltsstoffe von beruflich verwendeten Produkten, die nicht als standardisierte Testzubereitung zur Verfügung standen, wurden bei lediglich 3 Patienten epikutan getestet (Fälle Nr. 15, 16 und 17). In 2 dieser Fälle ergab sich eine allergische Reaktion auf eine im Produkt enthaltene Mannichbase. Aus diesen 2 Einzelfällen können keine weiterreichenden Schlüsse dahin gehend gezogen werden, ob diese Mannichbase (die nicht Bestandteil des Epoxidharz-Rankings des Gesamtprojektes FP 324 ist) ein häufigeres allergologisches Problem darstellt oder nicht.



Die – etwas ernüchternden – Ergebnisse dieser Untersuchung lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

Nur 26 Patienten gingen in die prospektive Studie ein. Wegen der geringen Stichprobengröße ist die Aussagekraft der Untersuchung stark eingeschränkt. Das Berufsspektrum der Betroffenen bestätigt die bekannten Risikobereiche. Die Epikutantestung mit den als standardisierte Testzubereitung erhältlichen Allergenen in Epoxidharzsystemen ist diagnostisch wertvoll; die Häufigkeiten, mit denen allergische Reaktionen auf die verschiedenen Komponenten von Epoxidharzsystemen beobachtet wurden, bestätigen bekannte Erkenntnisse. Die Epikutantestung mit Epoxidharzprodukten vom Arbeitsplatz, die in 3 Fällen vorgenommen wurde, erwies sich als nicht zielführend. Durch die Epikutantestung mit Inhaltsstoffen von Epoxidharzprodukten vom Arbeitsplatz, die ebenfalls in 3 Fällen vorgenommen wurde, konnte in 2 Fällen ein zusätzliches Allergen identifiziert werden. Die weiteren erfassten klinischen Daten ergeben in Hinblick auf spezielle Sensibilisierungsrisiken oder auf zu ergreifende Präventionsmaßnahmen keine neuen Erkenntnisse.

## **6. Auflistung der für das Vorhaben relevanten Ergebnisse.**

Bei 26 beruflich gegenüber Epoxidharzprodukten exponierten Ekzem-Patienten wurde eine erweiterte Epikutantestreihe mit Epoxidharz-Inhaltsstoffen überprüft. Dabei ergaben sich allergische Reaktionen auf die verschiedenen Bestandteile in einer Häufigkeit, wie man sie aufgrund der bisherigen Erkenntnisse über Kontaktallergien gegen Epoxidharzsysteme erwartet hätte. Insofern bestätigt diese Untersuchung trotz ihrer eingeschränkten Aussagekraft eine gewisse Rangfolge sensibilisierender Inhaltsstoffe von Epoxidharzprodukten.

Die Testung mit Produkten vom Arbeitsplatz lieferte insofern keine neuen Erkenntnisse, als parallel zu den positiven Reaktionen auf die Produkte jeweils auch positive Reaktionen auf die in diesen Produkten enthaltene und als standardisierte Testsubstanz zur Verfügung stehenden Komponenten beobachtet wurden.

Eine Testung mit Einzelstoffen der beruflich verwendeten Produkte, die nicht als standardisierte Testsubstanz zur Verfügung stehen, wurde nur in 3 Fällen vorgenommen. Dabei kam es in 2 Fällen zu Reaktionen auf eine Mannichbase. Weiterreichende Schlussfolgerungen über die Sensibilisierungspotenz oder Häufigkeit dieser Komponente können aus diesen beiden Einzelfällen nicht gezogen werden.

## **7. Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels.**

Folgende Forschungsziele wurden mit dieser prospektiven Studie verfolgt:

1. Erkennen von Risikoberufen und -expositionen für die Epoxidharzallergie.
2. Beurteilung der Treffsicherheit eines Panels von Epoxidharzallergenen (für die Epikutantestung zugelassene Arzneimittel).
3. Individuelle Allergiediagnostik unter standardisierten Bedingungen; Optimierung der Testempfehlungen.

Vor allem wegen der geringen Stichprobengröße konnten diese Forschungsziele bis zum Abbruch des Projektes nur in begrenztem Umfang erreicht werden.

Zu 1:

Das Spektrum der Berufe der 26 in die Studie eingegangenen Patienten entspricht dem, was man aufgrund der bereits vorliegenden Erkenntnisse über die Verbreitung von Epoxidharzsystemen im Berufsleben erwartet hätte. Spezielle Risikoexpositionen in den einzelnen Berufen konnten nicht festgestellt werden. Besondere Präventionsmaßnahmen lassen sich aus den erhobenen Daten nicht ableiten.

Zu 2:

Die Epikutantestung mit den 16 als standardisierte Testzubereitung erhältlichen Allergenen in Epoxidharzsystemen ist diagnostisch wertvoll. Die Treffsicherheit ist hoch, die klinische Relevanz allergischer Reaktionen konnte in einem hohen Prozentsatz sicher nachgewiesen werden. Die Häufigkeiten, mit denen allergische Reaktionen auf die verschiedenen Komponenten von Epoxidharzsystemen beobachtet wurden, bestätigen bekannte Erkenntnisse.

Zu 3:

Es konnte bestätigt werden, dass die Epikutantestung mit Inhaltsstoffen von Epoxidharzprodukten vom Arbeitsplatz sinnvoll ist. In 2 der 3 Fälle, in denen derartige Testungen vorgenommen wurden, konnte ein zusätzliches Allergen identifiziert werden. Für eine Optimierung der Testempfehlungen war die Studie zu klein.

Dagegen erwies sich die Epikutantestung mit Epoxidharzprodukten vom Arbeitsplatz, die ebenfalls in 3 Fällen vorgenommen wurde, als nicht zielführend, da hiermit keine Allergene identifiziert werden konnten, die nicht auch als standardisierte Testsubstanz verfügbar waren.

Als wesentliches Fazit könnte man festhalten, dass im Falle des Verdachtes auf eine Kontaktallergie gegen Bestandteile eines Epoxidharzsystems unbedingt alle in diesem Bereich verfügbaren Testsubstanzen (also eine erweiterte Epoxidharz-Testreihe) epikutan getestet werden sollten, und dass ggf. weitere potentiell allergene Inhaltsstoffe der individuell kontaktierten Epoxidharzprodukte epikutan getestet werden sollten, um eventuell weitere Sensibilisierungen festzustellen.

## 9. Literatur.

Aalto-Korte K, Suuronen K, Kuuliala O, Henriks-Eckerman M-L. Occupational contact allergy to monomeric isocyanates. *Contact Dermatitis* 2012; 67: 78-88

Bangsgaard N, Thyssen JP, Menné T, Andersen KE et al. Contact allergy to epoxy resin: risk occupations and consequences. *Contact Dermatitis* 2012; 67: 73-77

Camarasa JG, Serra-Baldrich E. Isophoronediamine (IPD) dermatitis in Spain. *Contact Dermatitis* 1989; 20: 382-383

Canelas MM, Goncalo M, Figueiredo A. Contact allergy to epoxy resins - a 10-year study *Contact Dermatitis* 2010; 62: 55

Frick-Engfeldt M, Isaksson M, Zimerson E, Bruze M. How to optimize patch testing with diphenylmethane diisocyanate. *Contact Dermatitis* 2007; 57: 138-151

Geier J. Kontaktallergie gegen Epoxidharze aus der Perspektive des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) und der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG). *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft* 2010; 70: 7-9

Geier J. Aktuelle Kontaktallergene in der Berufsdermatologie – wie erfolgt eine zielführende Diagnose? *Allergologie* 2012; 35: 229-236

Geier J, Krautheim A: Das Netzwerk „Kontaktallergien durch Berufsstoffe“ – KAB-Netzwerk. *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2010; 58: 139-140

Geier J, Lessmann H, Hillen U, Jappe U, Dickel H, Koch P, Frosch PJ, Schnuch A, Uter W. An attempt to improve diagnostics of contact allergy due to epoxy resin systems. First results of the multicentre study EPOX 2002. *Contact Dermatitis* 2004; 51: 263-272

Guerra L, Vincenzi C, Bardazzi F, Tosti A. Contact sensitization due to isophoronediamine. *Contact Dermatitis* 1992; 27: 52-53

Jolanki R. Occupational skin diseases from epoxy compounds. *Acta Derm Venereol* 1991; Suppl 159: 1-80

Jolanki R, Estlander T, Kanerva L. 182 patients with occupational allergic epoxy contact dermatitis over 22 years. *Contact Dermatitis* 2001; 44: 121-123

Jolanki R, Kanerva L, Estlander T. Epoxy Resins. In: Kanerva L, Elsner P, Wahlberg JE, Maibach HI, editors. *Handbook of Occupational Dermatology*. Chapter 73, p. 570-590. Berlin: Springer; 2000

Jolanki R, Kanerva L, Estlander T, Tarvainen K, Keskinen H, Henriks-Eckerman M-L. Occupational dermatoses from epoxy resin compounds. *Contact Dermatitis* 1990; 23: 172-183

Kanerva L, Jolanki R, Estlander T. Allergic contact dermatitis from epoxy resin hardeners. *Am J Contact Dermatitis* 1991; 2: 89-97

Pontén A, Zimerson E, Bruze M. Sensitizing capacity and cross-reactivity of phenyl glycidyl ether. *Contact Dermatitis* 2004a; 50: 166

Pontén A, Zimerson E, Bruze M. Contact allergy to the isomers of diglycidyl ether of bisphenol F. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 2004b; 84: 12-17

Schnuch A, Uter W, Lessmann H, Arnold R, Geier J. Klinische Epidemiologie der Kontaktallergien. Das Register und das Überwachungssystem des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK). *Allergo Journal* 2008; 17: 611-624

Schnuch A, Geier J, Lessmann H, Arnold R, Uter W. Surveillance of contact allergies: methods and results of the Information Network of Departments of Dermatology (IVDK). *Allergy* 2012; 67: 847-857

## **10. Anhang**

- Kurzfassung des Studienprotokolls
- Dokumentationsbogen
- Testreihe mit 16 potentiell allergenen Bestandteilen von Epoxidharzsystemen

**Bewertung Epoxidharz-Systeme – FP 324**

Teilprojekt prospektive Untersuchung zu Exposition und Sensibilisierung

Ansprechpartner: Prof. Dr. med. J. Geier, IVDK, von-Siebold-Str. 3, 37075 Göttingen, Tel. 0551 / 39 89 84, e-mail: jgeier@gwdg.de

**EPOX 2011 – Studienprotokoll (Kurzfassung)**Hintergrund:

Die Kontaktallergie gegen Epoxidharz und weitere Bestandteile von Epoxidharzsystemen wie Härter oder Reaktivverdünner ist ein großes berufsdermatologisches Problem in unterschiedlichen Branchen, insbesondere im Baugewerbe. Es ist nach wie vor relativ unklar, welche Expositionsbedingungen ein besonderes Risiko für den Erwerb einer solchen Sensibilisierung darstellen. Wie retrospektive Datenauswertungen und Fallberichte zeigen, ist der Umfang der Epikutantestung oft zu knapp, so dass nicht alle relevanten Allergene erfasst werden. Darüber hinaus unterbleibt oft eine individuelle Diagnostik, die sich an der tatsächlichen Arbeitsplatzexposition orientiert, weil die notwendigen Informationen und die einzelnen Inhaltsstoffe schwer zu beschaffen sind.

Ziele der Studie:*Allgemein:*

Verbesserung der Diagnostik der Epoxidharzallergie; Erkennen von Sensibilisierungsrisiken; Bereitstellung von Informationen für die Prävention.

*Im Detail:*

1. Erkennen von Risikoberufen und -expositionen für die Epoxidharzallergie.
2. Beurteilung der Treffsicherheit eines Panels von Epoxidharzallergenen (für die Epikutantestung zugelassene Arzneimittel).
3. Individuelle Allergiediagnostik unter standardisierten Bedingungen; Optimierung der Testempfehlungen.

Einschlusskriterium:

Patienten mit Verdacht auf Kontaktallergie gegen Bestandteile von Epoxidharz-Systemen.

Ausschlusskriterien:

- Alter unter 18 Jahre.
- Schwangerschaft und Stillzeit.
- Einnahme von Medikamenten, die die Reaktion im Epikutantest unterdrücken (Immunsuppressiva, Corticosteroide über 25 mg Prednisolon-Äquivalent).
- Laufende UV-Therapie; übermäßige Bräunung der Haut nach UV-Exposition.



## Methoden:

### *Untersuchung der Patienten und Datenerfassung:*

1. Erfassung relevanter klinischer und anamnestischer Daten mittels Fragebogen; Übersendung dieses Fragebogens an die IVDK-Zentrale (J. Geier), dabei Mitteilung der verdächtigten Produkte.  
Alternativ: Erst Mitteilung der angeschuldigten Produkte und Frage nach Testempfehlung per e-mail an J. Geier und späteres Nachreichen des Fragebogens.
2. Rückmeldung von der IVDK-Zentrale (J. Geier) mit Angabe der (zusätzlich zu den kommerziell erhältlichen Testallergenen) epikutan zu testenden Bestandteile der Produkte mit Testkonzentration und Vehikel. Versuch, die entsprechende Testsubstanz zur Verfügung zu stellen.
3. Vollständige Epikutantestung gemäß den Leitlinien der DKG (Schnuch et al. JDDG 2008; 6: 770-775) eines definierten Panels von Epoxidharzallergenen (siehe Testprotokoll); Dokumentation in WinAlldat und auf Papier (Testprotokoll).
4. Epikutantestung mit den genannten weiteren Komponenten der individuellen beruflich kontaktierten Epoxidharzprodukte; Dokumentation auf Papier (Testprotokoll).
5. Übersendung der Testprotokolle an die IVDK-Zentrale (J. Geier).
6. Aufwandsentschädigung an die/den dokumentierenden und testenden Ärztin/Arzt in Höhe von 50,- Euro je vollständig dokumentiertem und getestetem Fall.

### *Datenverarbeitung, Auswertung, Veröffentlichung:*

1. Erfassung und Auswertung der klinischen und anamnestischen Daten sowie der Testergebnisse in einer eigenen Datenbank in der IVDK-Zentrale unter SAS.
2. Bericht der Ergebnisse an die DGUV, die DKG und die Studienteilnehmer, Publikation in einer wissenschaftlichen Zeitschrift.

**Bewertung Epoxidharz-Systeme – FP 324**

Teilprojekt prospektive Untersuchung zu Exposition und Sensibilisierung

Ansprechpartner: Prof. Dr. med. J. Geier, IVDK, von-Siebold-Str. 3, 37075 Göttingen, Tel. 0551 / 39 89 84, e-mail: jgeier@gwdg.de

**Dokumentationsbogen und Anfrage zur Testung mit Berufsstoffen vom Arbeitsplatz**

Datum:

Klinik:

Patienten-Aufkleber (anonymisiert)  
oder

Ansprechpartner:

Tel.:

Initialen und Geburtsdatum

e-mail:

oder

Fall-Nummer (WinAlldat/IVDK):

klinikinterne Patienten-Nr.

*Wenn der Fall bereits einem Unfallversicherungsträger bekannt ist:*

Zuständiger Unfallversicherungsträger:

Aktenzeichen:

**Exposition:**

beruflich [ ]

privat [ ]

Beruf:

Tätigkeit mit Exposition gegenüber Epoxidharzen:

Dauer und Frequenz der Epoxidharz-Exposition (bitte möglichst Datumsangaben):

Beginn:

Ende:

täglich [ ] ca. 1 x / Woche [ ] ca. 1 x / Monat [ ] nur selten (&lt; 1 x / Monat) [ ] keine Angabe [ ]

**Verwendete bzw. als Auslöser der Hauterscheinungen verdächtige Produkte**

(Produktbezeichnung und Hersteller, wenn möglich Chargenbezeichnung):

Bitte Sicherheitsdatenblätter beilegen, wenn vorhanden.

## Bewertung Epoxidharz-Systeme – FP 324

Teilprojekt prospektive Untersuchung zu Exposition und Sensibilisierung

Ansprechpartner: Prof. Dr. med. J. Geier, IVDK, von-Siebold-Str. 3, 37075 Göttingen, Tel. 0551 / 39 89 84, e-mail: jgeier@gwdg.de

<b>Hautschutz beim Umgang mit Epoxidharzen:</b>		
Welche Bereiche sind <u>bedeckt</u> ?	Verwendete Handschuhe:	
Hände <input type="checkbox"/>	keine <input type="checkbox"/>	Latex <input type="checkbox"/> Nitril <input type="checkbox"/>
Unterarme <input type="checkbox"/>	Leder <input type="checkbox"/>	Gummi <input type="checkbox"/> Nitrilgetränkte <input type="checkbox"/>
Oberarme <input type="checkbox"/>	Baumwolle <input type="checkbox"/>	Vinyl <input type="checkbox"/> Baumwollhdsch. <input type="checkbox"/>
Hals <input type="checkbox"/>	Leder/Stoff <input type="checkbox"/>	Butyl <input type="checkbox"/> (Typ „Sahara“) <input type="checkbox"/>
Gesicht <input type="checkbox"/>	Material unbekannt <input type="checkbox"/>	
Bemerkungen zum Hautschutz:	Ggf. andere Handschuhe:	

<b>Hautveränderungen:</b>
Auftreten von Hauterscheinungen nur bei direktem Hautkontakt mit Epoxidharz-Systemen <input type="checkbox"/> bereits beim Aufenthalt in Räumen, in denen Epoxidharze verarbeitet werden <input type="checkbox"/>
Lokalisation der Hautveränderungen: Hände <input type="checkbox"/> Unterarme <input type="checkbox"/> Oberarme <input type="checkbox"/> Hals <input type="checkbox"/> Gesicht <input type="checkbox"/> Augenlider <input type="checkbox"/> andere Lokalisation(en):
Diagnose(n): 1. allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme <u>im direkten Kontaktbereich</u> <input type="checkbox"/> 2. allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme <u>mit Allergen-Verschleppung</u> , <input type="checkbox"/> z.B. mit von der Hand oder dem Handschuh in das Gesicht 3. <u>aerogenes</u> allergisches Kontaktekzem durch Epoxidharz-Systeme durch Dämpfe <input type="checkbox"/> oder Stäube ( <u>nicht</u> Spritzer) 4. irritatives Kontaktekzem <input type="checkbox"/> 5. andere Diagnose:
Beginn der Hautveränderungen:
Wie lange bestand Kontakt mit Epoxidharzen, als erstmals Hautveränderungen auftraten? (nur wenige Tage? mehrere Wochen? bereits einige Jahre? bitte möglichst genaue Angaben):

Sind auf die oben genannten Berufsstoffe <u>schwere</u> <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein Hautreaktionen aufgetreten? (z. B. generalisiertes Ekzem, aerogenes Ekzem...)
Wenn ja, welche?

**Weitere Hinweise, Kommentare:**

**Bewertung Epoxidharz-Systeme – FP 324**

Teilprojekt prospektive Untersuchung zu Exposition und Sensibilisierung

Ansprechpartner: Prof. Dr. med. J. Geier, IVDK, von-Siebold-Str. 3, 37075 Göttingen, Tel. 0551 / 39 89 84, e-mail: jgeier@gwdg.de

**Testprotokoll**

Klinik / Arzt:

Patient:

Fall-Nummer (WinAlldat/IVDK):

Datum (Aufklebedatum):

Expositionsdauer:  24 h  48h

Nr.	Substanz	Testkonz.	24 h	48 h	72 h	96 h	
1	Epoxidharz	1 % Vas.					
2	BIS-GMA (Bisphenol A-diglycidylmethacrylat)	2 % Vas.					
3	Diethylentriamin	1 % Vas.					
4	4,4'-Diaminodiphenylmethan	0,5 % Vas.					
5	Isophorondiamin (IPD)	0,5 % Vas.					
6	Butylglycidylether	0,25 % Vas.					
7	Cresylglycidylether	0,25 % Vas.					
8	Phenylglycidylether	0,25 % Vas.					
9	1,4-Butandiolglycidylether	0,25 % Vas.					
10	1,6-Hexandiolglycidylether	0,25 % Vas.					
11	Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengem.)	0,5 % Vas.					
12	p-tert-Butylphenylglycidylether	0,25 % Vas.					
13	m-Xylendiamin	0,1 % Vas.					
14	Trimethylolpropan-triglycidylether	0,25 % Vas.					
15	Triethylentetramin	0,5 % Vas.					
16	Bisphenol F Epoxidharz	0,25 % Vas.					

Hinweise:

- Position 1 entspricht Pos. 9 der DKG Standardreihe (Block Nr. 1).
- Die Pos. 2 bis 14 entsprechen den Pos. 8 bis 20 der Testreihe "DKG Kunstharze / Kleber" (Block Nr. 28).
- Pos. 15 (Triethylentetramin 0,5% Vas.) ist erhältlich bei Almirall Hermal (Artikel Nr. D0905) und SmartPractice Germany (AllergEaze Artikel Nr. PG 313).
- Pos. 16 (Bisphenol F Epoxidharz 0,25% Vas.) ist erhältlich von Chemotechnique (Artikel Nr. B-035).

Forschungsvorhaben

**„Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen  
aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke“**

gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung

Kennziffer FP-0324

Teilprojekt 5.4.1

des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK)

**„Expertise zu Bestandteilen von Epoxidharzsystemen  
auf der Basis einer vertieften Datenanalyse (IVDK-Daten)“**

Prof. Dr. med. Johannes Geier  
Dr. rer. nat. Holger Lessmann  
Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK)  
Institut an der Universität Göttingen  
von-Siebold-Str. 3  
37075 Göttingen  
Tel. 0551 398984  
e-mail: [jgeier@gwdg.de](mailto:jgeier@gwdg.de)  
<http://www.ivdk.org>



**Inhaltsverzeichnis**

		Seite
0	Verzeichnis der Abkürzungen	F 5
1	Hintergrund und Zielsetzung der Datenanalyse	F 6
2	Material und Methoden	F 8
3	Ergebnisse	F 15
3.1	Epikutantest-Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz	F 15
3.2	Vergleich der Daten von Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz	F 15
3.2.1	Klinische und anamnestische Daten	F 15
3.2.2	Weitere Sensibilisierungen (außer Komponenten von Epoxidharz-Systemen)	F 20
3.3	Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz	F 24
3.3.1	Härter und Reaktivverdünner allgemein	F 24
3.3.2	Klinische und anamnestische Daten der gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisierten Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen Härter und/oder Reaktivverdünner	F 27
3.3.3	Härter und Reaktivverdünner im Einzelnen	F 29
3.3.4	Reaktionskopplungen	F 30
3.3.5	Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen	F 34
3.4	Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei Patienten ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz	F 39
3.4.1	Härter und Reaktivverdünner allgemein	F 39
3.4.2	Klinische und anamnestische Daten der nicht gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisierten Patienten mit Sensibilisierung gegen Härter und/oder Reaktivverdünner	F 41
3.4.3	Härter und Reaktivverdünner im Einzelnen	F 42
3.4.4	Reaktionskopplungen	F 43
3.5	Patienten mit Sensibilisierung gegen Härter oder Reaktivverdünner	F 46
3.5.1	Reaktionshäufigkeiten in Abhängigkeit von Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz und allgemein	F 46
3.5.2	Reaktionskopplungen	F 50
3.5.3	Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen	F 53
3.5.4	Vergleich der klinischen und anamnestischen Daten der gegen Härter oder Reaktivverdünner sensibilisierten Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz	F 57
3.6	Sonderfall 4,4'-Diaminodiphenylmethan	F 62
3.6.1	Reaktionshäufigkeiten und Begleitreaktionen	F 63
3.6.2	Klinische und anamnestische Daten der gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan sensibilisierten Patienten	F 67

		Seite
3.7	Gegen DGEBA-Harz sensibilisierte Patienten mit aerogenem Kontaktekzem	F 70
3.7.1	Klinische und anamnestische Daten	F 70
3.7.2	Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen	F 71
3.7.3	Weitere Sensibilisierungen über Komponenten von Epoxidharz-Systemen hinaus	F 73
3.8	Sensibilisierung gegen Komponenten von Epoxidharz-Systemen in durch den Beruf definierten Risikogruppen	F 75
3.8.1	Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter usw.	F 75
3.8.1.1	Klinische und anamnestische Angaben	F 75
3.8.1.2	Reaktionshäufigkeiten	F 77
3.8.1.3	Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen	F 84
3.8.2	Maler und Lackierer	F 90
3.8.2.1	Klinische und anamnestische Angaben	F 90
3.8.2.2	Reaktionshäufigkeiten	F 92
3.8.2.3	Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen	F 96
3.8.3	Kunststoffverarbeiter	F 100
3.8.3.1	Klinische und anamnestische Angaben	F 100
3.8.3.2	Reaktionshäufigkeiten	F 102
3.8.3.3	Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen	F 107
3.9	Sensibilisierung gegen Komponenten von Epoxidharz-Systemen in durch die mutmaßliche Allergenquelle definierten Risikogruppen	F 109
3.9.1	Baustoffe	F 109
3.9.1.1	Klinische und anamnestische Angaben	F 109
3.9.1.2	Reaktionshäufigkeiten	F 111
3.9.1.3	Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen	F 116
3.9.2	Farben, Lacke	F 119
3.9.2.1	Klinische und anamnestische Angaben	F 119
3.9.2.2	Reaktionshäufigkeiten	F 121
3.9.2.3	Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen	F 126
3.9.3	Kleber	F 129
3.9.3.1	Klinische und anamnestische Angaben	F 129
3.9.3.2	Reaktionshäufigkeiten	F 130
3.9.3.3	Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen	F 135

		Seite
3.9.4	Kunststoffe	F 136
3.9.4.1	Klinische und anamnestische Angaben	F 136
3.9.4.2	Reaktionshäufigkeiten	F 138
3.9.4.3	Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen	F 142
4	Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse	F 143
5	Allergologische Bewertung der epikutan getesteten Komponenten von Epoxidharz-Systemen an Hand der vorliegenden Daten	F 154
6	Literatur	F 156



**Verzeichnis der Abkürzungen**

1,4-BDDGE	1,4-Butandiol diglycidylether
1,6-HDDGE	1,6-Hexandiol diglycidylether
BGE	Butylglycidylether
CAS	Chemical Abstracts Service
CGE	Cresylglycidylether
DETA	Diethylentriamin
DGEBA	Diglycidylether of Bisphenol A, (= Bisphenol A-diglycidylether)
DGEBF	Diglycidylether of Bisphenol F, (= Bisphenol F-diglycidylether)
DKG	Deutsche Kontaktallergie-Gruppe
GISBAU	Gefahrstoff-Informations-System der Berufsgenossenschaften der Bauwirtschaft
IPDA	Isophorondiamin
IVDK	Informationsverbund Dermatologischer Kliniken
MXDA	m-Xylidendiamin
PGE	Phenylglycidylether
PR	Positivity Ratio
PTBPGE	p-tert-Butylphenylglycidylether
RI	Reaktions-Index
SEQ	Sensitization Exposure Quotient
SiDaB	Sicherheitsdatenblatt
TETA	Triethylentetramin
TMHDA	Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch)
TMPTGE	Trimethylolpropan triglycidylether
tris-DMP	2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol
Vas.	Vaseline; in Vaseline

## 1. Hintergrund und Zielsetzung der Datenanalyse

Ziel des Forschungsvorhabens FP-0324 ist es, Inhaltsstoffe von Epoxidharz-Systemen gemäß ihrer jeweiligen sensibilisierenden Wirkstärke zu differenzieren und, soweit möglich, zu klassifizieren. Hauptsächlich werden dazu wissenschaftliche Veröffentlichungen zur sensibilisierenden Wirkung auf der Basis von Tierversuchen, in vitro-Untersuchungen und in silico-Methoden (Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen) ausgewertet. Für einige Komponenten werden eigens in vitro-Untersuchungen zur sensibilisierenden Wirkung in Auftrag gegeben, deren Ergebnisse ebenfalls berücksichtigt werden.

Im Rahmen des Teilprojekt 5.4.1 werden diese Erkenntnisse um klinisch-epidemiologische Daten zur Sensibilisierung beim Menschen ergänzt. Hierzu werden Daten des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) ausgewertet. Der IVDK betreibt die größte Faktendatenbank der Welt auf dem Gebiet der Kontaktallergie. An dem Verbund sind derzeit 56 dermatologische Abteilungen in Deutschland, der Schweiz und Österreich beteiligt. Der Gesamtbestand umfasst aktuell die Daten von ca. 200.000 epikutan getesteten Patienten. Jährlich kommen die Daten von etwa 11.000 weiteren Patienten hinzu.

Ein Epoxidharz auf Basis von Bisphenol A-Diglycidylether (DGEBA) ist Bestandteil der Epikutantest-Standardreihe der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG). Diese Reihe wird bei ca. 90% aller epikutan getesteten Patienten, also relativ breit, überprüft. Darüber hinaus werden weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen, nämlich Amin-Härter und Reaktivverdünner, in speziellen Reihen gezielt epikutan getestet. Ein Teil dieser Testzubereitungen wurde auf der Basis der Ergebnisse der in den Jahren 2002 bis 2004 im IVDK durchgeführten Untersuchung zur Sensibilisierung gegen verschiedene Bestandteile von Epoxidharz-Systemen (EPOX 2002) entwickelt [Geier et al. 2004; Geier 2010].

Der IVDK verfügt also über Daten zur Häufigkeit der Sensibilisierungen gegenüber DGEBA-Epoxidharz und weiteren Komponenten von Epoxidharz-Systemen bei Ekzempatienten.

Im Rahmen einer vertieften Datenanalyse werden anhand von Berufsbezeichnungen, verdächtigten Allergenquellen, und – sofern sinnvoll – überprüften Spezial-Testreihen Subgruppen von Patienten mit einem mutmaßlich erhöhten Risiko für eine Epoxidharz-Allergie definiert. Die Häufigkeiten von Sensibilisierungen gegen das oben genannte DGEBA-Epoxidharz und weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen in diesen Subgruppen werden ermittelt. Diese werden in Beziehung gesetzt zu externen Daten über die Verbreitung bestimmter Bestandteile von Epoxidharz-Systemen auf dem Markt, sofern verfügbar. Durch die Gegenüberstellung von Sensibilisierungshäufigkeiten und Daten zur Verbreitung der einzelnen Bestandteile wird über einen Quotienten ein halbquantitativer Risikofaktor ermittelt.

Wo es sinnvoll ist, werden assoziierte Reaktionen auf Allergene außerhalb von Epoxidharz-Systemen vertieft analysiert, da sie Rückschlüsse auf weitere Expositionen bei den betroffenen Patienten und damit ggf. auf spezielle Expositionsbedingungen zulassen. Dieses Verfahren des „epidemiologischen Allergen-Expositions-Mappings“ wurde bereits in verschiedenen anderen Bereichen mit Erfolg angewendet.

Darüber hinaus werden im Rahmen dieser retrospektiven Datenanalyse Reaktionskopplungen ausgewertet, die wiederum mit bereits vorhandenen Kenntnissen über immunologische Kreuzreaktionen in Beziehung gesetzt werden. Auf diese Weise wird ermittelt, ob bestimmte Epoxidharzbestandteile eher selbst oder möglicherweise eher auf dem Boden immunologischer Kreuzreaktionen zu allergischen Reaktionen führen. Die Betrachtung von Kreuzreaktionen ist auch für das Ranking einzelner Bestandteile von Bedeutung, da ein kreuzreagierender Bestandteil eines Epoxidharz-Systems allergologisch anders zu bewerten ist als eine allergologisch „isolierte“ Substanz.

Der Umfang der beschriebenen Datenauswertung, -verknüpfung und -bewertung ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

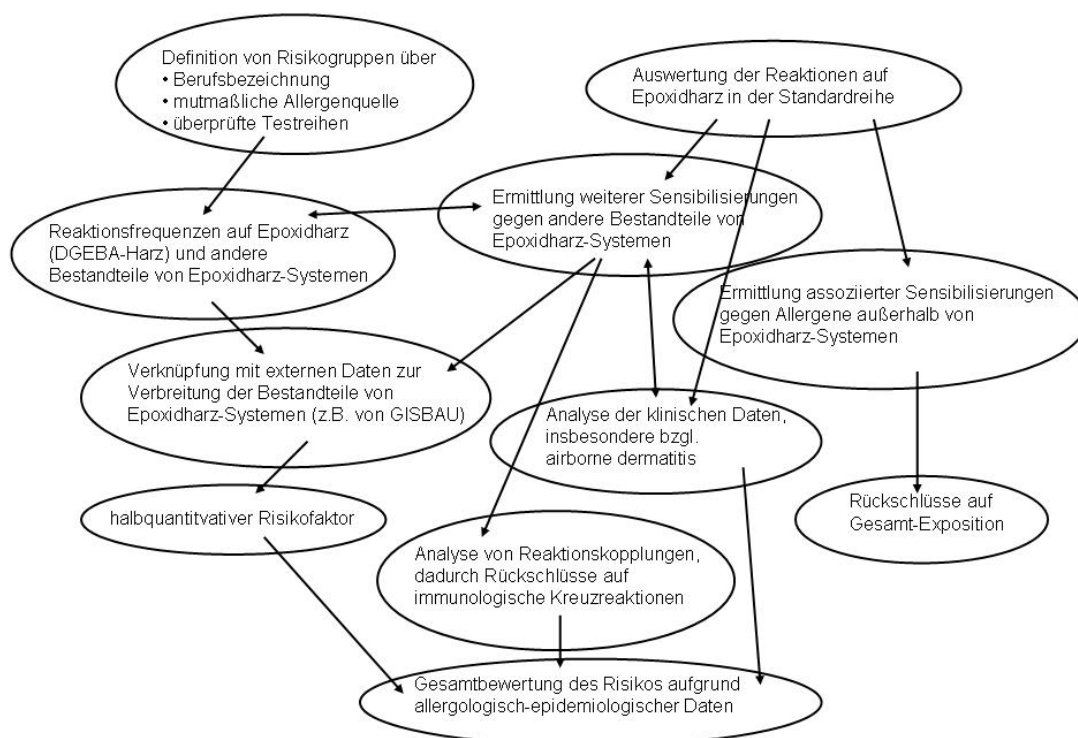


Abb. 1: Datenauswertung, Verknüpfung der Daten und Bewertung der Ergebnisse im Rahmen des Teilprojektes 5.4.1.

## 2. Material und Methoden

Die Grundlage dieser Datenauswertung sind Daten des IVDK der Jahre 2002 bis 2011. In diesen 10 Jahren wurden in den 56 am IVDK beteiligten dermatologischen Abteilungen insgesamt 105.656 Patienten epikutan getestet.

Der IVDK ist ein Verbund dermatologischer Abteilungen, der sich der epidemiologischen Überwachung der Kontaktallergie widmet [Schnuch et al. 2012]. In den beteiligten Kliniken werden die Daten aller epikutan getesteten Patienten mit einem einheitlichen Computerprogramm standardisiert erfasst. Dabei werden nicht nur die durchgeführten Testungen und deren Ergebnisse dokumentiert, sondern auch anamnestische und klinische Angaben wie Alter und Geschlecht des Patienten, Beruf, Diagnose, Lokalisation der Erkrankung und anderes mehr [Schnuch et al. 2008 b]. Diese Daten werden in anonymisierter Form in halbjährlichen Abständen an die Zentrale des IVDK an der Universität Göttingen übermittelt. Dort werden sie einer Qualitätskontrolle unterzogen und in die zentrale Datenbank des IVDK aufgenommen [Uter et al. 2005]. Das Datenmanagement erfolgt mit dem Programmpaket SAS 9.3 (SAS-Institut, Cary, NC, USA).

In den beteiligten Zentren werden die Epikutantestungen nach den Leitlinien der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG) vorgenommen und abgelesen [Schnuch et al. 2008 a]. Abgesehen von einigen (temporären) Ausnahmen wurden im Auswertungszeitraum für die Epikutantestung Finn Chambers on Scanpor® verwendet. Die Testallergene wurden bis auf wenige Ausnahmen von der Firma Almirall Hermal, Reinbek, bezogen.

Für die Datenanalyse wurden die Testreaktionen am Tag 3 ausgewertet. In einigen wenigen Fällen wurde die Epikutantestung nicht am Tag 3, sondern am Tag 4 abgelesen. In diesen Fällen wurde die Reaktion am Tag 4 zur Auswertung herangezogen. Für die Ermittlung der Quote positiver Reaktionen wurden alle Reaktionen, die als +, ++ oder +++ dokumentiert sind, zusammengefasst. Über die einfachen Reaktionsquoten hinaus wurden auch die alters- und geschlechtsstandardisierten Reaktionsquoten ermittelt. Die Alters- und Geschlechtsstandardisierung erfolgte nach dem 1997 publizierten Verfahren [Schnuch et al. 1997]. Wo es sinnvoll war, wurden die 95% Konfidenzintervalle (95%-CI) der Reaktionsquoten berechnet.

Wo es sinnvoll war, wurden Häufigkeitsunterschiede bei Reaktionsquoten oder dem Auftreten bestimmter Merkmale in disjunkten Subgruppen von Patienten mit dem Chi-Quadrat-Test, dem Exakten Test von Fisher, oder durch Vergleich der 95%-CI auf statistische Signifikanz geprüft. Die Prüfung erfolgte auf einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 5\%$ .

Folgende Datenanalysen wurden vorgenommen:

- Epikutantest-Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz
- Vergleich der Daten von Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz
  - Klinische und anamnestiche Daten
  - Weitere Sensibilisierungen (außer Komponenten von Epoxidharz-Systemen)
- Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz
  - Härter und Reaktivverdünner allgemein
  - Klinische und anamnestiche Daten der gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisierten Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen Härter und/oder Reaktivverdünner
  - Härter und Reaktivverdünner im Einzelnen
  - Reaktionskopplungen
  - Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen
- Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei Patienten ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz
  - Härter und Reaktivverdünner allgemein
  - Klinische und anamnestiche Daten der nicht gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisierten Patienten mit Sensibilisierung gegen Härter und/oder Reaktivverdünner
  - Härter und Reaktivverdünner im Einzelnen
  - Reaktionskopplungen
- Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz bei Patienten mit Sensibilisierung gegen Härter oder Reaktivverdünner
  - Reaktionshäufigkeiten
  - Vergleich der klinischen und anamnestiche Daten der gegen Härter und/oder Reaktivverdünner sensibilisierten Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz
- Sonderfall 4,4'-Diaminodiphenylmethan
  - Reaktionshäufigkeiten und Begleitreaktionen
  - Klinische und anamnestiche Daten der gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan sensibilisierten Patienten
- Gegen DGEBA-Harz sensibilisierte Patienten mit airborne dermatitis
  - Klinische und anamnestiche Daten
  - Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen
  - Weitere Sensibilisierungen über Komponenten von Epoxidharz-Systemen hinaus

- Sensibilisierung gegen Komponenten von Epoxidharz-Systemen in durch den Beruf definierten Risikogruppen
  - Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter usw.
    - Klinische und anamnestiche Daten
    - Reaktionshäufigkeiten
    - Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen
  - Maler und Lackierer
    - Klinische und anamnestiche Daten
    - Reaktionshäufigkeiten
  - Kunststoffverarbeiter
    - Klinische und anamnestiche Daten
    - Reaktionshäufigkeiten
- Sensibilisierung gegen Komponenten von Epoxidharz-Systemen in durch die mutmaßliche Allergenquelle definierten Risikogruppen
  - Baustoffe
    - Klinische und anamnestiche Daten
    - Reaktionshäufigkeiten
    - Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen
  - Farben, Lacke
    - Klinische und anamnestiche Daten
    - Reaktionshäufigkeiten
  - Kleber
    - Klinische und anamnestiche Daten
    - Reaktionshäufigkeiten
  - Kunststoffe
    - Klinische und anamnestiche Daten
    - Reaktionshäufigkeiten

Die Analyse von Reaktionshäufigkeiten und weiteren Daten in Subgruppen von Patienten, die durch eine oder mehrere überprüfte Spezial-Testreihen definiert wurden, erwies sich als nicht sinnvoll. Die beiden DKG-Testreihen, in denen während des Untersuchungszeitraums über längere Zeit Komponenten von Epoxidharz-Systemen enthalten waren, nämlich die DKG-Testreihen „Kunsthharze / Kleber“ und „Bau-Hauptgewerbe“, wurden bei ca. 9.800 bzw. ca. 2.600 Patienten epikutan getestet. Bei ca. 1.300 Patienten, also etwa der Hälfte derjenigen, bei denen die Testreihe „Bau-Hauptgewerbe“ überprüft wurde, wurden beide Testreihen parallel getestet. Wegen dieser großen Überlappung erschien das ursprünglich zusätzlich vorgesehene Herangehen, auch durch die überprüften Testreihen Risikogruppen zu definieren, nicht hilfreich, zumal sich auch große Überlappungen mit den durch die Berufe definierten Risikogruppen ergeben hätten.

Die in Tabelle 2.1 aufgeführten Komponenten von Epoxidharz-Systemen waren im Untersuchungszeitraum Bestandteile der Epikutantestreihen der DKG und sind in der vorliegenden Datenanalyse berücksichtigt worden.

Tabelle 2.1:

Im Untersuchungszeitraum im IVDK epikutan getestete und in der Datenanalyse berücksichtigte Komponenten von Epoxidharz-Systemen. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	CAS Nr.	Testkonzentration
Harze		
Bisphenol A-Epoxidharz (DGEBA-Harz)	25068-38-6	1 %
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	9003-36-5	0,25 %
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	16096-31-4	0,25 %
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	2425-79-8	0,25 %
Phenylglycidylether (PGE)	122-60-1	0,25 %
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	3101-60-8	0,25 %
Cresylglycidylether (CGE)	26447-14-3	0,25 %
Butylglycidylether (BGE)	2426-08-6	0,25 %
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	30499-70-8	0,25 %
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	1477-55-0	0,1 %
Isophorondiamin (IPDA)	2855-13-2	0,5 %
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	25620-58-0	0,5 %
Diethylentriamin (DETA)	111-40-0	1 %
Triethylentetramin (TETA)	112-24-3	0,5 %
4,4'-Diaminodiphenylmethan	101-77-9	0,5 %

Das DGEBA-Epoxidharz war während des gesamten Untersuchungszeitraumes Bestandteil der DKG-Standardreihe. Die meisten anderen Testsubstanzen kamen erst im Laufe des Untersuchungszeitraumes dazu; einige waren nur temporär verfügbar, z.B. im Rahmen der Studie EPOX 2002 [Geier et al. 2004, Geier 2010]. Daraus resultieren unterschiedliche Testzahlen der einzelnen Komponenten.

Weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen wurde im Rahmen von Einzelfallaufklärungen getestet, z.B. 2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol (tris-DMP) [Geier et al. 2012 a]. Diese Daten sind unter epidemiologischen Aspekten nicht verwertbar und wurden daher bei dieser Datenanalyse nicht berücksichtigt.

Wenn man anhand epidemiologischer Daten das allergologische Risiko abschätzen will, das von einem Stoff ausgeht, so ist es eigentlich erforderlich, die Zahl der Sensibilisierten zur Zahl der Exponierten in Beziehung zu setzen. Beide Zahlen sind aber leider nicht verfügbar. Während man jedoch die Zahl der Sensibilisierten anhand epidemiologischer Daten oder anderer Berichte in einigen Fällen zumindest grob orientierend abschätzen kann, gibt es zur Zahl der Exponierten keinerlei Daten.

Wie eingangs (in Abschnitt 1) erwähnt, war dennoch vorgesehen, eine gewisse Abschätzung vorzunehmen: Es sollten die beobachteten Sensibilisierungshäufigkeiten zur Verbreitung der einzelnen Komponenten von Epoxidharz-Systemen in Beziehung gesetzt werden, um einen halbquantitativen Risikofaktor zu ermitteln. Im Lauf des Forschungsvorhabens wurde jedoch klar, dass von Industrieverbänden oder aus anderen Quellen keine aussagekräftigen quantitativen Daten dazu erhältlich waren, wie weit verbreitet einzelne Komponenten in Epoxidharz-Produkten sind. Es gab lediglich das Ergebnis einer Umfrage unter Mitgliedern des Verbandes Deutsche Bauchemie e.V. mit folgenden Angaben zur Verbreitung bestimmter Komponenten in Epoxidharz-Systemen für die Bauwirtschaft: „wird viel eingesetzt“, „wird wenig eingesetzt“, „wird sehr wenig oder gar nicht eingesetzt“ bzw. „relevant / häufig verwendet“ oder „nicht relevant / nicht verwendet“.

Beim Gefahrstoff-Informations-System der Berufsgenossenschaften der Bauwirtschaft (GISBAU) liegen 3.692 Sicherheitsdatenblätter von Epoxidharz-Produkten vor, von denen 635 nach 2005 erstellt wurden. Da die meisten Epoxidharz-Produkte aus zwei Komponenten bestehen, handelt es sich also um die Daten von ca. 1.850 Produkten. Um wenigstens für das Baugewerbe einen orientierenden Anhaltspunkt zur Verbreitung der jeweiligen Verbindung zu bekommen, wurde von GISBAU ausgewertet, wie häufig die einzelnen Komponenten in den Sicherheitsdatenblättern genannt wurden. Über die verkaufte bzw. eingesetzte Menge der einzelnen Produkte liegen keine Informationen vor; die Anzahl der Nennungen bestimmter Komponenten in den Sicherheitsdatenblättern kann also wirklich nur eine grob orientierende Aussage zur Verbreitung des jeweiligen Stoffes in Epoxidharz-Systemen geben. Gemäß der Häufigkeit ihrer Nennungen in Sicherheitsdatenblättern wurden den einzelnen Komponenten in eine der vier in Tabelle 2.2 aufgeführten Kategorien eingeordnet.



Tabelle 2.2:

Semiquantitative Kategorisierung der Häufigkeit bestimmter Komponenten von Epoxidharz-Systemen anhand von Sicherheitsdatenblättern, die bei GISBAU vorliegen.

Kategorie	Anzahl der bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblätter mit der jeweiligen Komponente (Grundgesamtheit: n = 3.692)
sehr häufig / sehr weit verbreitet	> 350
häufig / weit verbreitet	100 – 350
selten / kaum verbreitet	10 – 99
sehr selten / fast nicht verbreitet	0 – 9

Tabelle 2.3 gibt die Zuordnung der in Tabelle 2.1 aufgeführten Komponenten von Epoxidharz-Systemen zu den in Tabelle 2.2 genannten Häufigkeits-Kategorien wieder.

Tabelle 2.3:

Zuordnung der in der Datenanalyse berücksichtigten Komponenten von Epoxidharz-Systemen zu den Häufigkeits-Kategorien anhand der 3.692 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblätter (SiDaBs), von denen 635 nach 2005 erstellt wurden.

Substanz	Nennungen in SiDaBs / davon nach 2005 erstellt	Häufigkeit Kategorie
Harze		
Bisphenol A-Epoxidharz (DGEBA-Harz)*	1767 / 364	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)**	756 / 178	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	321 / 63	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	29 / 11	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	0 / 0	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	54 / 16	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)***	38 / 5	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	0 / 0	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	26 / 4	selten / kaum verbreitet

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 2.3 (Fortsetzung):

Zuordnung der in der Datenanalyse berücksichtigten Komponenten von Epoxidharz-Systemen zu den Häufigkeits-Kategorien anhand der 3.692 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblätter (SiDaBs), von denen 635 nach 2005 erstellt wurden.

Substanz	Nennungen in SiDaBs / davon nach 2005 erstellt	Häufigkeit Kategorie
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	608 / 122	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	1009 / 165	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerenmischung; TMHDA)	320 / 57	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	65 / 10	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	138 / 21	häufig / weit verbreitet
4,4'-Diaminodiphenylmethan	6 / 0	sehr selten / fast nicht verbreitet

\* CAS-Nummern 25068-38-6 und 25085-99-8 zusammengefasst.

\*\* CAS-Nummern 9003-36-5 und 28064-14-4 zusammengefasst.

\*\*\* CAS Nummern 2210-79-9 und 26447-14-3 zusammengefasst.

Hinweis:

Auf eine ausführliche Diskussion jeder einzelnen der hier besprochenen Komponenten von Epoxidharz-Systemen anhand der allergologischen Literatur wurde verzichtet, da dies der Inhalt des Teilprojektes Teilprojekt 5.4.3 „Literaturstudie über allergologische Humanbefunde zu Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen“ des Forschungsvorhabens FP-0324 ist.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Epikutantest-Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz

Seit über 30 Jahren ist eine Testzubereitung mit einem Epoxidharz auf der Basis von Bisphenol A-diglycidylether (DGEBA-Harz) Bestandteil der Epikutantest-Standardreihe der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG). Im Untersuchungszeitraum (2002 - 2011) wurde das DGEBA-Harz 1% in Vaseline (Vas.) bei 93.406 Patienten getestet. Dies entspricht 88,4% aller epikutan getesteten Patienten. Die Reaktionen an Tag 3 sind in Tabelle 3.1.1 aufgeführt. Insgesamt ergaben sich bei 1.453 Patienten positive Reaktionen, das entspricht einer Reaktionsquote von 1,56%. Der Reaktions-Index (RI) liegt bei 0,47, die Positivity Ratio (PR) bei 52,3%. Damit erweist sich die Testzubereitung als sehr gut geeignet, um allergische Reaktionen zu diagnostizieren und von fraglichen und irritativen Reaktionen zu differenzieren [Geier et al. 2003, Geier et al. 2010].

Tabelle 3.1.1:

IVDK, 2002-2011, Reaktionen auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas.

Reaktion	Anzahl	Prozent
negativ	91.424	97,9
fraglich	383	0,4
follikulär	55	0,1
+	767	0,8
++	514	0,6
+++	172	0,2
irritativ	91	0,1
Summe	93.406	100,0

#### 3.2. Vergleich der Daten der Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz

##### *3.2.1 Klinische und anamnestische Daten*

Um typische Merkmale der Patientenpopulation mit Epoxidharz-Allergie zu identifizieren, wurden die Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz denen mit negativer Reaktion auf DGEBA-Harz gegenübergestellt. Die Patienten mit fraglicher oder irritativer Reaktion wurden bei diesem Vergleich nicht berücksichtigt. Zwar handelt es sich bei den meisten dieser Reaktionen wahrscheinlich um unspezifische (irritative) Reaktionen; im Einzelfall kann

aber auch eine schwach ausgeprägte allergische Reaktion vorliegen. Der Sensibilisierungsstatus dieser Patienten ist also nicht eindeutig und könnte daher das Bild verwässern.

Tabelle 3.2.1.1 enthält die Beschreibung der beiden Populationen mit dem sogenannten MOAHLFA-Index [Schnuch et al. 1997]. Man erkennt unter den Epoxidharz-positiven Patienten einen erhöhten Anteil von Männern (56,2% vs. 37,5%), von Patienten mit Berufsdermatose (38,5% vs. 14,2%), von Patienten mit Handekzem (35,8% vs. 26,7%) und von Patienten mit Gesichtsekzem (19,5% vs. 15,5%). Dagegen ist unter den Epoxidharz-Positiven der Anteil von Patienten mit atopischer Dermatitis verringert (15,5% vs. 18,7%), ebenso der Anteil von Patienten mit Beineckzem (8,3% vs. 12,1%). Die Altersverteilung in beiden Gruppen ist ähnlich; in beiden Gruppen waren gut 70% der Patienten (72,7% bzw. 71,1%) über 40 Jahre und älter.

Tabelle 3.2.1.1:

MOAHLFA-Index der Patienten mit positiver Reaktion (n=1.453) und der Patienten mit negativer Reaktion (n=91.424) auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas.

	Epoxidharz-Positive	Epoxidharz-Negative
Männer	56,2 %	37,5 %
Berufsdermatose	38,5 %	14,2 %
Atopische Dermatitis	15,5 %	18,7 %
Handekzem	35,8 %	26,7 %
Beineckzem	8,3 %	12,1 %
Gesichtsekzem	19,5 %	15,5 %
Alter >= 40 Jahre	72,7 %	71,1 %

Tabelle 3.2.1.2 stellt die häufigsten aktuellen Berufe der Patienten der beiden Gruppen gegenüber. Man erkennt unter den Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz einen erhöhten Anteil von Malern und Lackierern (4,3% vs. 0,4%), Fußbodenlegern (1,9% vs. <0,1%), Maurern (1,5% vs. 0,3%), Fliesenlegern (1,2% vs. 0,1%), Laminierern (1,2% vs. <0,1%) und Kunststoffverarbeitern (1,2% vs. <0,1%). Dieses Bild spiegelt sich auch wider, wenn man die Berufe zu Gruppen zusammenfasst, wie es in Tabelle 3.2.1.3 wiedergegeben ist.

Tabelle 3.2.1.2:

Die häufigsten aktuellen Berufe der Patienten mit positiver Reaktion (n=1.453) und der Patienten mit negativer Reaktion (n=91.424) auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. Es sind alle Berufe angegeben, die in einer der beiden Gruppen bei mindestens 1% der Patienten genannt wurden.

Berufe	Epoxidharz-Positive	Epoxidharz-Negative
Rentner	20,9 %	28,0 %
Keine nähere Angabe	8,9 %	6,9 %
Hausfrau	5,9 %	7,8 %
Bürofachkraft	5,3 %	6,1 %
Arbeitslos	4,4 %	3,0 %
Maler, Lackierer	4,3 %	0,4 %
Fußbodenleger	1,9 %	< 0,1 %
Maurer	1,5 %	0,3 %
Fliesenleger	1,2 %	0,1 %
Laminierer	1,2 %	< 0,1 %
Krankenschwester, -pfleger	1,2 %	2,3 %
Kunststoffverarbeiter	1,2 %	< 0,1 %
Schüler, Student	1,2 %	4,7 %
Verkäufer (ohne nähere Angabe)	1,0 %	1,4 %
Altenpflegerin	0,8 %	1,0 %
Raumpflegerin	0,7 %	1,6 %
Friseurin	0,3 %	1,4 %

Tabelle 3.2.1.3:

Die häufigsten Gruppen der aktuellen Berufe der Patienten mit positiver Reaktion (n=1.453) und der Patienten mit negativer Reaktion (n=91.424) auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. Es sind alle Berufsgruppen angegeben, die in einer der beiden Patientengruppen bei mindestens 2 % der Patienten genannt wurden.

Berufsgruppen	Epoxidharz-Positive	Epoxidharz-Negative
Tätigkeiten mit unbestimmter Exposition	31,9 %	40,0 %
Büroberufe	10,4 %	12,4 %
Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter usw.	6,4 %	0,7 %
Hausfrauen, Hauswirtschafterinnen	6,2 %	8,2 %
Maler, Lackierer	5,0 %	0,6 %
Mechaniker, Maschinisten, Werkzeugmacher	4,5 %	3,0 %
Fehlende Angabe	3,8 %	3,1 %
Ingenieure, Mathematiker, Techniker, Architekten	3,6 %	2,2 %
Kunststoffverarbeiter	3,0 %	0,2 %
Übrige Gesundheitsdienstberufe	2,8 %	5,2 %
Sozialpflegerische Berufe, Lehrer, Seelsorger u.ä.	1,2 %	3,0 %

Frühere Berufe waren nur bei 16,9% der Patienten mit positiver Reaktion auf Epoxidharz und 12,1% der Patienten mit negativer Reaktion auf Epoxidharz angegeben. Auch hier zeigte sich eine Häufung der oben genannten Berufsgruppen unter den Patienten mit positiver Reaktion auf Epoxidharz, angeführt von Maurern, Fliesenlegern, Bauarbeitern usw. (2,0% vs. 0,4%) sowie Malern und Lackierern (1,5% vs. 0,2%).

Tabelle 3.2.1.4 zeigt einen Vergleich der mutmaßlichen Allergenquellen bei Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz und Patienten mit negativer Reaktion auf DGEBA-Harz. In der Dokumentation des IVDK können bis zu 3 Bereiche angegeben werden, in denen die auslösenden Allergene vermutet werden. Erwartungsgemäß sind unter den Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz folgende Kontaktstoffkategorien deutlich häufiger vertreten: Kleber (13,9% vs. 1,8%), Baustoffe (10,0% vs. 1,8%), Kunststoffe (10,0% vs. 1,7%) und Farben und Lacke (7,5% vs. 1,5%). Auch Gummi (sonstiges) und Handschuhe wurden in der Gruppe der Epoxidharz-Positiven etwas häufiger als mutmaßliche Allergenquelle genannt.

Tabelle 3.2.1.4:

Mutmaßliche Allergenquellen bei Patienten mit positiver Reaktion (n=1.453) und der Patienten mit negativer Reaktion (n=91.424) auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. In der IVDK-Dokumentation können bis zu 3 entsprechende Bereiche angegeben werden. Es sind alle Kontaktstoffkategorien angegeben, die in einer der beiden Patientengruppen bei mindestens 1 % der Patienten genannt wurden.

Kontaktstoff-Kategorie	Epoxidharz-Positive	Epoxidharz-Negative
Kosmetika, Cremes, Lichtschutzmittel	26,6 %	38,4 %
Medikamente, äußerlich	15,7 %	24,0 %
Kleber	13,9 %	1,8 %
Baustoffe (Zement, Fliesenkleber...)	10,0 %	1,8 %
Kunststoffe	10,0 %	1,7 %
Gummi (sonstiges)	7,8 %	6,7 %
Farben, Lacke	7,5 %	1,5 %
Handschuhe (Leder, Gummi, Stoff...)	7,1 %	6,3 %
Medikamente, innerlich	5,2 %	6,8 %
Seife, Duschgel, Shampoo, Zahncreme...	4,6 %	6,6 %
Entfällt / keine Angaben	4,3 %	3,4 %
Desinfektionsmittel	3,5 %	6,2 %
Chemikalien (sonstige)	3,4 %	1,3 %
Kühlschmierstoffe	3,2 %	2,7 %
Zahnprothesen, -brücken, -spangen	3,1 %	4,7 %
Parfüm, Deo, Rasierwasser...	2,9 %	3,7 %
Zahnfüllungsmaterialien (Amalgam usw...)	2,6 %	3,3 %
Kleidung, Textilien	2,4 %	3,5 %
Metalle (Verarbeitung, z.B. Dreher usw.)	2,4 %	2,3 %
Putz-, Reinigungs-, Waschmittel	2,1 %	2,8 %
Leder (sonstiges, z.B. Gürtel, Griffe..)	2,0 %	2,5 %
Sonstiges	2,0 %	2,7 %
Implantate, Osteosynthesematerial (Metall)	1,9 %	3,2 %
Friseurstoffe (Dauerwelle, Farbe, Gel..)	1,9 %	4,2 %
Lösungsmittel, Benzin...	1,6 %	0,5 %
Pflanzen (keine Nahrungsmittel)	1,5 %	1,9 %
Metalle (sonstige, z.B. Münzen)	1,4 %	2,1 %
Schuhe, Stiefel (Leder, Gummi, Stoff...)	1,4 %	2,5 %
Fette, Öle (keine Kühlschmierstoffe)	1,2 %	1,4 %
Farben / frisch gestrichene Räume	1,0 %	0,3 %
Nahrungsmittel (-zusätze)	1,0 %	1,9 %
Med. Hilfsmaterial (Nahtmaterial, EKG-Gel...)	1,0 %	1,2 %
Büromaterial	0,9 %	1,0 %
Schmuck, Armbanduhr o.ä. (Metall)	0,6 %	1,2 %

Unter den aktuellen Hauptabschlussdiagnosen ist bei den Patienten mit positiver Reaktion auf das DGEBA-Harz das allergische Kontaktekzem mit 47,1% deutlich häufiger vertreten als in der Gruppe der Epoxidharz-negativen (24,1%). Dies ist allerdings durch die Definition der Patientengruppen bedingt, da deren Mitglieder mindestens eine Sensibilisierung, nämlich gegen DGEBA-Harz, haben; in der Gruppe der Epoxidharz-Negativen dagegen sind auch Patienten, bei denen gar keine Sensibilisierung nachgewiesen wurde. Bemerkenswert ist dennoch, dass 3,2% der Epoxidharz-positiven Patienten ein aeroogenes Kontaktekzem (airborne dermatitis) hatten, während dies in der Vergleichsgruppe nur bei 0,5% der Fall war.

### *3.2.2 Weitere Sensibilisierungen (außer Komponenten von Epoxidharz-Systemen)*

Betrachtet man die alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen auf Allergene der DKG-Standardreihe, so fällt auf, dass unter den Patienten mit positiven Reaktionen auf DGEBA-Harz die Reaktionsquoten auf fast alle dieser Allergene deutlich, nämlich meist auf das Zwei- bis Dreifache erhöht sind (siehe Tabellen 3.2.2.1 und 3.2.2.2). Man kann daraus nicht auf eine spezielle Exposition schließen, die das Risiko für eine Epoxidharz-Sensibilisierung erhöht.

Es ist bekannt, dass Patienten, die bereits eine Kontaktallergie erworben haben, ganz allgemein ein erhöhtes Risiko für weitere Typ IV-Sensibilisierungen haben, unabhängig davon, wogegen sich die erste Sensibilisierung richtet [Brasch et al. 2006, Schnuch et al. 2008 c]. Definitionsgemäß liegt in der Untersuchungsgruppe, die ja gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisiert ist, eine solche Selektion von Patienten vor. Erwartungsgemäß wirkt sich dies auf die Zahl der weiteren insgesamt beobachteten positiven Reaktionen aus: Ohne Berücksichtigung des DGEBA-Harzes reagierten in der Untersuchungsgruppe 57,0% der Patienten (n=828) auf mindestens eine Substanz der Standardreihe, und in der Kontrollgruppe 41,4% der Patienten (n=37.818). Die 828 Patienten mit weiteren Sensibilisierungen waren im Mittel gegen 2,6 Allergene der Standardreihe (außer DGEBA-Epoxidharz) sensibilisiert. Bei den 37.818 Patienten der Kontrollgruppe lag dieser Wert bei 1,9 Allergenen.



Tabelle 3.2.2.1:

Patienten mit positiver Reaktion auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. (n=1.453): nicht adjustierte (rohe) sowie alters- und geschlechtsstandardisierte Quoten positiver Reaktionen auf Allergene der DKG-Standardreihe. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand, % pos. [95%-CI]
Epoxidharz	1453	1453	100,0 [99,7 - 100,0]	100,0 [100,0 - 100,0]
Nickelsulfat	1403	242	17,2 [15,3 - 19,3]	23,5 [20,6 - 26,5]
Duftstoff-Mix	1411	233	16,5 [14,6 - 18,6]	17,4 [14,9 - 19,9]
Perubalsam	1414	222	15,7 [13,8 - 17,7]	15,1 [12,8 - 17,4]
Kaliumdichromat	1413	141	10,0 [8,5 - 11,7]	9,5 [7,6 - 11,5]
Kobaltchlorid	1408	136	9,7 [8,2 - 11,3]	11,4 [9,1 - 13,6]
Kolophonium	1418	135	9,5 [8,0 - 11,2]	10,9 [8,7 - 13,1]
Duftstoff-Mix II	1058	117	11,1 [9,2 - 13,1]	12,3 [9,7 - 14,9]
Hydroxyisohexyl-3-cyclohexene-carboxaldehyd (HICC)	1402	100	7,1 [5,8 - 8,6]	8,5 [6,5 - 10,4]
Thiuram-Mix	1412	92	6,5 [5,3 - 7,9]	7,2 [5,3 - 9,0]
Wollwachsalkohole	1417	82	5,8 [4,6 - 7,1]	6,9 [5,1 - 8,6]
Terpentin	1417	81	5,7 [4,6 - 7,1]	6,4 [4,7 - 8,1]
Chlormethylisothiazolinon / Methylisothiazolinon (MCI/MI)	1417	69	4,9 [3,8 - 6,1]	4,8 [3,4 - 6,3]
Propolis	1416	62	4,4 [3,4 - 5,6]	4,3 [3,0 - 5,6]
Methyldibromoglutaronitril (Dibromdicyanobutan)	1106	61	5,5 [4,2 - 7,0]	4,9 [3,4 - 6,5]
Formaldehyd	1417	44	3,1 [2,3 - 4,1]	3,5 [2,2 - 4,9]
N-Isopropyl-N'-phenyl-p-phenylendiamin	1417	38	2,7 [1,9 - 3,7]	3,1 [1,9 - 4,3]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.2.2.1 (Fortsetzung):

Patienten mit positiver Reaktion auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. (n=1.453): nicht adjustierte (rohe) sowie alters- und geschlechtsstandardisierte Quoten positiver Reaktionen auf Allergene der DKG-Standardreihe. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand, % pos. [95%-CI]
Paraben-Mix	1415	36	2,5 [1,8 - 3,5]	2,9 [1,7 - 4,1]
Bronopol	1285	36	2,8 [2,0 - 3,9]	3,2 [1,9 - 4,4]
p-Phenylendiamin*	510	35	6,9 [4,8 - 9,4]	6,7 [3,9 - 9,5]
Mercapto-Mix ohne MBT (nur CBS,MBTS,MOR)	1401	35	2,5 [1,7 - 3,5]	2,8 [1,7 - 4,0]
p-tert-Butylphenol-Formaldehydharz	1416	34	2,4 [1,7 - 3,3]	2,6 [1,5 - 3,7]
Compositae Mix*	848	31	3,7 [2,5 - 5,1]	3,2 [1,8 - 4,5]
Kompositen-Mix*	530	30	5,7 [3,9 - 8,0]	6,8 [4,0 - 9,7]
Cetylstearylalkohol	1416	29	2,0 [1,4 - 2,9]	2,4 [1,4 - 3,5]

\* Verringerte Testzahl, da die Testsubstanz nicht während des gesamten Untersuchungszeitraumes Bestandteil der DKG-Standardreihe war.

Tabelle 3.2.2.2:

Patienten mit negativer Reaktion auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. (n=91.424): nicht adjustierte (rohe) sowie alters- und geschlechtsstandardisierte Quoten positiver Reaktionen auf Allergene der DKG-Standardreihe. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand. % pos. [95%-CI]
Nickelsulfat	90443	13232	14.6 [14.4 - 14.9]	16.7 [16.4 - 17.0]
Perubalsam	91158	7249	8.0 [7.8 - 8.1]	6.7 [6.6 - 6.9]
Duftstoff-Mix	91012	7134	7.8 [7.7 - 8.0]	7.0 [6.8 - 7.1]
Kobaltchlorid	91029	5218	5.7 [5.6 - 5.9]	6.4 [6.2 - 6.6]
Kaliumdichromat	91126	4319	4.7 [4.6 - 4.9]	4.6 [4.4 - 4.7]
Kolophonium	91184	3816	4.2 [4.1 - 4.3]	4.1 [3.9 - 4.2]
Duftstoff-Mix II	66770	3207	4.8 [4.6 - 5.0]	4.4 [4.3 - 4.6]
Wollwachsalkohole	91212	2543	2.8 [2.7 - 2.9]	2.6 [2.5 - 2.7]
Methyldibromoglutaronitril (Dibromdicyanobutan)	68950	2461	3.6 [3.4 - 3.7]	3.1 [3.0 - 3.2]
Propolis	91263	2262	2.5 [2.4 - 2.6]	2.3 [2.2 - 2.4]
Chlormethylisothiazolinon / Methylisothiazolinon (MCI/MI)	91236	2245	2.5 [2.4 - 2.6]	2.4 [2.3 - 2.5]
Hydroxyisohexyl-3-cyclohexene-carboxaldehyd (HICC)	90399	1982	2.2 [2.1 - 2.3]	2.1 [2.0 - 2.2]
Thiuram-Mix	91172	1954	2.1 [2.1 - 2.2]	2.1 [2.0 - 2.2]
Terpentin	91225	1810	2.0 [1.9 - 2.1]	1.8 [1.7 - 1.9]
p-Phenylendiamin*	33959	1535	4.5 [4.3 - 4.7]	4.7 [4.4 - 4.9]
Formaldehyd	91239	1144	1.3 [1.2 - 1.3]	1.3 [1.2 - 1.3]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.2.2.2 (Fortsetzung):

Patienten mit negativer Reaktion auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. (n=91.424): nicht adjustierte (rohe) sowie alters- und geschlechtsstandardisierte Quoten positiver Reaktionen auf Allergene der DKG-Standardreihe. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand. % pos. [95%-CI]
Paraben-Mix	91261	1107	1.2 [1.1 - 1.3]	1.1 [1.1 - 1.2]
Bronopol	82868	1051	1.3 [1.2 - 1.3]	1.1 [1.0 - 1.2]
Kompositen-Mix*	38062	1038	2.7 [2.6 - 2.9]	2.4 [2.3 - 2.6]
Cetylstearylalkohol	91274	835	0.9 [0.9 - 1.0]	0.7 [0.7 - 0.8]
Compositae Mix*	51094	717	1.4 [1.3 - 1.5]	1.3 [1.2 - 1.4]
p-tert-Butylphenol-Formaldehydharz	91264	708	0.8 [0.7 - 0.8]	0.8 [0.7 - 0.9]

\* Verringerte Testzahl, da die Testsubstanz nicht während des gesamten Untersuchungszeitraumes Bestandteil der DKG-Standardreihe war.

### 3.3. Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz

#### *3.3.1 Härter und Reaktivverdünner allgemein*

Weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen (Härter und Reaktivverdünner) wurden mit unterschiedlicher Häufigkeit epikutan getestet. Dies liegt unter anderem daran, dass einige Substanzen, wie z.B. Phenylglycidylether (PGE) oder Isophorondiamin (IPDA), während des gesamten Untersuchungszeitraumes als Epikutantestsubstanz zur Verfügung standen, während andere Substanzen wie z.B. 1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE) und 1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE) erst ab Oktober 2006 erhältlich waren. Weitere Testsubstanzen waren erst ab August 2008 Bestandteil der DKG-Testreihe „Kunstharze / Kleber“. Triethylentetramin (TETA) war nur in der DKG-Testreihe „Bau-Hauptgewerbe“ enthalten, und zwar bis August 2010. Das Epoxidharz auf Basis von Bisphenol F-diglycidylether (DGEBF-Harz) war nie Bestandteil einer DKG-Reihe, sondern wurde nur temporär im Rahmen der Studie EPOX 2002 epikutan getestet [Geier et al. 2004].

Bei 605 der 1.453 Patienten mit positiver Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Härter epikutan getestet: m-Xylidendiamin (MXDA), Isophorondiamin (IPDA), Diethylentriamin (DETA), Triethylentetramin (TETA), Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA). 491 dieser Patienten (81,2%) reagierten auf keinen der Härter positiv. 82 Patienten (13,6%) reagierten auf einen Härter, 27 Patienten (4,5%) auf 2 Härter, 4 Patienten (0,7%) auf 3, und 1 Patient (0,2%) auf 4 Härter.

Eine analoge Auswertung wurde auch mit Reaktivverdünnern vorgenommen. Dabei wurden Phenylglycidylether (PGE) und Cresylglycidylether (CGE), die ebenfalls epikutan getestet wurden, von der Auswertung ausgeschlossen, und zwar aus folgenden Gründen: PGE wird den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern zufolge in Epoxidharz-Produkten für die Bauwirtschaft nicht eingesetzt. Der aktuelle Einsatz von PGE in Epoxidharz-Produkten für andere Bereiche ist unwahrscheinlich. Etwaige positive Reaktionen auf PGE sind am ehesten als immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz anzusehen [Pontén et al 2004, Pontén et al. 2008]. CGE ist in aktuell eingesetzten Epoxidharz-Systemen kaum verbreitet; die klinische Relevanz positiver Testreaktionen auf CGE ist meist nicht zu klären. Aus der Studie EPOX 2002 [Geier et al. 2004, Geier 2010] ist bekannt, dass positive Testreaktionen auf CGE nahezu ausschließlich bei Patienten beobachtet werden, die gegen PGE sensibilisiert sind. Aufgrund der engen chemischen Verwandtschaft von CGE und PGE ist zu vermuten, dass hier immunologische Kreuzreaktionen vorliegen. Positive Reaktionen auf PGE und/oder CGE tragen also zur Aussage, wie häufig gegen Epoxidharz Sensibilisierte gleichzeitig auch gegen einen aktuell eingesetzten Reaktivverdünner sensibilisiert sind, nichts Relevantes bei.

Bei 576 der 1.453 Patienten mit positiver Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE), 1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE), Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE), Butylglycidylether (BGE) und p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE). 330 der 576 Patienten (57,3%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 79 Patienten (13,7%) reagierten auf einen Verdünner, 88 Patienten (15,3%) auf 2 Verdünner, 56 Patienten (9,7%) auf 3, 12 Patienten (2,1%) auf 4, und 11 Patienten (1,9%) auf 5 Reaktivverdünner.

Bei allen mit den Reaktivverdünnern epikutan getesteten Patienten wurden auch die 5 genannten Härter getestet; insofern handelt es sich also um dieselben Patienten, von denen 576 mit Härtern und Reaktivverdünnern getestet wurden, und 29 nur mit Härtern. Fasst man die Ergebnisse zusammen, um festzustellen wie häufig Reaktionen auf Härter *oder* Reaktivverdünner insgesamt waren, so ergibt sich Folgendes.

312 der 605 Patienten (51,6%), bei denen mindestens einer der 5 oben genannten Härter und/oder mindestens einer der 5 oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet wurde, reagierten auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. 97 Patienten (16,0%) reagierten positiv auf eine dieser Verbindungen, 90 Patienten (14,9%) auf 2, 56 Patienten (9,3%) auf 3, 23 Patienten (3,8%) auf 4, 22 Patienten (3,6%) auf 5, 4 Patienten (0,7%) auf 6 und 1 Patient (0,2%) auf 7 der 10 Härter und Verdünner.

In Tabelle 3.3.1.1 ist dargestellt, wie viele Patienten auf jeweils mindestens einen der oben genannten 5 Härter und/oder 5 Reaktivverdünner im Epikutantest positiv reagierten. Insgesamt 246 Patienten (40,7% von 605) reagierten auf mindestens einen Verdünner, und insgesamt 114 Patienten (18,8%) auf einen Härter. 67 Patienten reagierten auf mindestens einen Härter und mindestens einen Verdünner, das sind 27,2% derjenigen, die auf mindestens einen Verdünner reagierten (n=246), und 58,8% derjenigen, die auf mindestens einen Härter reagierten (n=114). 312 der 605 Patienten (51,6%) reagierten auf keinen der oben genannten Härter oder Verdünner.

Tabelle 3.3.1.1:

Häufigkeit positiver Reaktionen auf mindestens einen der epikutan getesteten Härter (MXDA, IPDA, DETA, TETA, TMHDA) und/oder Reaktivverdünner (1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, TMPTGE, BGE, PTBPGE) bei 605 mit mindestens einer dieser Substanzen getesteten Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz.

		Härter		
		Positiv	Nicht positiv	Summe
Reaktivverdünner	Positiv	67	179	246
	Nicht positiv	47	312	359
	Summe	114	491	605

### 3.3.2 Klinische und anamnestische Daten der gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisierten Patienten mit und ohne Reaktion auf Härter und/oder Reaktivverdünner

Von den 605 Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz, bei denen mindestens einer der 5 oben genannten Härter und/oder mindestens einer der 5 oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet wurde, reagierten 293 (48,4%) auf mindestens einen der 10 Härter oder Verdünner. Es stellt sich die Frage, ob diese Patienten eine besondere Exposition hatten oder andere Besonderheiten aufwiesen, die zur zusätzlichen Sensibilisierung gegen Härter und/oder Reaktivverdünner führten. Daher wurden die beiden gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten-Populationen mit und ohne Sensibilisierung gegen mindestens einen Härter oder Reaktivverdünner miteinander verglichen. In Tabelle 3.3.2.1 sind die MOAHLFA-Indices gegenübergestellt.

Tabelle 3.3.2.1:

MOAHLFA-Index der gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten mit (n=293) und ohne (n=312) Sensibilisierung gegen mindestens einen Härter oder Reaktivverdünner.

	Patienten mit Reaktion auf mindestens einen Härter oder Verdünner		Patienten ohne Reaktion auf Härter oder Verdünner	
	n	%	n	%
Männer	244	88,3 %	222	71,2 %
Berufsdermatose	227	77,5 %	202	64,7 %
Atopische Dermatitis	45	15,4 %	43	13,8 %
Handekzem	150	51,2 %	141	45,2 %
Beinekzem	6	2,0 %	7	2,2 %
Gesichtsekzem	57	19,5 %	70	22,4 %
Alter >= 40 Jahre	172	58,7 %	211	67,6 %

Unter den Patienten mit zusätzlicher Sensibilisierung gegen einen Härter oder Reaktivverdünner waren signifikant mehr Männer, mehr Patienten mit Berufsdermatose, und mehr Patienten unter 40 Jahren. Alle anderen Unterschiede waren nicht signifikant. Auch bei der prozentualen Verteilung der aktuellen Berufe und der mutmaßlichen Allergenquellen gab es geringe Unterschiede. Alle diese Differenzen waren jedoch so gering, dass daraus keine weiterreichenden Schlüsse im Hinblick auf besondere berufliche oder außerberufliche Risiken oder besondere Expositionen gezogen werden könnten, die vermehrt zur Sensibilisierung gegen Härter und/oder Reaktivverdünner bei Patienten mit Epoxidharz-Allergie führen.

Auch die vier Subgruppen Härter + / Verdünner + (n=67), Härter + / Verdünner - (n=47), Härter - / Verdünner + (n=179) und Härter - / Verdünner - (n=312) wurden einer näheren Analyse hinsichtlich ihrer Zusammensetzung unterzogen. Dabei fielen zwar ebenfalls einige Unterschiede in der Häufigkeit der aktuellen Berufe auf, die aber nicht statistisch signifikant waren. Tendenziell waren in der Gruppe Härter - / Verdünner - (n=312) weniger Männer und weniger Patienten mit Berufsdermatose vertreten als in den anderen Gruppen, besonders als in der Gruppe Härter + / Verdünner + (n=67). Da die Analyse der Populations-Zusammensetzung dieser 4 Subgruppen keine näheren relevanten Erkenntnisse im Sinne der übergeordneten Fragestellung ergab, werden die Daten hier nicht im Detail vorgestellt.



### 3.3.3 Härter und Reaktivverdünner im Einzelnen

In Tabelle 3.3.3.1 sind die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen weiteren Komponenten von Epoxidharz-Systemen zusammengestellt, die bei Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz beobachtet wurden. Unter den Reaktivverdünnern waren 1,6-HDDGE und 1,4-BDDGE mit 42,3% bzw. 34,3% positiven Reaktionen die häufigsten Allergene, gefolgt von PGE, PTBPGE und CGE. Unter den Amin-Härtern war MXDA mit 18,2% positiven Reaktionen das häufigste Allergen, gefolgt von IPDA mit 9,7% positiven Reaktionen.

Tabelle 3.3.3.1:

Patienten mit positiver Reaktion auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. (n=1.453): Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	115	78	67,8 [58,5 – 76,2]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	452	191	42,3 [37,7 – 47,0]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	452	155	34,3 [29,9 – 38,9]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	615	178	28,9 [25,4 – 32,7]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	340	93	27,4 [22,7 – 32,4]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	575	86	15,0 [12,1 – 18,1]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	569	61	10,7 [8,3 – 13,6]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	341	26	7,6 [5,0 – 11,0]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	340	62	18,2 [14,3 – 22,8]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	580	56	9,7 [7,4 – 12,4]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	285	14	4,9 [2,7 – 8,1]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	321	15	4,7 [2,6 - 7,6]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	294	5	1,7 [0,6 – 3,9]

### 3.3.4 Reaktionskopplungen

Aus Tabelle 3.3.3.1 ist zu entnehmen, dass bei 115 der Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz auch ein Epoxidharz auf Basis von DGEBF epikutan getestet wurde. 78 dieser 115 Patienten reagierten positiv, das entspricht 67,8%. Um ein vollständiges Bild von der Kopplung der Reaktionen auf DGEBA-Harz und DGEBF-Harz zu erhalten, wurden nicht nur die Reaktionen auf DGEBF-Harz unter den Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz betrachtet, sondern sämtliche parallele Testungen dieser beiden Testsubstanzen in den Jahren 2002 bis 2011 ausgewertet. Von den 248 mit beiden Harzen getesteten Patienten reagierten 115 positiv auf DGEBA-Harz (46,4%) und 83 positiv auf DGEBF (33,5%). 78 Patienten reagierten auf beide Harze, das sind 94,0% der Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBF-Harz bzw. 67,8% der Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz. Anders formuliert: Etwa zwei Drittel der gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten reagierten auch allergisch auf DGEBF-Harz; isolierte Reaktionen auf DGEBF-Harz ohne gleichzeitige Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz kommen dagegen nur sehr selten vor.

Einerseits sind auch Mono- und Oligomere des Epoxidharzes auf Basis von DGEBF starke Sensibilisatoren. Andererseits wurden im Tierversuch immunologische Kreuzreaktionen zwischen DGEBA und einigen Isomeren des DGEBF nachgewiesen. Bei exponierten Menschen besteht in der Regel eine Ko-Exposition gegenüber DGEBA und DGEBF, da kalt härtende Epoxidharz-Systeme meist beides enthalten. Gleichzeitige allergische Reaktionen auf DGEBA und DGEBF können daher sowohl durch immunologische Kreuzreaktionen als auch durch Ko-Sensibilisierung bei Ko-Exposition bedingt sein [Pontén et al. 2002].

Durch Tierversuche ist außerdem bekannt, dass bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA auf dem Boden einer immunologischen Kreuzreaktion auch eine Sensibilisierung gegen PGE entstehen kann [Pontén et al. 2004, Pontén et al. 2008]. DGEBA-Harz und PGE wurden bei insgesamt 13.565 Patienten parallel epikutan getestet. 615 dieser Patienten reagierten positiv auf das DGEBA-Harz (4,5%) und 217 Patienten (1,6%) reagierten positiv auf PGE. 178 Patienten reagierten sowohl auf DGEBA-Harz als auch auf PGE, das sind 82,0% der 217 Patienten mit positiver Reaktion auf PGE bzw. 28,9% der 615 Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz. Isolierte Reaktionen auf PGE ohne gleichzeitige Reaktion auf DGEBA-Harz sind also selten, während umgekehrt nur ein kleiner Teil der Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz auch auf PGE allergisch reagiert.

Gemeinsame Reaktionen auf verschiedene, chemisch verwandte Glycidylether sind in Tabelle 3.3.4.1 zusammengestellt.

1,6-HDDGE und 1,4-BDDGE wurden bei insgesamt 452 Patienten gleichzeitig epikutan getestet. 191 Patienten (42,3%) reagierten positiv auf 1,6-HDDGE, und 155 Patienten (34,3%) auf 1,4-BDDGE. 144 Patienten reagierten auf beide aliphatische Glycidylether, das sind 92,9% der Patienten mit positiver Reaktion auf 1,4-BDDGE bzw. 75,4% der Patienten mit positiver Reaktion 1,6-HDDGE.

PGE und CGE wurden bei 562 Patienten parallel epikutan getestet. 175 Patienten (31,1%) reagierten positiv auf PGE, und 81 Patienten positiv auf CGE. 77 Patienten reagierten auf beide Glycidylether, das sind 95,1% der Patienten mit positiver Reaktion auf CGE bzw. 44% der Patienten mit positiver Reaktion auf PGE.

Bei insgesamt 331 Patienten wurden PGE und PTBPGE parallel epikutan getestet. 93 Patienten (28,1%) reagierten auf PGE, und 88 Patienten (26,6%) positiv auf PTBPGE. Auf beide Glycidylether reagierten 56 Patienten positiv, das sind 63,6% der Patienten mit positiver Reaktion auf PTBPGE bzw. 60,2% der Patienten mit positiver Reaktion auf PGE.

CGE und PTBPGE wurden bei 336 Patienten parallel getestet. 44 der 336 Patienten (13,1%) reagierten positiv auf CGE, und 91 Patienten (27,1%) positiv auf PTBPGE. 28 Patienten reagierten auf beide Glycidylether, das sind 30,8% der Patienten mit positiver Reaktion auf PTBPGE bzw. 63,6% der Patienten mit positiver Reaktion auf CGE.

Tabelle 3.3.4.1:

Ergebnisse paralleler Testungen mit verschiedenen, chemisch verwandten Glycidylethern.

		1,4-BDDGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
1,6-HDDGE	pos.	144	47	191
	neg., fragl., ir.	11	250	261
	Summe	155	297	452
		CGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
PGE	pos.	77	98	175
	neg., fragl., ir.	4	383	387
	Summe	81	481	562

Fortsetzung nächste Seite.

Tabelle 3.3.4.1 (Fortsetzung):

Ergebnisse paralleler Testungen mit verschiedenen, chemisch verwandten Glycidylethern.

		PTBPGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
PGE	pos.	56	37	93
	neg., fragl., ir.	32	206	238
	Summe	88	243	331
		PTBPGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
CGE	pos.	28	16	44
	neg., fragl., ir.	63	229	292
	Summe	91	245	336

Tabelle 3.3.4.2 gibt die Reaktionskombinationen zwischen den drei aromatischen Glycidylethern PGE, CGE und PTBPGE wieder. Während isolierte Reaktionen sowohl auf PGE als auf PTBPGE relativ häufig sind (7,6% bzw. 9,7%) sind isolierte Reaktionen auf CGE eine Rarität (0,9%). Die meisten Reaktionen auf CGE sind mit Reaktionen auf PGE oder auf PGE *und* PTBPGE vergesellschaftet.

Tabelle 3.3.4.2:

Reaktionskopplungen zwischen PGE, CGE und PTBPGE. Positive Reaktionen wurden als „+“ abgekürzt; negative, fragliche und irritative Reaktionen wurden unter „-“ subsummiert.

PGE	CGE	PTBPGE	Anzahl	Prozent
+	-	-	25	7,6
+	+	-	12	3,7
+	-	+	28	8,5
+	+	+	28	8,5
-	+	-	3	0,9
-	+	+	0	0,0
-	-	+	32	9,7
-	-	-	201	61,1

Zwischen BGE und 1,4-BDDGE besteht nicht so eine enge chemische Verwandtschaft wie z.B. zwischen 1,6-HDDGE und 1,4-BDDGE. Wir haben dennoch die Kreuzreaktionen zwischen BGE und 1,4-BDDGE ausgewertet (siehe Tabelle 3.3.4.3), und zwar aus folgendem Grund. Butylglycidylether (BGE) wird nach Angaben von GISBAU und der Deutschen Bauchemie nicht in Epoxidharz-Systemen in der Bauwirtschaft eingesetzt. Dennoch sehen wir relativ viele positive Reaktionen. Das kann selbstverständlich daran liegen, dass BGE in anderen Bereichen eingesetzt wird. Es stellt sich aber auch die Frage, ob es nicht eventuell immunologische Kreuzreaktionen zwischen BGE und 1,4-BDDGE geben könnte, ob nicht also Patienten mit primärer Sensibilisierung gegen 1,4-BDDGE auch auf BGE reagieren.

Tabelle 3.3.4.3:

Ergebnisse paralleler Testungen mit BGE und 1,4-HDDGE.

		1,4-BDDGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
BGE	pos.	60	13	73
	neg., fragl., ir.	171	6.019	6.190
	Summe	231	6.032	6.263

BGE und 1,4-BDDGE wurden in den Jahren 2002 bis 2011 im IVDK bei insgesamt 6.263 Patienten gleichzeitig epikutan getestet. 73 Patienten (1,2%) reagierten positiv auf BGE, und 231 Patienten (3,7%) auf 1,4-BDDGE. 60 Patienten reagierten auf beide aliphatischen Glycidylether, das sind 83,3% der Patienten mit positiver Reaktion auf BGE bzw. 26,0% der Patienten mit positiver Reaktion 1,4-BDDGE. Unseres Erachtens könnte dies ein Hinweis auf immunologische Kreuzreaktionen sein. Über die Metabolisierung des 1,4-BDDGE ist nicht viel bekannt; es wäre aber denkbar, dass es zunächst "an einer Seite" gespalten wird (möglicherweise durch Hydrolyse), so dass ein dann noch monofunktionaler (reaktiver) Rest, der dem BGE recht ähnlich ist, verbleibt. Gesichert ist dies selbstverständlich nicht. Es würde aber erklären, warum trotz geringer Exposition relativ häufig Sensibilisierungen gegen BGE beobachtet werden, und warum so wenige dieser Sensibilisierungen isoliert auftreten, und positive Reaktionen auf BGE meist bei Patienten beobachtet werden, die gegen 1,4-BDDGE sensibilisiert sind.

Die vorstehenden Datenauswertungen über Kreuzreaktionen zwischen aromatischen Glycidylethern und aliphatischen Glycidylethern wurden vorwiegend unter dem Aspekt möglicher immunologischer Kreuzreaktionen vorgenommen. Patienten mit Kontaktallergie gegen Epoxidharz sind jedoch meist synchron oder metachron gegenüber verschiedenen

Epoxidharz-Systemen exponiert, so dass auch gleichzeitige Sensibilisierungen gegen chemisch nicht verwandte Stoffe als Ausdruck einer Kopplungsallergie (im Gegensatz zur immunologischen Kreuzreaktion) auftreten können.

Aus diesem Grund wurden auch gleichzeitige Reaktionen auf Amin-Härter ausgewertet, obwohl die unterschiedlichen chemischen Strukturen keine immunologischen Kreuzreaktionen vermuten lassen. Die beiden Amin-Härter MXDA und IPDA wurden bei insgesamt 338 Patienten parallel epikutan getestet. 62 Patienten (18,3%) reagierten positiv auf MXDA, und 32 Patienten (9,5%) auf IPDA. Gleichzeitige Reaktionen auf beide Amin-Härter wurden bei 20 Patienten beobachtet, das sind 62,5% der 32 Patienten mit positiver Reaktion auf IPDA bzw. 32,3% der 62 Patienten mit positiver Reaktion auf MXDA.

DETA und TETA wurden bei insgesamt 102 Patienten parallel epikutan getestet. 7 Patienten (6,9%) reagierten positiv auf DETA, und 4 Patienten (3,9%) auf TETA. Gleichzeitige Reaktionen auf beide Amin-Härter wurden bei einem Patienten beobachtet.

Während man aufgrund der geringen Zahl positiver Reaktionen keine Aussage in Bezug auf die Paarung DETA / TETA treffen kann, zeigt sich eine mäßige Konkordanz positiver Reaktionen auf MXDA und IPDA, die wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, dass beide Amin-Härter in Epoxidharz-Systemen sehr weit verbreitet sind, daher sequentielle oder parallele Expositionen häufiger sind, und beide relativ häufig sensibilisieren.

### *3.3.5 Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen*

Ein Vergleich der in Abschnitt 3.3.3 (Tabelle 3.3.3.1) beschriebenen Häufigkeiten von Sensibilisierungen gegen weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen bei Patienten mit nachgewiesener Epoxidharz-Allergie mit der Verbreitung dieser Komponenten in Epoxidharz-Systemen ist nur eingeschränkt möglich, denn erstens liegen keine detaillierten Daten zur Verbreitung vor, sondern nur eine grobe Klassifikation nach der Häufigkeit der Nennung in Sicherheitsdatenblättern, die bei GISBAU vorliegen (siehe Abschnitt 2, Tabelle 2.3), und zweitens beziehen sich diese Häufigkeitsangaben ausschließlich auf Produkte aus dem Bau-Bereich. Da aber keine besseren Daten zur Verbreitung der jeweiligen Komponenten in Epoxidharz-Systemen verfügbar sind, wird diese Datengrundlage – im Bewusstsein ihrer Einschränkungen – dennoch herangezogen.

Tabelle 3.3.5.1:

Gegenüberstellung der Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz und der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind.

Substanz	Sensibilisierungs-Quote	Häufigkeit in SiDaBs
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	67,8 [58,5 – 76,2]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	42,3 [37,7 – 47,0]	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	34,3 [29,9 – 38,9]	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	28,9 [25,4 – 32,7]	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	27,4 [22,7 – 32,4]	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)	15,0 [12,1 – 18,1]	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	10,7 [8,3 – 13,6]	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	7,6 [5,0 – 11,0]	selten / kaum verbreitet
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	18,2 [14,3 – 22,8]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	9,7 [7,4 – 12,4]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerenmischung; TMHDA)	4,9 [2,7 – 8,1]	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	4,7 [2,6 - 7,6]	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	1,7 [0,6 – 3,9]	häufig / weit verbreitet

Wenn die in Tabelle 3.3.5.1 genannten Substanzen eine vergleichbare oder ähnliche sensibilisierende Potenz hätten, so wäre eine gewisse Parallelität zwischen der Verbreitung und der Sensibilisierungsquote zu erwarten. Eine solche Parallelität ist aber nur sehr eingeschränkt feststellbar; einige der kaum verbreiteten Substanzen weisen bemerkenswert hohe Sensibilisierungsquoten auf.

Unter den Reaktivverdünnern ist lediglich bei 1,6-HDDGE und TMPTGE eine gewisse Parallelität im oben beschriebenen Sinne feststellbar; die Reaktionsquote auf das weit verbreitete 1,6-HDDGE ist mit 42,3% deutlich höher als die Quote der Sensibilisierungen auf TMPTGE (7,6%), das nur selten in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe eingesetzt wird. Allerdings unterscheiden sich die Nennungen in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern um das Zwölfwache ( $1,6\text{-HDDGE} / \text{TMPTGE} = 321 / 26$ ), die Reaktionsquoten aber nur um das 5,5fache. Bei allen anderen Glycidylethern verzerren die im Abschnitt 3.3.3 beschriebenen immunologischen Kreuzreaktionen bzw. Reaktionskopplungen das Bild. Aufgrund immunologischer Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen 1,6-HDDGE werden Sensibilisierungen gegen 1,4-BDDGE deutlich häufiger beobachtet, als es aufgrund der geringen Verbreitung von 1,4-BDDGE zu erwarten gewesen wäre. Analoges gilt für die häufig beobachteten Sensibilisierungen gegen den überhaupt nicht mehr eingesetzten PGE, die auf immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA zurückzuführen sind. CGE wird nicht häufiger eingesetzt als TMPTGE. Sensibilisierungen gegen CGE werden aber doppelt so häufig beobachtet, was sicherlich – ähnlich wie im Fall des PGE – auf immunologische Kreuzreaktionen zurückzuführen ist. Auch ein Teil der Sensibilisierungen gegen den selten eingesetzten PTBPGE sind möglicherweise auf immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung anderen Ursprungs zurückzuführen.

Man kann hier also aus relativ hohen Sensibilisierungsquoten bei relativ geringer Verbreitung der jeweiligen Substanz nicht unbedingt auf eine hohe sensibilisierende Potenz *sensu strictu* schließen. Für die Beurteilung der sensibilisierenden Wirkung eines solchen Stoffes *in der Praxis*, also bei Verwendung des jeweiligen Stoffes in einem Epoxidharzprodukt, sind diese Daten dennoch wichtig und aussagekräftig. Wenn eine Sensibilisierung gegen ein Epoxidharz auf Basis von DGEBA durch immunologische Kreuzreaktionen auch zu einer allergischen Reaktion auf PGE und unter Umständen auch weitere aromatische Glycidylether führt, so ist deren Verwendung in Epoxidharz-System eher ungünstig, da durch ihren Einsatz der Gesamt-Allergengehalt des Produktes steigt.

Im Falle des BGE, der überhaupt nicht in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe eingesetzt wird, ist die sensibilisierende Wirkung schwer zu beurteilen. Aus den Analysen von Reaktionskopplungen ergeben sich Hinweise darauf, dass Sensibilisierungen gegen BGE auf dem Boden von immunologischen Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen 1,4-BDDGE entstehen könnten (siehe oben). Wenn das tatsächlich so ist, dann wäre BGE unter klinisch-epidemiologischen Aspekten allergologisch nicht anders zu beurteilen als



1,4-BDDGE (und damit auch 1,6-HDDGE). Wenn man dagegen die – nicht durch Tierversuche abgesicherte – Annahme immunologischer Kreuzreaktionen zwischen 1,4-BDDGE und BGE *nicht* aufrecht erhält, so ergäbe die Kombination von 10,7% positiven Reaktionen bei mutmaßlich extrem geringer Exposition einen Hinweis auf eine sehr starke sensibilisierende Wirkung von BGE.

Da es offenbar unter den Amin-Härtern weniger immunologische Kreuzreaktionen gibt, ist hier das Bild etwas eindeutiger. Am meisten verbreitet sind IPDA und MXDA, wobei IPDA mehr als 1,5mal so häufig wie MXDA in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern genannt ist ( $IPDA / MXDA = 1009 / 608$ ). Die Sensibilisierungsquote von MXDA (18,2%) ist jedoch fast doppelt so hoch wie die auf IPDA (9,7%). Dies spricht dafür, dass MXDA eine stärkere sensibilisierende Wirkung entfaltet als IPDA, was bei der Gesamtbewertung dieser Amin-Härter berücksichtigt werden sollte. TMHDA und TETA sind in Tabelle 3.3.5.1 in derselben Häufigkeitskategorie „häufig / weit verbreitet“ vertreten. Diese Kategorie ist jedoch relativ groß (100 – 350 Nennungen), und TETA liegt mit 138 Nennungen in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern eher am unteren Ende, während TMHDA mit 320 Nennungen am oberen Ende dieser Kategorie liegt (siehe Tabelle 2.3). Möglicherweise erklärt sich durch diese unterschiedlichen Häufigkeiten auch die höhere Sensibilisierungsquote gegen TMHDA. Dagegen ist bemerkenswert, dass DETA, das in nur 65 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern genannt wurde, ähnlich häufig wie TMHDA zu Sensibilisierungen führt. Da keine immunologischen Kreuzreaktionen bekannt sind, die die hohe Sensibilisierungsquote auf DETA erklären würden, spricht dies für eine stärkere sensibilisierende Wirkung als diejenige von TMHDA.

Wie oben ausgeführt, ist aufgrund der zahlreichen immunologischen Kreuzreaktionen und Reaktionskopplungen anhand der vorliegenden klinisch-epidemiologischen Daten zur Sensibilisierung gegen die unterschiedlichen Reaktivverdünner ein Ranking der in Tabelle 3.3.5.1 genannten Glycidylether hinsichtlich ihrer sensibilisierenden Wirkung nicht möglich. Bei den Amin-Härtern würde man aufgrund der Angaben zur Sensibilisierungshäufigkeit einerseits und der Häufigkeit der Nennung in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern andererseits durch Bildung eines Quotienten folgendes Ranking der sensibilisierenden Wirkung erstellen:  $DETA > MXDA > TMHDA > TETA > IPDA$ . Dabei ist allerdings festzuhalten, dass die Unterschiede zwischen TMHDA, TETA und IPDA sehr gering sind; dagegen erweisen sich DETA und MXDA relativ deutlich als offenbar stärkere Allergene.

Mit einer anderen methodischen Herangehensweise, nämlich der Ermittlung des sogenannten Sensitization Exposure Quotient (SEQ), kommt man zu einem ähnlichen Ergebnis. Ein solcher SEQ wurde im Zusammenhang mit Kontaktallergien gegen Konservierungsmittel in Körperpflegeprodukten ermittelt, um die sensibilisierende Wirkung der einzelnen Konservierungsmittel vergleichen zu können [Schnuch et al. 2011]. Dabei wurde die Gesamtheit der allergischen Reaktionen auf Konservierungsmittel betrachtet und ermittelt, wie viel Prozent dieser Reaktionen zu Lasten welchen Konservierungsmittels gehen, also wie hoch der Anteil der Sensibilisierungen gegen ein bestimmtes Konservierungsmittel an der Gesamtmenge der allergischen Reaktionen auf alle Konservierungsmittel zusammen ist. (Dies ist eine andere Betrachtung als die üblichen Sensibilisierungsquoten, wie sie z.B. auch in Tabelle 3.3.5.1 genannt sind, bei denen die Zahl der gegen eine bestimmte Substanz sensibilisierten Patienten zur Zahl der mit dieser Substanz getesteten Patienten in Relation gesetzt wird.) Zur Expositionsermittlung wurden Nennungen dieser Konservierungsmittel in Kosmetika und Körperpflegeprodukten gezählt. Auch hier wurde der Anteil der Nennungen jedes einzelnen Konservierungsmittels an der Gesamtmenge der Nennungen aller Konservierungsmittel ermittelt. Dies entspricht dem Vorgehen, wie wir es zur Kategorisierung der Häufigkeit bestimmter Komponenten von Epoxidharz-Systemen angewandt haben. Auch hier wurde die Gesamtzahl der Nennungen in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern als Grundgesamtheit genommen, und dann betrachtet, wie häufig die einzelnen Komponenten aufgeführt wurden.

Wenn man das Verfahren des SEQ auf die Amin-Härter anwendet, so hätte man eine Grundgesamtheit von insgesamt 152 allergischen Reaktionen auf MXDA, IPDA, TMHDA, DETA und TETA (siehe Tabelle 3.3.3.1). Dieselben 5 Amin-Härter sind in insgesamt 2140 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern aufgeführt (siehe Tabelle 2.3). In Tabelle 3.3.5.2 ist nun der Anteil der allergischen Reaktionen auf jeden einzelnen Amin-Härter an den insgesamt 152 allergischen Reaktionen auf alle 5 Amin-Härter zusammen dem Anteil der Nennungen in Sicherheitsdatenblättern an den insgesamt 2140 Sicherheitsdatenblättern gegenübergestellt. Mittels Division des prozentualen Anteils der allergischen Reaktionen an der Gesamtmenge der allergischen Reaktionen auf Amin-Härter (Spalte 3) durch den Anteil der Nennungen des einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge von 2140 Sicherheitsdatenblättern (Spalte 5) wird der SEQ berechnet. Der SEQ ist in Spalte 6 aufgeführt. Wie man sieht, ergibt sich dasselbe Ranking wie bereits erwähnt: DETA hat den höchsten SEQ (3,3) gefolgt von MXDA (1,4), IPDA (0,8), TMHDA (0,6) und TETA (0,5). Der SEQ von IPDA wird bei dieser Berechnung möglicher Weise überschätzt, da IPDA fast doppelt so häufig getestet wurde wie die anderen Amin-Härter, so dass auch entsprechend mehr Sensibilisierungen festgestellt wurden, die in die Berechnung eingeflossen sind.

(Würde man unter der Annahme von 10% positiven Reaktionen auf IPDA bei 340 Testungen (Testzahl wie MXDA) die SEQs berechnen, so ergäben sich folgende Werte: DETA – 3,8; MXDA – 1,7; TMHDA – 0,7; IPDA – 0,6; TETA – 0,6.)

Tabelle 3.3.5.2:

Ermittlung eines „Sensitization Exposure Quotient“ (SEQ) durch Gegenüberstellung des Anteils der Sensibilisierungen gegen einzelne Amin-Härter an der Gesamtmenge der Sensibilisierungen gegen Amin-Härter (Spalte 3) und des Anteils der einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge der Nennungen dieser Amin-Härter in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) (Spalte 5). Der SEQ (Spalte 6) wird ermittelt, indem der Wert in Spalte 3 durch den Wert in Spalte 5 dividiert wird.

Substanz	Anzahl Sensibilisierungen	Anteil an 152 Sensibil. gegen Amin-Härter	Anzahl Nennungen in SiDaBs	Anteil an 2.140 Nennungen in SiDaBs	SEQ
m-Xylidendiamin (MXDA)	62	40,8 %	608	28,4 %	1,4
Isophorondiamin (IPDA)	56	36,8 %	1009	47,1 %	0,8
Trimethylhexan-1,6-diamin	14	9,2 %	320	15,0 %	0,6
Diethylentriamin (DETA)	15	10,0 %	65	3,0 %	3,3
Triethylentetramin (TETA)	5	3,3 %	138	6,5 %	0,5

### 3.4. Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei Patienten ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz

#### *3.4.1 Härter und Reaktivverdünner allgemein*

Für die übergeordnete Fragestellung sind Sensibilisierungen gegen weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen (Härter und Reaktivverdünner) bei Patienten ohne Sensibilisierung gegen das Harz selbst insofern von besonderem Interesse, als entsprechende Sensibilisierungen nicht im Rahmen der Routinediagnostik mit der Epikutantest-Standardreihe, sondern nur bei gezielter Diagnostik erkannt werden. Wie bei den Epoxidharz-Positiven, so wurden die Härter und Reaktivverdünner auch bei den Patienten mit negativen Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz mit unterschiedlicher Häufigkeit epikutan getestet.

Bei 9.651 der 91.424 Patienten mit negativer Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Härter epikutan getestet: m-Xylidendiamin (MXDA), Isophorondiamin (IPDA), Diethylentriamin (DETA), Triethylentetramin (TETA), Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA). 9.554 dieser Patienten (99,0%) reagierten auf keinen der Härter positiv. 85 Patienten (0,9%) reagierten auf einen Härter, 11 Patienten (0,1%) auf 2 Härter, und 1 Patient (0,01%) auf 3 Härter.

Eine analoge Auswertung wurde auch mit Reaktivverdünnern vorgenommen. Dabei wurden Phenylglycidylether (PGE) und Cresylglycidylether (CGE) aus den in Abschnitt 3.3.1 genannten Gründen von der Auswertung ausgeschlossen.

Bei 8.445 der 91.424 Patienten mit negativer Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE), 1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE), Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE), Butylglycidylether (BGE) und p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE). 8.383 der 8.445 Patienten (99,3%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 32 Patienten (0,4%) reagierten auf einen Verdünner, 22 Patienten (0,3%) auf 2 Verdünner, 5 Patienten (0,06%) auf 3, 2 Patienten (0,02%) auf 4, und 1 Patient (0,01%) auf 5 Reaktivverdünner.

Bei insgesamt 9.666 Patienten wurde mindestens einer der fünf oben genannten Härter und/oder mindestens einer der fünf oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet. Von diesen 9.666 Patienten reagierten 9.520 (98,5%) auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. 101 Patienten (1,0%) reagierten positiv auf eine dieser Verbindungen, 29 Patienten (0,3%) auf 2, 10 Patienten (0,1%) auf 3, 5 Patienten (0,05%) auf 4, und 1 Patient (0,01%) auf 5 der 10 Härter und Verdünner.

146 Patienten reagierten also auf mindestens einen Härter oder Verdünner, das sind 1,5% der insgesamt 9.666 mit mindestens einem Härter oder Verdünner getesteten Patienten.

### 3.4.2 Klinische und anamnestische Daten der nicht gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisierten Patienten mit Sensibilisierung gegen Härter und/oder Reaktivverdünner

Tabelle 3.4.2.1 enthält die Beschreibung dieser 146 Patienten mit dem sogenannten MOAHLFA-Index [Schnuch et al. 1997]. Ein Vergleich dieser Patientengruppe mit den gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisierten Patienten mit Sensibilisierung gegen Härter und/oder Reaktivverdünner wird in Abschnitt 3.5.4 vorgenommen.

Tabelle 3.4.2.1:

MOAHLFA-Index der 146 Patienten der nicht gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisierten Patienten mit Sensibilisierung gegen Härter und/oder Reaktivverdünner

	Epoxidharz-Negative mit Sensibilisierung gegen Härter und/oder Verdünner
Männer	74,0 %
Berufsdermatose	61,0 %
Atopische Dermatitis	18,5 %
Handekzem	55,5 %
Beinekzem	4,8 %
Gesichtsekzem	11,6 %
Alter >= 40 Jahre	67,1 %

Unter den aktuellen Berufen waren Maler und Lackierer mit 8,9% vertreten, Maurer, Fliesenleger und verwandte Berufe mit 8,2%. Kunststoffverarbeiter machten 4,8% der Betroffenen aus. Diese Quoten sind durchweg höher als bei den Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz (siehe Tabelle 3.2.1.3), was dafür spricht, dass auch diese Patienten eine berufliche Exposition hatten, die für den Erwerb dieser Sensibilisierungen geeignet war. Es handelt sich also sehr wahrscheinlich nicht um Zufallsbefunde oder falsch-positive Reaktionen. Die vermuteten Allergenquellen lagen bei 34 Patienten (23,3%) im Bereich der Kleber, bei 26 Patienten (17,8%) bei den Baustoffen, bei 25 Patienten (17,1%) im Bereich der Kunststoffe, und bei 20 Patienten (13,7%) im Bereich Farben und Lacke. Unter den Abschlussdiagnosen dominierte das allergische Kontaktekzem (87 Patienten = 59,6%), gefolgt vom chronischen irritativen Kontaktekzem (14 Patienten = 9,6%). Ein aerogenes Kontaktekzem wurde bei nur 5 Patienten (3,4%) diagnostiziert.

### 3.4.3 Härter und Reaktivverdünner im Einzelnen

In Tabelle 3.4.3.1 sind die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen weiteren Komponenten von Epoxidharz-Systemen zusammengestellt, die bei Patienten mit negativer Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz beobachtet wurden. Die Testzahlen der einzelnen Substanzen unterscheiden sich sehr. Das DGEBA-Harz wurde bei nur 129 Patienten, also vermutlich relativ gezielt epikutan getestet. PGE dagegen wurde sehr breit, nämlich bei 12.844 Patienten getestet. Die Testzahlen der anderen Härter und Verdünner liegen zwischen 3.500 und 8.500 Patienten. Mit Ausnahme des DGEBA-Harzes, auf das 3,9% (5 von 129) der getesteten Patienten positiv reagierten, lagen die Reaktionsquoten bei 0,1% bis 0,9%. Man kann also feststellen, dass eine Sensibilisierung gegen einen Härter oder einen Verdünner ohne gleichzeitige Sensibilisierung gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA relativ selten ist. Dies wird besonders deutlich, wenn man vergleicht, wie viele Patienten *mit* Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz und wie viele Patienten *ohne* Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz auf mindestens einen Härter oder einen Verdünner positiv reagieren, nämlich 48,4% (293 von 605) vs. 1,5% (146 von 9.666).

Tabelle 3.4.3.1:

Patienten mit negativer Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz (n=91.424): Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBA-Harz)	0,25 %	129	5	3,9 [1,3 – 8,8]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	5335	34	0,6 [0,4 – 0,9]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	5326	46	0,9 [0,6 – 1,2]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	12844	36	0,3 [0,2 – 0,4]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	3465	5	0,1 [0,0 – 0,3]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	8451	20	0,2 [0,1 – 0,4]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	8438	17	0,2 [0,1 – 0,3]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	3457	2	0,1 [0,0 – 0,2]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.4.3.1 (Fortsetzung):

Patienten mit negativer Reaktion auf DGEBA-Epoxydharz (n=91.424): Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxydharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	3468	13	0,4 [0,2 – 0,6]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	8575	39	0,5 [0,3 – 0,6]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	3425	20	0,6 [0,4 – 0,9]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	5210	28	0,5 [0,4 – 0,8]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	2841	10	0,4 [0,1 – 0,6]

### 3.4.4 Reaktionskopplungen

Gemeinsame Reaktionen auf verschiedene, chemisch verwandte Glycidylether bei Patienten ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxydharz sind in Tabelle 3.4.4.1 zusammengestellt. 1,6-HDDGE und 1,4-BDDGE wurden bei insgesamt 5.321 Patienten gleichzeitig epikutan getestet. 34 Patienten (0,6%) reagierten positiv auf 1,6-HDDGE, und 46 Patienten (0,9%) auf 1,4-BDDGE. 29 Patienten reagierten auf beide aliphatischen Glycidylether, das sind 85,3% der Patienten mit positiver Reaktion auf 1,6-HDDGE bzw. 63,0% der Patienten mit positiver Reaktion 1,4-BDDGE.

PGE und CGE wurden bei 8.370 Patienten parallel epikutan getestet. 25 Patienten (0,3%) reagierten positiv auf PGE, und 20 Patienten (0,2%) positiv auf CGE. 10 Patienten reagierten auf beide Glycidylether, das sind 50,0% der Patienten mit positiver Reaktion auf CGE bzw. 40,0% der Patienten mit positiver Reaktion auf PGE.

Bei insgesamt 3.457 Patienten wurden PGE und PTBPGE parallel epikutan getestet. 12 Patienten (0,3%) reagierten auf PGE, und 5 Patienten (0,1%) positiv auf PTBPGE. Auf beide Glycidylether reagierten 3 Patienten positiv, das sind 60,0% der Patienten mit positiver Reaktion auf PTBPGE bzw. 25,0% der Patienten mit positiver Reaktion auf PGE.

CGE und PTBPGE wurden bei 3.463 Patienten parallel getestet. 10 Patienten (0,3%) reagierten positiv auf CGE, und 5 Patienten (0,1%) positiv auf PTBPGE. 3 Patienten reagierten auf beide Glycidylether, das sind 30,0% der Patienten mit positiver Reaktion auf CGE bzw. 60,0% der Patienten mit positiver Reaktion auf PTBPGE.

Man kann also festhalten, dass die Reaktionskopplungen unter den aromatischen Glycidylethern und zwischen den beiden aliphatische Glycidylethern in dieser Patientengruppe nicht ganz so eng sind wie bei den Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz (siehe Tabelle 3.3.4.1). Aufgrund der insgesamt kleinen Anzahl von Patienten mit positiven Reaktionen auf die jeweiligen Glycidylether sind hier aber keine weitergehenden quantitativen Aussagen möglich.

Tabelle 3.4.4.1:  
Ergebnisse paralleler Testungen mit verschiedenen, chemisch verwandten Glycidylethern.

		1,4-BDDGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
1,6-HDDGE	pos.	29	5	34
	neg., fragl., ir.	17	5.270	5.287
	Summe	46	5.275	5.321
		CGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
PGE	pos.	10	15	25
	neg., fragl., ir.	10	8.335	8.345
	Summe	20	8.350	8.370
		PTBPGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
PGE	pos.	3	9	12
	neg., fragl., ir.	2	3.443	3.445
	Summe	5	3.452	3.457
		PTBPGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
CGE	pos.	3	7	10
	neg., fragl., ir.	2	3.451	3.453
	Summe	5	3.458	3.463



Tabelle 3.4.4.2 gibt die Reaktionskombinationen zwischen den drei aromatischen Glycidylethern PGE, CGE und PTBPGE bei den Patienten ohne Sensibilisierung gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA wieder. Aufgrund der kleinen Anzahl positiver Reaktionen ist eine quantitative Aussage zu Reaktionsmustern nicht möglich.

Tabelle 3.4.4.2:

Reaktionskopplungen zwischen PGE, CGE und PTBPGE. Positive Reaktionen wurden als „+“ abgekürzt; negative, fragliche und irritative Reaktionen wurden unter „-“ subsumiert.

PGE	CGE	PTBPGE	Anzahl	Prozent
+	-	-	6	0,2
+	+	-	2	0,1
+	-	+	0	0,0
+	+	+	3	0,1
-	+	-	5	0,1
-	+	+	0	0,0
-	-	+	2	0,1
-	-	-	3.438	99,5

Die Datenauswertungen zu Kreuzreaktionen zwischen aromatischen Glycidylethern und aliphatischen Glycidylethern wurden vorwiegend unter dem Aspekt möglicher immunologischer Kreuzreaktionen vorgenommen. Patienten mit Kontaktallergie gegen Epoxidharz sind jedoch meist synchron oder metachron gegenüber verschiedenen Epoxidharz-Systemen exponiert, so dass auch gleichzeitige Sensibilisierungen gegen chemisch nicht verwandte Stoffe als Ausdruck einer Kopplungsallergie (im Gegensatz zur immunologischen Kreuzreaktion) auftreten können.

Aus diesem Grund wurden auch gleichzeitige Reaktionen auf Amin-Härter ausgewertet.

Die beiden Amin-Härter MXDA und IPDA wurden bei insgesamt 3.459 Patienten ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz parallel epikutan getestet. 13 Patienten (0,4%) reagierten positiv auf MXDA, und 16 Patienten (0,5%) auf IPDA. Gleichzeitige Reaktionen auf beide Amin-Härter wurden nicht beobachtet.

DETA und TETA wurden bei insgesamt 956 Patienten parallel epikutan getestet. 5 Patienten (0,5%) reagierten positiv auf DETA, und 2 Patienten (0,2%) auf TETA. Beide Patienten, die auf TETA reagierten, reagierten auch auf DETA.

Auch bei den Amin-Härtern sind also wegen der kleinen Stichprobengröße keine quantitativen Aussagen möglich.

### 3.5. Patienten mit Sensibilisierung gegen Härter oder Reaktivverdünner

#### *3.5.1 Reaktionshäufigkeiten in Abhängigkeit von Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz und allgemein*

Bei der Betrachtung von Tabelle 3.4.3.1 sieht man, dass bei den Patienten mit negativer Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz nur sehr selten allergische Reaktionen auf Härter oder Reaktivverdünner beobachtet werden. Die Testzahlen liegen im Bereich von 2.800 bis 12.800 Patienten, die Reaktionsquoten bei 0,1% bis 0,9%. Nimmt man jedoch die absoluten Zahlen der Patienten mit positiven Reaktionen auf die einzelnen Substanzen und setzt sie in Relation zu den Zahlen der gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten mit positiven Reaktionen auf Härter und/oder Verdünner (Tabelle 3.3.3.1), so ergibt sich ein anderes Bild. Während in den Tabellen 3.3.3.1 und 3.4.3.1 die Ausgangsgruppe jeweils Patienten mit bzw. ohne Reaktion auf das DGEBA-Harz waren, und sich die Prozentangaben auf diese Grundgesamtheit bezogen, wird in Tabelle 3.5.1.1 die Perspektive quasi umgedreht. Hier wird als Grundgröße jeweils die Zahl der Patienten genommen, die auf den jeweiligen Härter oder Reaktivverdünner allergisch reagierten, und dann der Anteil der DGEBA-Harz-Positiven und -Negativen bestimmt.

Tabelle 3.5.1.1:

Patienten mit positiver Reaktion auf Reaktivverdünner oder Amin-Härter unter den mit DGEBA-Epoxidharz getesteten Patienten (n=93.406): Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz.

Substanz [Testzahl]	Pat. mit positiver Reaktion	Davon positiv auf DGEBA-Harz		Davon negativ auf DGEBA-Harz	
		n	%	n	%
Reaktivverdünner					
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE) [5.845]	233	191	82,0 %	34	14,6%
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE) [5.836]	206	155	75,2 %	46	22,3 %
Phenylglycidylether (PGE) [13.565]	217	178	82,0 %	36	16,6 %
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE) [3.845]	99	93	93,9 %	5	5,1%
Cresylglycidylether (CGE) [9.109]	108	86	79,6 %	20	18,5%
Butylglycidylether (BGE) [9.090]	82	61	74,4 %	17	20,7 %
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE) [3.838]	29	26	89,7 %	2	6,9 %

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.5.1.1:

Patienten mit positiver Reaktion auf Reaktivverdünner oder Amin-Härter unter den mit DGEBA-Epoxidharz getesteten Patienten (n=93.406): Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz.

Substanz [Testzahl]	Pat. mit positiver Reaktion	Davon positiv auf DGEBA-Harz		Davon negativ auf DGEBA-Harz	
Härter					
m-Xylidendiamin (MXDA) [3.848]	81	62	76,5 %	13	16,0 %
Isophorondiamin (IPDA) [9.238]	97	56	57,7 %	39	40,2 %
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA) [3.749]	34	14	41,2 %	20	58,8 %
Diethylentriamin (DETA) [5.586]	43	15	34,9 %	28	65,1%
Triethylentetramin (TETA) [3.170]	16	5	31,3 %	10	62,5%

Man erkennt, dass unter den Patienten ohne allergische Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz positive Reaktionen auf die verschiedenen Reaktivverdünner mit sehr unterschiedlicher Häufigkeit zu beobachten sind. Der Bereich reicht von 5,1% positiven Reaktionen auf PTBPGE bis 22,3% positive Reaktionen auf 1,4-BDDGE. Allergische Reaktionen auf die Härter treten bei Patienten ohne Epoxidharz-Allergie insgesamt häufiger auf. Hier reicht die Spanne von 16,0% bei MXDA bis 65,1% bei DETA. Man erkennt bei dieser Form der Betrachtung also deutlich, dass Sensibilisierungen gegen Reaktivverdünner und – noch mehr – gegen Härter auch unabhängig von einer Sensibilisierung gegen das DGEBA-Epoxidharz auftreten können.

In Tabelle 3.5.1.2 sind die Reaktionshäufigkeiten auf die auf Reaktivverdünner oder Amin-Härter unter den mit DGEBA-Epoxidharz getestete Patienten (n=93.406) unabhängig von der Reaktivität auf das DGEBA-Harz zusammenfassend dargestellt. (Die Anzahl von Patienten mit positiven Reaktionen auf jede einzelne Verbindung übersteigt die Summe der Spalten 3 und 5 aus Tabelle 3.5.1.1 in der Regel geringfügig, weil hier auch Patienten berücksichtigt sind, bei denen eine fragliche oder irritative Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz aufgetreten ist.)

Tabelle 3.5.1.2:

Mit DGEBA-Epoxidharz getestete Patienten (n=93.406): Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	248	83	33,5 [27,6 – 39,7]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	5.845	233	4,0 [3,5 – 4,5]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	5.836	206	3,5 [3,1 – 4,0]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	13.565	217	1,6 [1,4 – 1,8]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	3.845	99	2,6 [2,1 – 3,1]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	9.109	108	1,2 [1,0 – 1,4]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	9.090	82	0,9 [0,7 – 1,1]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	3.838	29	0,8 [0,5 – 1,1]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	3.848	81	2,1 [1,7 – 2,6]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	9.238	97	1,1 [0,9 – 1,3]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	3.749	34	0,9 [0,6 – 1,3]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	5.586	43	0,8 [0,6 – 1,0]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	3.170	16	0,5 [0,3 – 0,8]

In Tabelle 3.5.1.3 sind alle Reaktionen auf die getesteten Bestandteile von Epoxidharz-Systemen vollständig dargestellt. Hier sind also nicht nur die Testzahl und die Quote positiver Reaktionen aufgeführt, sondern auch die Zahl fraglicher und irritativer Reaktionen. In den beiden rechten Spalten sind der Reaktions-Index (RI) und die Positivity Ratio (PR) angegeben. Man erkennt, dass sich unter den Glycidylethern mit einer Ausnahme keine großen Unterschiede in Bezug auf den RI und die PR ergeben. Lediglich 1,6-HDDGE hat hier mit einem RI von 0,6 und einer PR von 56% günstigere Werte. Unter den Amin-Härtern hat MXDA mit einem RI von 0,5 und einer PR von 59% eine ähnliche Position. Auf die anderen Amin-Härter traten vermehrt fragliche und irritative Reaktionen auf. DETA, TETA und TMHDA haben einen negativen RI und eine relativ hohe PR, was sie als so genannte „Problemallergene“ mit geringerer diagnostischer Trennschärfe kennzeichnet.

Tabelle 3.5.1.3:

Mit DGEBA-Epoxidharz getestete Patienten (n=93.406): Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Testzahl	negativ	fraglich	follikulär	+	++	+++	irritativ	% positiv	RI	PR
Bisphenol F-Epoxidharz	0,25 %	248	156	6	3	34	33	16	0	33,5	0,8	41 %
Reaktivverdünner												
1,6-Hexandioldiglycidylether	0,25 %	5845	5547	49	3	130	71	32	13	4,0	0,6	56 %
1,4-Butandioldiglycidylether	0,25 %	5836	5458	117	6	130	59	17	49	3,5	0,1	63 %
Phenylglycidylether	0,25 %	13565	13238	78	8	137	70	10	24	1,6	0,3	63 %
p-tert-Butylphenylglycidylether	0,25 %	3845	3698	27	7	62	30	7	14	2,6	0,3	63 %
Cresylglycidylether	0,25 %	9109	8932	50	3	73	27	8	16	1,2	0,2	68 %
Butylglycidylether	0,25 %	9090	8955	35	5	56	23	3	13	0,9	0,2	68 %
Trimethylolpropantriglycidylether	0,25 %	3838	3783	19	3	19	9	1	4	0,8	0,1	66 %
Härter												
m-Xylidendiamin	0,1 %	3848	3740	17	4	48	25	8	6	2,1	0,5	59 %
Isophorondiamin	0,5 %	9238	9065	55	2	68	20	9	19	1,1	0,1	70 %
Trimethylhexan-1,6-diamin	0,5 %	3749	3644	51	3	27	6	1	17	0,9	-0,4	79 %
Diethylentriamin	1 %	5586	5491	37	3	33	8	2	12	0,8	-0,1	77 %
Triethylentetramin	0,5 %	3170	3131	12	6	14	2	0	5	0,5	-0,2	88 %

### 3.5.2 Reaktionskopplungen

In Analogie zu den Abschnitten 3.3.4 und 3.4.4, in denen es jeweils um Patienten mit bzw. ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz ging, wurden die Reaktionskopplungen auf verschiedene, chemisch verwandte Glycidylether auch unabhängig vom Sensibilisierungsstatus gegenüber dem DGEBA-Harz ausgewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.5.2.1 zusammengestellt.

1,6-HDDGE und 1,4-BDDGE wurden bei insgesamt 6271 Patienten gleichzeitig epikutan getestet. 262 Patienten (4,2%) reagierten positiv auf 1,6-HDDGE, und 233 Patienten (3,7%) auf 1,4-BDDGE. 201 Patienten reagierten auf beide aliphatischen Glycidylether, das sind 76,7% der Patienten mit positiver Reaktion auf 1,6-HDDGE bzw. 86,3% der Patienten mit positiver Reaktion 1,4-BDDGE.

PGE und CGE wurden bei 9.843 Patienten parallel epikutan getestet. 226 Patienten (2,3%) reagierten positiv auf PGE, und 118 Patienten (1,2%) positiv auf CGE. 99 Patienten reagierten auf beide Glycidylether, das sind 43,8% der Patienten mit positiver Reaktion auf PGE bzw. 83,9% der Patienten mit positiver Reaktion auf CGE.

Bei insgesamt 4.099 Patienten wurden PGE und PTBPGE parallel epikutan getestet. 118 Patienten (2,9%) reagierten auf PGE, und 109 Patienten (2,7%) positiv auf PTBPGE. Auf beide Glycidylether reagierten 64 Patienten positiv, das sind 58,7% der Patienten mit positiver Reaktion auf PTBPGE bzw. 54,2% der Patienten mit positiver Reaktion auf PGE.

CGE und PTBPGE wurden bei 4.108 Patienten parallel getestet. 64 Patienten (1,6%) reagierten positiv auf CGE, und 112 Patienten (2,7%) positiv auf PTBPGE. 34 Patienten reagierten auf beide Glycidylether, das sind 53,1% der Patienten mit positiver Reaktion auf CGE bzw. 30,4% der Patienten mit positiver Reaktion auf PTBPGE.

Tabelle 3.5.2.1:

Ergebnisse paralleler Testungen mit verschiedenen, chemisch verwandten Glycidylethern.

		1,4-BDDGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
1,6-HDDGE	pos.	201	61	262
	neg., fragl., ir.	32	5.977	6.009
	Summe	233	6.038	6.271
		CGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
PGE	pos.	99	127	226
	neg., fragl., ir.	19	9.598	9.617
	Summe	118	9.725	9.843
		PTBPGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
PGE	pos.	64	54	118
	neg., fragl., ir.	45	3.936	3.981
	Summe	109	3.990	4.099
		PTBPGE		
		pos.	neg., fragl., ir.	Summe
CGE	pos.	34	30	64
	neg., fragl., ir.	78	3.966	4.044
	Summe	112	3.996	4.108

Tabelle 3.5.2.2 gibt die Reaktionskombinationen zwischen den drei aromatischen Glycidylethern PGE, CGE und PTBPGE wieder. Während isolierte Reaktionen auf PGE und PTBPGE relativ häufig sind, kommen isolierte Reaktionen auf CGE deutlich seltener vor. Reaktionen auf CGE sind meist kombiniert mit Reaktionen auf PGE und PTBPGE.

Tabelle 3.5.2.2:

Reaktionskopplungen zwischen PGE, CGE und PTBPGE. Positive Reaktionen wurden als „+“ abgekürzt; negative, fragliche und irritative Reaktionen wurden unter „-“ subsumiert.

PGE	CGE	PTBPGE	Anzahl	Prozent
+	-	-	36	0,9
+	+	-	17	0,4
+	-	+	30	0,7
+	+	+	34	0,8
-	+	-	11	0,3
-	+	+	0	0,0
-	-	+	45	1,1
-	-	-	3.919	95,8

Die Datenauswertungen zu Koreaktionen zwischen aromatischen Glycidylethern und aliphatischen Glycidylethern wurden vorwiegend unter dem Aspekt möglicher immunologischer Kreuzreaktionen vorgenommen. Patienten mit Kontaktallergie gegen Epoxidharz sind jedoch meist synchron oder metachron gegenüber verschiedenen Epoxidharz-Systemen exponiert, so dass auch gleichzeitige Sensibilisierungen gegen chemisch nicht verwandte Stoffe als Ausdruck einer Kopplungsallergie (im Gegensatz zur immunologischen Kreuzreaktion) auftreten können.

Aus diesem Grund wurden auch gleichzeitige Reaktionen auf Amin-Härter ausgewertet.

Die beiden Amin-Härter MXDA und IPDA wurden bei insgesamt 4.106 Patienten parallel epikutan getestet. 91 Patienten (2,2%) reagierten positiv auf MXDA, und 52 Patienten (1,3%) auf IPDA. Gleichzeitige Reaktionen auf beide Amin-Härter wurden bei 23 Patienten beobachtet, das sind 25,2% der Patienten mit positiver Reaktion auf MXDA bzw. 44,2% der gegen IPDA sensibilisierten Patienten.

DETA und TETA wurden bei insgesamt 1.074 Patienten parallel epikutan getestet. 12 Patienten (1,1%) reagierten positiv auf DETA, und 7 Patienten (0,7%) auf TETA. Drei der 7 Patienten (42,9%), die auf TETA reagierten, reagierten auch auf DETA, das sind 25,0% der gegen DETA Sensibilisierten.

DETA und TMDHA wurden bei insgesamt 3.522 Patienten parallel epikutan getestet. 31 Patienten (0,9%) reagierten positiv auf DETA, und ebenfalls 31 Patienten (0,9%) auf TMHDA. Vier dieser Patienten reagierten sowohl auf DETA als auch auf TMHDA positiv, was einem Anteil von 12,9% der jeweils 31 insgesamt gegen einen der beiden Amin-Härter sensibilisierten Patienten entspricht.



Es ergibt sich also kein Hinweis für immunologische Kreuzreaktionen zwischen DETA und TMHDA. Wie bereits in Abschnitt 3.3.4 angemerkt, kann man aufgrund der geringen Zahl positiver Reaktionen keine Aussage in Bezug auf die Paarung DETA / TETA treffen. Es zeigt sich eine geringe Konkordanz positiver Reaktionen auf MXDA und IPDA, die wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, dass beide Amin-Härter in Epoxidharz-Systemen sehr weit verbreitet sind, daher sequentielle oder parallele Expositionen häufiger sind, und beide relativ häufig sensibilisieren. Immunologische Kreuzreaktionen zwischen MXDA und IPDA sind relativ unwahrscheinlich, da diese Verbindungen chemisch nicht eng verwandt sind. Bei den konkordanten Reaktionen handelt es sich also um den Ausdruck einer Kopplungsallergie (wobei die Allergenexposition nicht unbedingt gleichzeitig stattgefunden haben muss).

### *3.5.3 Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen*

Wie bereits in Abschnitt 3.3.5 dargestellt, ist ein Vergleich der beobachteten Häufigkeiten von Sensibilisierungen gegen Härter und Reaktivverdünner mit ihrer Verbreitung nur eingeschränkt möglich, denn erstens liegen keine detaillierten Daten zur Verbreitung vor, sondern nur eine grobe Klassifikation nach der Häufigkeit der Nennung in Sicherheitsdatenblättern, die bei GISBAU vorliegen (siehe Abschnitt 2, Tabelle 2.3), und zweitens beziehen sich diese Häufigkeitsangaben ausschließlich auf Produkte aus dem Bau-Bereich. Da aber keine besseren Daten zur Verbreitung der jeweiligen Komponenten in Epoxidharz-Systemen verfügbar sind, wird diese Datengrundlage – im Bewusstsein ihrer Einschränkungen – dennoch herangezogen.

Tabelle 3.5.3.1:

Gegenüberstellung der Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen und der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind.

Substanz	Sensibilisierungs-Quote	Häufigkeit in SiDaBs
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	33,5 [27,6 – 39,7]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	4,0 [3,5 – 4,5]	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	3,5 [3,1 – 4,0]	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	1,6 [1,4 – 1,8]	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	2,6 [2,1 – 3,1]	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)	1,2 [1,0 – 1,4]	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	0,9 [0,7 – 1,1]	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,8 [0,5 – 1,1]	selten / kaum verbreitet
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	2,1 [1,7 – 2,6]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	1,1 [0,9 – 1,3]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerenmisch; TMHDA)	0,9 [0,6 – 1,3]	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	0,8 [0,6 – 1,0]	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	0,5 [0,3 – 0,8]	häufig / weit verbreitet

Wenn die in Tabelle 3.5.3.1 genannten Substanzen eine vergleichbare oder ähnliche sensibilisierende Potenz hätten, so wäre eine gewisse Parallelität zwischen der Verbreitung und der Sensibilisierungsquote zu erwarten. Eine solche Parallelität ist aber nur sehr eingeschränkt feststellbar.

Unter den Reaktivverdünnern ist bei 1,6-HDDGE einerseits und TMPTGE, BGE und CGE andererseits eine gewisse Parallelität im oben beschriebenen Sinne feststellbar. Allerdings muss man berücksichtigen, dass die im Abschnitt 3.5.2. beschriebenen immunologischen Kreuzreaktionen bzw. Reaktionskopplungen das Bild verzerren können. So werden z.B. aufgrund immunologischer Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen 1,6-HDDGE Sensibilisierungen gegen 1,4-BDDGE deutlich häufiger beobachtet, als es aufgrund der geringen Verbreitung von 1,4-BDDGE zu erwarten gewesen wäre.

Da es offenbar unter den Amin-Härtern weniger immunologische Kreuzreaktionen gibt, ist hier das Bild etwas eindeutiger. Am meisten verbreitet sind IPDA und MXDA, wobei IPDA mehr als 1,5mal so häufig wie MXDA in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern genannt ist (MXDA/IPDA = 1009/608). Dennoch liegt die Sensibilisierungsquote von MXDA (2,1%) fast doppelt so hoch wie die auf IPDA (1,1%). Dies spricht dafür, dass MXDA eine stärkere sensibilisierende Wirkung entfaltet als IPDA, was bei der Gesamtbewertung dieser Amin-Härter berücksichtigt werden sollte. TMHDA und TETA sind in derselben Häufigkeitskategorie „häufig / weit verbreitet“ vertreten. Diese Kategorie ist jedoch relativ groß (100 – 350 Nennungen), und TETA liegt mit 138 Nennungen in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern am unteren Ende, während TMHDA mit 320 Nennungen am oberen Ende dieser Kategorie liegt. Möglicherweise erklärt sich durch diese unterschiedlichen Häufigkeiten auch die höhere Sensibilisierungsquote gegen TMHDA. Dagegen ist bemerkenswert, dass DETA, das in nur 65 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern genannt wurde, ähnlich häufig wie TMHDA zu Sensibilisierungen führt. Da keine immunologischen Kreuzreaktionen bekannt sind, die die hohe Sensibilisierungsquote auf DETA erklären würden, spricht dies für eine stärkere sensibilisierende Wirkung als diejenige von TMHDA.

Wie oben ausgeführt, ist aufgrund der zahlreichen immunologischen Kreuzreaktionen und Reaktionskopplungen anhand der vorliegenden klinisch-epidemiologischen Daten zur Sensibilisierung gegen die unterschiedlichen Reaktivverdünner ein Ranking der in Tabelle 3.5.3.1 genannten Glycidylether hinsichtlich ihrer sensibilisierenden Wirkung nicht möglich. Bei den Amin-Härtern würde man aufgrund der Angaben zur Sensibilisierungshäufigkeit einerseits und der Häufigkeit der Nennung in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern andererseits durch Bildung eines Quotienten folgendes Ranking der sensibilisierenden Wirkung erstellen: DETA > TETA > MXDA > TMHDA > IPDA. Dabei ist allerdings festzuhalten, dass DETA mit großem Abstand führt, die Unterschiede zwischen TETA, MXDA und TMHDA gering sind, und IPDA wiederum mit größerem Abstand den Schluss bildet.

Eine alternative methodischen Herangehensweise, nämlich die Ermittlung des sogenannten Sensitization Exposure Quotient (SEQ) [Schnuch et al. 2011], wurde bereits in Abschnitt 3.3.5 vorgestellt. Dabei wird die Gesamtheit der allergischen Reaktionen auf Amin-Härter betrachtet und ermittelt, wie viel Prozent dieser Reaktionen zu Lasten welchen Härters gehen, also wie hoch der Anteil der Sensibilisierungen gegen einen bestimmten Härter an der Gesamtmenge der allergischen Reaktionen auf alle Härter zusammen ist. Als Surrogat einer Expositionsermittlung wird der Anteil der Nennungen jedes einzelnen Härters an der Gesamtmenge der Nennungen in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern genommen.

Wenn man dieses Verfahren auf die Amin-Härter anwendet, so hätte man eine Grundgesamtheit von insgesamt 271 allergischen Reaktionen auf MXDA, IPDA, TMHDA, DETA und TETA (siehe Tabelle 3.5.1.2). Dieselben 5 Amin-Härter sind in insgesamt 2140 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern aufgeführt (siehe Tabelle 2.3). In Tabelle 3.5.3.2 ist nun der Anteil der allergischen Reaktionen auf jeden einzelnen Amin-Härter an den insgesamt 271 allergischen Reaktionen auf alle 5 Amin-Härter dem Anteil der Nennungen in Sicherheitsdatenblättern an den insgesamt 2140 Sicherheitsdatenblättern gegenübergestellt. Mittels Division des prozentualen Anteils der allergischen Reaktionen an der Gesamtmenge der allergischen Reaktionen auf Amin-Härter (Spalte 3) durch den Anteil der Nennungen des einzelnen Amin-Härters an der Gesamtmenge von 2140 Sicherheitsdatenblättern (Spalte 5) wird der SEQ berechnet. Der SEQ ist in Spalte 6 aufgeführt.

Wie man sieht, ergibt sich ein ähnliches Ranking: DETA hat den höchsten SEQ (5,3), mit großem Abstand gefolgt von MXDA (1,1), TETA (0,9), TMHDA (0,8) und IPDA (0,8). Der SEQ von IPDA wird bei dieser Berechnung möglicher Weise überschätzt, da IPDA 1,7mal so häufig getestet wurde wie DETA, und etwa 2,5- bis 3mal so häufig die anderen Amin-Härter, so dass auch entsprechend mehr Sensibilisierungen festgestellt wurden, die in die Berechnung eingeflossen sind. (Würde man unter der Annahme von 1,1% positiven Reaktionen auf IPDA und 0,8% positiven Reaktionen auf DETA bei jeweils 3.800 Testungen (Testzahlen ähnlich wie MXDA) die SEQs berechnen, so ergäben sich folgende Werte: DETA – 4,9; MXDA – 1,4; TETA – 1,2; TMHDA – 1,1; IPDA – 0,4.)

Tabelle 3.5.3.2:

Ermittlung eines „Sensitization Exposure Quotient“ (SEQ) durch Gegenüberstellung des Anteils der Sensibilisierungen gegen einzelne Amin-Härter an der Gesamtmenge der Sensibilisierungen gegen Amin-Härter (Spalte 3) und des Anteils der einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge der Nennungen dieser Amin-Härter in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) (Spalte 5). Der SEQ (Spalte 6) wird ermittelt, indem der Wert in Spalte 3 durch den Wert in Spalte 5 dividiert wird.

Substanz	Anzahl Sensibilisierungen	Anteil an 271 Sensibil. gegen Amin-Härter	Anzahl Nennungen in SiDaBs	Anteil an 2.140 Nennungen in SiDaBs	SEQ
m-Xylidendiamin (MXDA)	81	29,9 %	608	28,4 %	1,1
Isophorondiamin (IPDA)	97	35,8 %	1009	47,1 %	0,8
Trimethylhexan-1,6-diamin	34	12,5 %	320	15,0 %	0,8
Diethylentriamin (DETA)	43	15,9 %	65	3,0 %	5,3
Triethylentetramin (TETA)	16	5,9 %	138	6,5 %	0,9

#### 3.5.4 Vergleich der klinischen und anamnestischen Daten der gegen Härter oder Reaktivverdünner sensibilisierten Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz

Die klinischen und anamnestischen Daten der gegen Härter oder Reaktivverdünner sensibilisierten Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen Epoxidharz wurden verglichen, um mögliche Hinweise auf besondere Charakteristika der Patienten oder besondere Expositionen zu finden, die eine Sensibilisierung gegen einen Härter oder einen Verdünner ohne gleichzeitige Sensibilisierung gegen Epoxidharz begünstigen.

In Tabelle 3.5.4.1 sind die MOAHLFA-Indices, die Häufigkeit der Hauptdiagnose „aerogenes Kontaktekzem“ und die häufigsten Gruppen der aktuellen Berufe der gegen mindestens einen der 5 genannten Amin-Härter (MXDA, IPDA, TMHDA, DETA, TETA) sensibilisierten Patienten mit (n=114) und ohne (n=97) Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz gegenübergestellt.

Tabelle 3.5.4.1:

MOAHLFA-Indices, Häufigkeit der Hauptdiagnose „aerogenes Kontaktekzem“ und die häufigsten Gruppen der aktuellen Berufe der gegen mindestens einen Amin-Härter (MXDA, IPDA, TMHDA, DETA, TETA) sensibilisierten Patienten mit (n=114) und ohne (n=97) Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz.

	Patienten mit Sensibilisierung gegen Epoxidharz (n=114)		Patienten ohne Sensibilisierung gegen Epoxidharz (n=97)	
	n	%	n	%
MOAHLFA-Index				
Männer	106	93,0	75	77,3
Berufsdermatose	93	81,6	61	62,9
Atopische Dermatitis	17	14,9	16	16,5
Handekzem	62	54,4	55	56,7
Beinekzem	2	1,8	4	4,1
Gesichtsekzem	18	15,8	14	14,4
Alter >= 40 Jahre	64	56,1	59	60,8
Hauptdiagnose				
Aerogenes Kontaktekzem	6	5,3	4	4,1
Gruppen der aktuellen Berufe				
Tätigkeiten mit unbestimmter Exposition	22	19,3	24	24,7
Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter usw.	28	24,6	9	9,3
Maler, Lackierer	19	16,7	8	8,2
Mechaniker, Maschinisten, Werkzeugmacher	4	3,5	7	7,2
Kunststoffverarbeiter	9	7,9	4	4,1
Chemiker, Chemielaboranten, Chemiarbeiter	1	0,9	4	4,1

Unter den Patienten ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz waren signifikant weniger Männer, weniger Patienten mit Berufsdermatose und weniger Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter und Angehöriger ähnlicher Berufe. Alle anderen in Tabelle 3.5.4.1 erkennbaren Unterschiede waren nicht signifikant. Auch in Bezug auf die mutmaßlichen Allergenquellen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Letztlich können also aus diesem Vergleich keine Hinweise darauf gewonnen werden, welche Patienten leichter einer Sensibilisierung gegen einen Amin-Härter ohne gleichzeitige Epoxidharz-Allergie erwerben, oder welche Expositionen dies begünstigen.

In Tabelle 3.5.4.2 sind die MOAHLFA-Indices, die Häufigkeit der Hauptdiagnose „aerogenes Kontaktekzem“ und die häufigsten Gruppen der aktuellen Berufe der gegen mindestens einen der fünf Reaktivverdünner 1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, PTBPGE, BGE oder TMPTGE sensibilisierten Patienten mit (n=246) und ohne (n=62) Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz gegenübergestellt.

Tabelle 3.5.4.2:

MOAHLFA-Indices, Häufigkeit der Hauptdiagnose „aerogenes Kontaktekzem“ und die häufigsten Gruppen der aktuellen Berufe der gegen mindestens einen Reaktivverdünner (1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, PTBPGE, BGE, TMPTGE) sensibilisierten Patienten mit (n=246) und ohne (n=62) Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz.

	Patienten mit Sensibilisierung gegen Epoxidharz (n=246)		Patienten ohne Sensibilisierung gegen Epoxidharz (n=62)	
	n	%	n	%
MOAHLFA-Index				
Männer	200	81,3	42	67,7
Berufsdermatose	189	76,8	36	58,1
Atopische Dermatitis	36	14,6	14	22,6
Handekzem	123	50,0	33	53,2
Beinekzem	5	2,0	3	4,8
Gesichtsekzem	50	20,3	5	8,1
Alter >= 40 Jahre	144	58,5	49	79,0
Hauptdiagnose				
Aerogenes Kontaktekzem	12	4,9	3	4,8
Gruppen der aktuellen Berufe				
Tätigkeiten mit unbestimmter Exposition	53	21,5	12	19,4
Maler, Lackierer	25	10,2	6	9,7
Mechaniker, Maschinisten, Werkzeugmacher	19	7,7	5	8,1
Kunststoffverarbeiter	20	8,1	4	6,5
Chemiker, Chemielaboranten, Chemiarbeiter	5	2,0	3	4,8
Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter usw.	37	15,0	3	4,8

Unter den Patienten ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz waren signifikant weniger Männer, weniger Patienten mit Berufsdermatose, weniger Patienten mit Gesichtsekzem und weniger Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter und Angehöriger ähnlicher Berufe, jedoch mehr Patienten im Alter von 40 Jahren und mehr. Alle anderen in Tabelle 3.5.4.2 erkennbaren Unterschiede waren nicht signifikant. Auch in Bezug auf die mutmaßlichen Allergenquellen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Letztlich können also aus diesem Vergleich keine Hinweise darauf gewonnen werden, welche Patienten leichter eine Sensibilisierung gegen einen Reaktivverdünner ohne gleichzeitige Epoxidharz-Allergie erwerben, oder welche Expositionen dies begünstigen.

Es ist bemerkenswert, dass das Gesichtsekzem signifikant häufiger bei den gegen Reaktivverdünner sensibilisierten Patienten *mit* Epoxidharz-Allergie als bei den gegen Reaktivverdünner sensibilisierten Patienten *ohne* Epoxidharz-Allergie auftritt (20,3% vs. 8,1%), es aber in dieser Hinsicht keinen Unterschied zwischen den gegen Amin-Härter sensibilisierten Patienten mit und ohne Epoxidharz-Allergie gibt (15,8% vs. 14,4%). Dies könnte darauf hindeuten, dass Amin-Härter auch ohne begleitende Epoxidharz-Allergie ein aeroogenes (oder disloziertes) allergisches Kontaktekzem auslösen können, während das bei den Reaktivverdünnern eher nicht der Fall ist. Zwar bestehen keine Unterschiede in Bezug auf die Hauptdiagnose „aeroogenes Kontaktekzem“; erfahrungsgemäß wird aber ein aeroogenes Kontaktekzem in den Kliniken nicht immer als solches codiert, sondern oft als allergisches Kontaktekzem. Daher kann die Lokalisation „Gesicht“ auch auf ein aeroogenes Kontaktekzem hinweisen.

Um diese Hypothese zu prüfen, wurde die folgende zusätzliche Auswertung vorgenommen. Da die beiden Gruppen „Patienten mit Sensibilisierung gegen mindestens einen Amin-Härter“ und „Patienten mit Sensibilisierung gegen mindestens einen Reaktivverdünner“ nicht disjunkt sind – in beiden Gruppen sind auch Patienten enthalten, die sowohl gegen Amin-Härter als auch gegen Reaktivverdünner sensibilisiert sind – wurden zwei weitere Subgruppen gebildet, nämlich „Patienten mit Sensibilisierung gegen mindestens einen Amin-Härter, aber ohne Sensibilisierung gegen Reaktivverdünner“ (Härter +, Verdünner -) und „Patienten mit Sensibilisierung gegen mindestens einen Reaktivverdünner, aber ohne Sensibilisierung gegen Amin-Härter“ (Härter -, Verdünner +). Von beiden wurden jeweils die Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz (DGEBA-Harz +, DGEBA-Harz -) verglichen. In Tabelle 3.5.4.3 sind die Häufigkeiten des Gesichtsekzems in diesen vier Subgruppen zusammengestellt. Die weiteren Punkte des MOAHLFA-Indexes und die häufigsten Berufsgruppen werden hier nicht aufgeführt, da sich keine wesentlichen Unterschiede zu den Tabellen 3.5.4.1 und 3.5.4.2 ergeben.



Tabelle 3.5.4.3:

Häufigkeit des Gesichtsekzems in vier Subgruppen von Patienten. Näheres siehe Text.

	Patienten mit Sensibilisierung gegen Epoxidharz	Patienten ohne Sensibilisierung gegen Epoxidharz
Härter +, Verdünner -	7 / 47 = 14,9%	12 / 84 = 14,3%
Härter -, Verdünner +	39 / 179 = 21,8%	3 / 49 = 6,1%

Es ergibt sich also auch nach der „Bereinigung“ der Patientengruppen von der „Kontamination“ durch „Doppelt-Sensibilisierte“ dasselbe Bild. Während die gegen Amin-Härter sensibilisierten Patienten (ohne Sensibilisierung gegen Reaktivverdünner) mit und ohne Epoxidharz-Allergie gleich häufig ein Gesichtsekzem haben (14,9% vs. 14,3%), haben die gegen einen Reaktivverdünner Sensibilisierten (ohne gleichzeitige Sensibilisierung gegen einen Amin-Härter) ohne Epoxidharz-Allergie signifikant seltener ein Gesichtsekzem als die gegen einen Reaktivverdünner Sensibilisierten (ohne gleichzeitige Sensibilisierung gegen einen Amin-Härter) mit Epoxidharz-Allergie (6,1% vs. 21,8%). Offenbar spielt also hier die Sensibilisierung gegen Epoxidharz eine entscheidende Rolle, während dies bei Vorliegen einer Sensibilisierung gegen einen Amin-Härter nicht der Fall ist. Hier kommt es vermutlich stärker auf die Sensibilisierung gegen den Härter selbst an.

In Bezug auf die erste Abschlussdiagnose (Hauptdiagnose) „aerogenes Kontaktekzem“ ergeben sich beim analogen Vergleich keine signifikanten Unterschiede, wie Tabelle 3.4.5.4 zeigt. Wie bereits oben erwähnt, muss man aber damit rechnen, dass das aerogene Kontaktekzem zum Teil als allergisches Kontaktekzem codiert wird; diese Daten sind daher nicht als so zuverlässig anzusehen wie die Angaben zur Lokalisation der Erkrankung.

Tabelle 3.5.4.4:

Häufigkeit der Hauptdiagnose „aerogenes Kontaktekzem“ bei vier Subgruppen von Patienten. Näheres siehe Text.

	Patienten mit Sensibilisierung gegen Epoxidharz	Patienten ohne Sensibilisierung gegen Epoxidharz
Härter +, Verdünner -	3 / 47 = 6,4%	2 / 84 = 2,4%
Härter -, Verdünner +	9 / 179 = 5,0%	1 / 49 = 2,0%

### 3.6. Sonderfall 4,4'-Diaminodiphenylmethan

4,4'-Diaminodiphenylmethan wird wegen seiner Toxizität praktisch nicht (mehr) als Härter in Epoxidharz-Systemen verwendet. Bei GISBAU liegen nur 6 Sicherheitsdatenblätter vor, in denen 4,4'-Diaminodiphenylmethan als Bestandteil genannt ist; keines davon wurden nach 2005 erstellt (siehe Tabelle 2.3). Dennoch werden Sensibilisierungen gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan relativ häufig beobachtet. Eine mögliche Ursache dafür ist eine Sensibilisierung durch die Exposition gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat, z.B. in 2-Komponenten-Polyurethan-Produkten. Vereinfacht dargestellt, wird Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat auf oder in der Haut zu 4,4'-Diaminodiphenylmethan umgewandelt, so dass der entsprechend (durch die Exposition gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat) sensibilisierte Patient im Epikutantest auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan allergisch reagiert [Frick-Engfeldt et al. 2007]. Daher wird die Epikutantestung mit 4,4'-Diaminodiphenylmethan auch zur Diagnostik von Typ IV-Sensibilisierungen gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat empfohlen [Aalto-Korte et al. 2012].

4,4'-Diaminodiphenylmethan gehört außerdem im weiteren Sinne zu den in para-Stellung disubstituierten aromatischen Aminen, den so genannten „Para-Stoffen“. Bei Patienten mit Sensibilisierung gegen „Para-Stoffe“ sind immunologische Kreuzreaktionen häufig, so dass oft allergische Reaktionen auf mehrere derartige Verbindungen bei ein und demselben Patienten zu beobachten sind (so genannte „Paragruppen“-Allergie). Ein Teil der allergischen Reaktionen auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan ist also sehr wahrscheinlich auch durch eine solche „Paragruppen“-Allergie bedingt. Diese Patienten haben sich primär gegen einen anderen „Para-Stoff“, z.B. p-Phenylendiamin oder p-Toluylendiamin in Haarfarben, sensibilisiert und reagieren dann auch allergisch auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan [Belloni Fortina et al. 2001, Uter et al. 2002].

Wegen diese Sonderstellung wurden die im IVDK registrierten Sensibilisierungen gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan nicht mit den anderen Amin-Härtern zusammen, sondern separat untersucht.

4,4'-Diaminodiphenylmethan ist Bestandteil der DKG-Testreihen „Kunstharze / Kleber“, „Leder und Schuhe“, „aromatische p-Aminoverbindungen“ und „Bau-Hauptgewerbe“. Von diesen Testblöcken wird die Testreihe „Kunstharze / Kleber“ mit Abstand am häufigsten getestet.

### 3.6.1 Reaktionshäufigkeiten und Begleitreaktionen

In Tabelle 3.6.1.1 sind die auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. beobachteten Reaktionen zusammengefasst. Dabei wurden die Reaktionshäufigkeiten bei allen mit DGEBA-Epoxidharz Getesteten den Reaktionshäufigkeiten bei Patienten mit positiver und mit negativer Reaktion auf DGEBA-Harz gegenübergestellt.

Tabelle 3.6.1.1:

IVDK, 2002-2011, Reaktionen auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. in drei Gruppen von Patienten, nämlich Gruppe A = mit Epoxidharz auf Basis von DGEBA Getestete, Gruppe B = Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz, und Gruppe C = Patienten mit negativer Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz.

Reaktion	Gruppe A		Gruppe B		Gruppe C	
	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent
negativ	13.805	95,7	555	88,0	13.154	96,2
fraglich	135	0,9	15	2,4	117	0,9
follikulär	13	0,1	2	0,3	11	0,1
+	235	1,6	35	5,6	199	1,5
++	130	0,9	11	1,7	116	0,9
+++	52	0,4	5	0,8	47	0,3
irritativ	49	0,3	8	1,3	37	0,3
Summe	14.419	100,0	631	100,0	13.681	100,0

Die Quote positiver Reaktionen lag also insgesamt (Gruppe A) bei 2,9% (417 von 14.419 Patienten), bei den Epoxidharz-Positiven (Gruppe B) bei 8,1% (51 von 631), und bei den Epoxidharz-Negativen (Gruppe C) bei 2,6% (362 von 13.681). Der Unterschied zwischen den Gruppen B und C ist statistisch signifikant. Der Reaktions-Index liegt insgesamt bei 0,4, die Positivity Ratio bei 56%, womit die Testzubereitung als diagnostisch gut angesehen werden kann.

Wie bereits einleitend erwähnt, ist die signifikante Häufung positiver Reaktionen auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan unter den Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz kein Beweis dafür, dass die Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan auch durch eine Epoxidharz-Exposition erworben wurde. Vielmehr besteht die Möglichkeit, dass dieselben Patienten zumindest zum Teil auch gegenüber 2-Komponenten-Polyurethan-Produkten, und damit gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat exponiert waren. Der allgemeinen Erfahrung nach ist dies im Baugewerbe nicht unwahrscheinlich.

Um diese Annahme und die oben erwähnte Möglichkeit immunologischer Kreuzreaktionen im Rahmen der so genannten „Paragruppen-Allergie“ zu überprüfen, wurden sowohl die Begleitreaktionen als auch die Populationsmerkmale der Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan miteinander verglichen.

In den Tabellen 3.6.1.2 und 3.6.1.3 sind die häufigsten Allergene bei den 417 Patienten mit positiver und den 13.805 Patienten mit negativer Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan zusammengestellt.

Unter den Patienten mit Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan liegen die Reaktionsquoten auf die meisten Allergene der DKG-Standardreihe, wie z.B. Nickelsulfat, Kobaltchlorid, Duftstoff-Mix, Thiuram Mix usw. etwa zwei- bis dreimal so hoch wie in der allgemeinen IVDK-Patientenpopulation. Offenbar handelt es sich hier also um eine selektionierte Patientengruppe mit allgemein erhöhter Prävalenz von Kontaktallergien. Wie bereits im Abschnitt 3.2.2 erwähnt, erhöht das Vorliegen einer Typ IV-Sensibilisierung das Risiko für den Erwerb weiterer Sensibilisierungen; daher ist aufgrund der Selektion der Patienten dieser Gruppe, die ja alle gegen mindestens ein Allergen, nämlich 4,4'-Diaminodiphenylmethan, sensibilisiert sind, mit einer generell erhöhten Sensibilisierungsquote zu rechnen. Auffallend ist jedoch die sehr hohe Quote allergischer Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz (roh 12,6%, standardisiert 10,6%), die im Vergleich zu nicht selektionierten IVDK-Patienten etwa neunfach und im Vergleich zu den nicht gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan Sensibilisierten etwa dreifach erhöht ist. Gleichzeitig ist auch zu beobachten, dass sich unter den 7 häufigsten Allergenen insgesamt 6 so genannte „Para-Stoffe“ befinden. Nach den eingangs dargestellten Erkenntnissen bzw. Überlegungen war beides, sowohl die erhöhte Quote an Epoxidharz-Sensibilisierungen als auch die Reaktionen auf weitere so genannte „Para-Stoffe“, zu erwarten.

Tabelle 3.6.1.2:

Die 30 häufigsten Allergene bei Patienten mit positiver Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. (n=417). Es sind die nicht adjustierten (rohen) sowie alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand, % pos. [95%-CI]
4,4'-Diaminodiphenylmethan	417	417	100,0	100,0
p-Phenylendiamin	173	95	54,9	57,2
Dispers Orange 3	177	92	52,0	55,3
Nickelsulfat	397	77	19,4	21,6
p-Aminoazobenzol	123	75	61,0	62,8
p-Toluyldiamin	110	73	66,4	65,1
p-Aminophenol	112	59	52,7	52,0
Duftstoff-Mix	398	58	14,6	13,8
Perubalsam	401	52	13,0	11,6
Epoxidharz	405	51	12,6	10,6
Kobaltchlorid	399	45	11,3	11,7
Kaliumdichromat	400	41	10,3	8,4
Benzocain	123	34	27,6	25,7
Benzoylperoxid	263	30	11,4	13,9
3-Aminophenol	59	29	49,2	42,2
Kolophonium	401	27	6,7	6,6
Thiuram Mix	402	26	6,5	6,0
1,6-Hexandioldiglycidylether	182	26	14,3	9,6
Phenylglycidylether	346	25	7,2	6,5
Wollwachsalkohole	402	23	5,7	5,8
1,4-Butandiol-diglycidylether	181	22	12,2	9,1
(Chlor)-Methylisothiazolinon (MCI/MI)	401	20	5,0	5,0
Terpentin	401	20	5,0	4,5
Isophorondiamin	278	19	6,8	5,1
N-Isopropyl-N'-phenyl-p-phenylendiamin	398	19	4,8	4,7
Methyldibromo Glutaronitril	317	18	5,7	5,4
Hydrochinon	88	17	19,3	19,0
tert-Butylhydrochinon	283	17	6,0	5,5
Cresylglycidylether	274	17	6,2	5,2
2-Hydroxypropylmethacrylat	264	17	6,4	8,3

Tabelle 3.6.1.3:

Die 30 häufigsten Allergene bei Patienten mit negativer Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan 0,5% Vas. (n=13.805). Es sind die nicht adjustierten (rohen) sowie alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand, % pos. [95%-CI]
Nickelsulfat	13454	1634	12,1	16,6
Kaliumdichromat	13532	1004	7,4	7,1
Duftstoff-Mix	13531	855	6,3	6,1
Kobaltchlorid	13529	842	6,2	7,4
Perubalsam	13554	834	6,2	5,5
Kolophonium	13542	628	4,6	4,8
Epoxidharz	13637	544	4,0	3,4
Benzoylperoxid	8679	513	5,9	6,5
Duftstoff-Mix II	10515	432	4,1	4,0
Methyldibromo Glutaronitril	10940	404	3,7	3,3
(Chlor)-Methylisothiazolinon (MCI/MI)	13551	347	2,6	2,5
Thiuram Mix	13531	313	2,3	2,2
Wollwachsalkohole	13553	297	2,2	2,2
1,3-Diphenylguanidin	9065	277	3,1	2,4
Terpentin	13552	275	2,0	2,0
Propolis	13557	270	2,0	1,9
Amerchol L-101	9556	265	2,8	2,8
Lyral	13455	263	2,0	2,2
Quecksilber (II)-amid-chlorid	8463	249	2,9	3,7
1,2-Benzisothiazolin-3-on, Natriumsalz	7705	202	2,6	1,9
2-Hydroxypropylmethacrylat	8313	201	2,4	3,2
2-Hydroxyethylmethacrylat	8506	197	2,3	3,2
Octylgallat	9471	190	2,0	1,8
1,6-Hexandiol-diglycidylether	5491	190	3,5	3,0
Hydroxyethylacrylat	8382	189	2,3	3,3
Polyvidon-Iod	3312	186	5,6	5,2
Mercapto-Mix	13540	175	1,3	1,3
Phenylglycidylether	12994	174	1,3	1,2
1,4-Butandiol-diglycidylether	5485	173	3,2	2,9
Ethylenglycoldimethacrylat	8423	170	2,0	2,7

Mit Ausnahme von Epoxidharz liegen in der Gruppe der Patienten ohne Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan die Quoten positiver Reaktionen auf die Allergene der DKG-Standardreihe in einem ähnlichen Bereich wie bei der Gesamtheit der im IVDK im Untersuchungszeitraum erfassten Patienten. Die Reaktionsquote auf DGEBA-Epoxidharz ist mit 4,0% (roh) bzw. 3,4% (standardisiert) deutlich erhöht, jedoch bei weitem nicht so hoch wie bei den Patienten mit Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan. Des Weiteren findet man unter den 30 häufigsten Allergenen etliche Reaktivverdünner und einige Methacrylate. Dies spricht dafür, dass diese Patienten wegen des Verdachtes auf eine Sensibilisierung gegen Kleber, Kunstharze oder Kunststoffe getestet wurden, wobei Sensibilisierungen gegen Verbindungen aus unterschiedlichen chemischen Klassen festgestellt wurden, was insofern plausibel ist, als 4,4'-Diaminodiphenylmethan am häufigsten als Bestandteil der DKG-Testreihe „Kunstharze / Kleber“ getestet wird. Auffällig ist ferner, dass unter den 30 häufigsten Allergenen kein einziger so genannter „Para-Stoff“ ist. Darüber hinaus ergibt der Vergleich der häufigsten Allergene bei Patienten mit und ohne Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan keine konkreten Hinweise auf spezielle Expositionen, die das Risiko einer solchen Sensibilisierung erhöhen.

### 3.6.2 Klinische und anamnestische Daten der gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan sensibilisierten Patienten

In Tabelle 3.6.2.1 sind die beiden Patientenpopulationen mit und ohne Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan mit dem MOAHLFA-Index beschrieben.

Tabelle 3.6.2.1:

MOAHLFA-Index der Patienten mit positiver Reaktion (n=417) und der Patienten mit negativer Reaktion (n=13.805) auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan.

	4,4'-Diaminodiphenylmethan-Positive	4,4'-Diaminodiphenylmethan-Negative
Männer	47,2 %	56,0 %
Berufsdermatose	46,5 %	27,6 %
Atopische Dermatitis	15,3 %	20,0 %
Handekzem	44,4 %	41,6 %
Beineckzem	6,0 %	8,4 %
Gesichtsekzem	9,1 %	8,9 %
Alter >= 40 Jahre	60,9 %	67,2 %

Unter den Patienten mit Sensibilisierung gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan fallen vor allem ein verringerter Anteil von Männern und ein erhöhter Anteil von Patienten mit Berufsdermatose auf.

Tabelle 3.6.2.2. stellt die häufigsten aktuellen Berufe der Patienten der beiden Gruppen gegenüber. Man erkennt unter den Patienten mit positiver Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan deutlich erhöhte Anteile von Metallarbeitern (2,9% vs. 1,2%), Fußbodenlegern (1,9% vs. 0,3%), Tischlern (1,7% vs. 0,8%), Kunststoffverarbeitern (1,2% vs. 0,8%) und Raumpflegerinnen (2,9% vs. 0,9%). Bei Fußbodenlegern und Tischlern ist eine Exposition gegen 2-Komponenten-Polyurethan-Produkten denkbar, die zu einer Sensibilisierung gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat und dann auf dem Wege einer immunologischen Kreuzreaktion zu einer positiven Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan im Epikutantest führt. Bei den Raumpflegerinnen ist eine solche Exposition eher nicht anzunehmen; hier spielen möglicher Weise außerberufliche Sensibilisierungen gegen Haarfarben eine ursächliche Rolle. Durch eine Sensibilisierung gegen so genannte „Para-Stoffe“ in Haarfarben kann eine Para-Gruppen-Allergie erworben werden, die sich dann auch auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan erstreckt.

Tabelle 3.6.2.2:

Die häufigsten aktuellen Berufe der Patienten mit positiver Reaktion (n=417) und der Patienten mit negativer Reaktion (n=13.805) auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan. Es sind alle Berufe angegeben, die in einer der beiden Gruppen bei mehr als 1% der Patienten genannt wurden.

Berufe	4,4'-Diaminodiphenylmethan-Positive	4,4'-Diaminodiphenylmethan-Negative
Rentner	12,5 %	18,2 %
Keine nähere Angabe	9,4 %	7,7 %
Hausfrau	2,9 %	5,4 %
Metallarbeiter (ohne nähere Angabe)	2,9 %	1,2 %
Bürofachkraft	2,6 %	4,5 %
Arbeitslos	5,0 %	3,9 %
Maler, Lackierer	2,6 %	2,3 %
Fußbodenleger	1,9 %	0,3 %
Maurer	1,4 %	1,0 %
Tischler	1,7 %	0,8 %
Kunststoffverarbeiter	1,2 %	0,8 %
Schüler, Student	5,8 %	3,0 %
Verkäufer (ohne nähere Angabe)	1,2 %	1,4 %
Kraftfahrzeugführer	0,7 %	1,1 %
Raumpflegerin	2,9 %	0,9 %
Friseurin	1,9 %	1,5 %
Mechaniker (sonstige)	1,0 %	1,8 %



Die kategorisierten Angaben zu den mutmaßlichen Allergenquellen stimmen mit den oben erwähnten Überlegungen zur Testung von 4,4'-Diaminodiphenylmethan bei Patienten mit mutmaßlicher Kontaktallergie gegen Kunstharze / Kleber und zu immunologischen Kreuzreaktionen auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan bei primärer Sensibilisierung gegen andere „Para-Stoffe“, z.B. in Haarfarben, überein. „Kleber“ waren bei 19,2% der 4,4'-Diaminodiphenylmethan-Positiven und 10,5% der 4,4'-Diaminodiphenylmethan-Negativen als mutmaßliche Allergenquelle genannt; es wurde also grundsätzlich bereits häufig unter diesem Verdacht epikutan getestet, und bei den Patienten mit Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan bestätigte sich dieser Verdacht häufiger, z.B. in Form einer Sensibilisierung gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat, die sich im Epikutantest mit einer Reaktion auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan manifestiert, oder einer Epoxidharz-Allergie, die in dieser Patientengruppe etwa 3- bis 4fach gehäuft auftrat. „Friseurstoffe“ wurden bei 11,3% der 4,4'-Diaminodiphenylmethan-Positiven und 2,9% der 4,4'-Diaminodiphenylmethan-Negativen als mutmaßliche Allergenquelle genannt. In der Gruppe der 4,4'-Diaminodiphenylmethan-Positiven waren gehäuft Reaktionen auf so genannte „Para-Stoffe“ zu beobachten, die auch in Haarfarben vorkommen, so dass sich die Häufung der Patienten mit Verdacht auf Kontaktallergie gegen Haarfarben darüber erklärt, dass hier eben nicht nur Reaktionen auf p-Phenylendiamin, p-Toluyldiamin o.ä., sondern auf dem Wege immunologischer Kreuzreaktionen auch auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan ergeben.

Zusammenfassend lässt sich also festhalten: 4,4'-Diaminodiphenylmethan wird praktisch nicht mehr in Epoxidharz-Systemen eingesetzt. Das Spektrum der mutmaßlichen Allergenquellen, weiterer Patientencharakteristika und der Begleitsensibilisierungen legt den Schluss nahe, dass Sensibilisierungen gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan nicht originär durch die Exposition gegenüber dieser Verbindung erworben wurden, sondern hauptsächlich Ausdruck primärer Sensibilisierungen gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat oder gegen so genannte „Para-Stoffe“ sind. Altsensibilisierungen durch frühere Exposition gegenüber 4,4'-Diaminodiphenylmethan sind allerdings nicht ausgeschlossen.

### 3.7. Gegen DGEBA-Harz sensibilisierte Patienten mit aerogenem Kontaktekzem

#### *3.7.1 Klinische und anamnestische Daten*

Bei 62 der 1453 Patienten (4,3%) mit positiver Reaktion auf DGEBA-Harz wurde als erste oder zweite Abschlussdiagnose ein aerogenes Kontaktekzem (airborne dermatitis) diagnostiziert. Wie aus der Populationsbeschreibung mit dem MOAHLFA-Index (Tabelle 3.7.1.1) zu erkennen ist, waren in dieser kleinen Subgruppe von Patienten Männer (77,4% vs. 56,2%), Patienten mit Berufsdermatose (72,6% vs. 38,5%), und Patienten mit Gesichtsekzem (69,4% vs. 19,5%) im Vergleich zur gesamten Gruppe der gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten (siehe Tabelle 3.2.1.1) überrepräsentiert. Insgesamt war die Patientengruppe auch jünger.

Tabelle 3.7.1.1:  
MOAHLFA-Index der 62 gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten mit aerogenem Kontaktekzem.

	Anzahl	Prozent
Männer	48	77,4
Berufsdermatose	45	72,6
Atopische Dermatitis	12	19,4
Handekzem	13	21,0
Beineckzem	0	0,0
Gesichtsekzem	43	69,4
Alter >= 40 Jahre	40	64,5

Jeweils 10 Patienten (16%) gehörten den Berufsgruppen Maler und Lackierer sowie Maurer, Fliesenleger usw. an; damit stellten diese beiden Berufsgruppen zusammen 32% der betroffenen Patienten. Als mutmaßliche Allergenquelle wurde bei 23 Patienten (37%) Kleber genannt; diese Kontaktstoffkategorie war damit die am häufigsten genannte. Unter den weiteren Kontaktstoffkategorien, die Epoxidharz-Systeme enthalten könnten, waren Baustoffe (13 Patienten = 21%), Kunststoffe (12 Patienten = 19,4%) und Farben und Lacke (9 Patienten = 14,5%).

### *3.7.2 Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen*

Bei 49 der 62 gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten mit erster oder zweiter Abschlussdiagnose airborne dermatitis wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Amin-Härter epikutan getestet: MXDA, IPDA, DETA, TETA, TMHDA. 39 der 49 Patienten (80%) reagierten auf keinen der genannten Amin-Härter positiv. 7 Patienten (14%) reagierten auf einen Härter und 3 Patienten (6%) auf 2 dieser Amin-Härter.

Bei denselben 49 der 62 gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten mit erster oder zweiter Abschlussdiagnose airborne dermatitis wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, TMPTGE, CGE, PTBPGE. 29 der 49 Patienten (59%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 6 Patienten (12%) reagierten auf einen Verdünner, 8 Patienten (16%) auf 2 Verdünner, 4 Patienten (8%) auf 3, und 2 Patienten (4%) auf 4 Reaktivverdünner.

24 der 49 Patienten (49%), bei denen mindestens einer der fünf oben genannten Härter und/oder mindestens einer der fünf oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet wurde, reagierten auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. Dieser Anteil unterscheidet sich nicht von der gesamten Patientengruppe mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz (312 von 605 = 51,6%).

In Tabelle 3.7.2.1 sind die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen weiteren Komponenten von Epoxidharz-Systemen zusammengestellt, die bei 62 gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten mit erster oder zweiter Abschlussdiagnose airborne dermatitis beobachtet wurden. Wie in der Gesamtgruppe der gegen DGEBA-Harz Sensibilisierten waren unter den Reaktivverdünnern 1,6-HDDGE und 1,4-BDDGE die häufigsten Allergene, gefolgt von PGE, PTBPGE und CGE. Unter den Amin-Härtern war MXDA mit das häufigste Allergen, gefolgt von IPDA.

Tabelle 3.7.2.1:

Gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten mit erster oder zweiter Abschlussdiagnose airborne dermatitis (n=62): Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	7	7	100,0 [59,0 – 100,0]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	33	15	45,5 [28,1 – 63,3]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	33	14	42,4 [25,5 – 60,8]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	49	19	38,8 [25,2 – 53,8]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	30	5	16,7 [5,6 – 34,7]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	48	8	16,7 [7,5 – 30,2]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	48	5	10,4 [3,5 – 22,7]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	31	3	9,7 [2,0 – 25,8]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	30	7	23,3 [9,9 – 42,3]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	49	4	8,2 [2,3 – 19,6]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	29	2	6,9 [0,8 – 22,8]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	29	0	0,0 [0,0 11,9]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	16	0	0,0 [0,0 – 20,6]

Da sich keine Unterscheide zur Gesamtgruppe der Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz ergaben, und wegen des geringen Stichprobenumfangs wurde auf eine weitergehende Auswertung dieser Daten (Reaktionskopplungen etc.) verzichtet.

### 3.7.3 Weitere Sensibilisierungen über Komponenten von Epoxidharz-Systemen hinaus

Um etwaige Häufungen von Sensibilisierungen gegen Allergene jenseits von Epoxidharz-System-Komponenten zu erkennen, die möglicher Weise Rückschlüsse auf spezielle Expositionen erlauben, wurden die häufigsten Allergene in dieser Subgruppe von Patienten untersucht. Das Ergebnis ist in Tabelle 3.7.3.1 dargestellt.

Tabelle 3.7.3.1:

Gegen DGEBA-Harz sensibilisierten Patienten mit erster oder zweiter Abschlussdiagnose airborne dermatitis (n=62): nicht adjustierte (rohe) sowie alters- und geschlechtsstandardisierte Quoten positiver Reaktionen auf Allergene der DKG-Standardreihe. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%- CI]	Quote stand, % pos. [95%- CI]
Epoxidharz	62	62	100,0 [94,1 - 100,0]	100,0 [100,0 - 100,0]
Nickelsulfat	58	9	15,5 [7,3 - 27,4]	31,5 [14,4 - 48,6]
Perubalsam	58	8	13,8 [6,1 - 25,4]	16,5 [1,4 - 31,5]
Duftstoff-Mix	57	5	8,8 [2,9 - 19,3]	20,2 [3,0 - 37,4]
Methyldibromo Glutaronitril	49	3	6,1 [1,3 - 16,9]	3,1 [0,0 - 7,0]
Kaliumdichromat	58	3	5,2 [1,1 - 14,4]	2,4 [0,0 - 7,0]
Kobaltchlorid	57	2	3,5 [0,4 - 12,1]	1,9 [0,0 - 4,6]
Kolophonium	59	2	3,4 [0,4 - 11,7]	4,6 [0,0 - 12,7]
p-Phenylendiamin	20	2	10,0 [1,2 - 31,7]	3,5 [0,0 - 8,1]
Terpentin	58	2	3,4 [0,4 - 11,9]	1,2 [0,0 - 2,8]
Thiuram-Mix	57	2	3,5 [0,4 - 12,1]	4,7 [0,0 - 12,7]
Duftstoff-Mix II	45	2	4,4 [0,5 - 15,1]	7,3 [0,0 - 20,1]
Bufexamac	58	1	1,7 [0,0 - 9,2]	1,3 [0,0 - 3,7]
Cetylstearylalkohol	58	1	1,7 [0,0 - 9,2]	0,6 [0,0 - 1,7]
p-tert-Butylphenol-Formaldehydharz	58	1	1,7 [0,0 - 9,2]	4,1 [0,0 - 12,0]

Wegen der geringen Stichprobengröße ergeben sich sehr große 95%-Konfidenzintervalle für die Reaktionsquoten. Daher sind keine signifikanten Unterschiede zur Gesamtgruppe der Patienten mit Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz zu erkennen. Auch im Vergleich zur Gruppe der DGEBA-Harz-Negativen ergeben sich keine signifikanten Häufungen von Sensibilisierungen gegen bestimmte Allergene. Man kann also aus diesen Daten keine weiteren Rückschlüsse auf besondere Expositionen, Begleitumstände oder Begleitsensibilisierungen ziehen, die zum Entstehen einer airborne dermatitis beitragen.

### 3.8. Sensibilisierungen gegen Komponenten von Epoxidharz-Systemen in durch den Beruf definierten Risikogruppen

#### 3.8.1 Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter usw.

##### 3.8.1.1 Klinische und anamnestische Daten

In den Jahren 2002 bis 2011 wurden in den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen insgesamt 804 Patienten mit Berufsdermatose bzw. Hautveränderungen im Beruf epikutan getestet, bei denen als aktueller oder früherer Beruf Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter, Betonbauer o.ä. genannt war. Tabelle 3.8.1.1.1 gibt eine Beschreibung dieser Patientengruppe mit dem MOAHLFA-Index.

Tabelle 3.8.1.1.1:

MOAHLFA-Index der 804 Patienten mit Berufsdermatose und Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter o.ä. als aktuellem oder früherem Beruf.

	Anzahl	Prozent
Männer	788	98,0
Berufsdermatose	804	100,0
Atopische Dermatitis	154	19,2
Handekzem	544	67,7
Beinekzem	28	3,5
Gesichtsekzem	64	8,0
Alter >= 40 Jahre	473	58,8

Erwartungsgemäß handelt es sich nahezu ausschließlich um Männer. Unter den von einem Ekzem betroffenen Regionen dominieren die Hände; acht Prozent litten aber auch an einem Gesichtsekzem.

In Tabelle 3.8.1.1.2 sind die aktuellen und früheren Berufe dieser Patienten zusammengestellt.

Tabelle 3.8.1.1.2:

Aktuelle und frühere Berufe dieser 804 Patienten mit Berufsdermatose.

Beruf	aktuell		früher	
	n	%	n	%
Maurer	208	25,9	118	14,7
Fliesenleger	100	12,4	45	5,6
Bauhilfsarbeiter	75	9,3	29	3,6
Fußbodenleger	54	6,7	11	1,4
arbeitslos	48	6,0	1	0,1
Betonbauer	32	4,0	17	2,1
Stukkateur, Gipser, Verputzer	30	3,7	9	1,1
Rentner	28	3,5	1	0,1
Maurer usw. (nur Angabe der Berufsgruppe)	22	2,7	6	0,7
Estrich-, Terazzoleger	16	2,0	3	0,4
Betonsanierer	14	1,7	4	0,5
Angabe fehlt	0	0	508	63,2

Als mutmaßlicher Auslöser des Ekzems (Allergenquelle) wurden am häufigsten Baustoffe (Zement, Fliesenkleber usw.) verdächtigt (544 Pat.; 67,7%). Es folgten Handschuhe (152 Pat.; 18,9%), Kleber (122 Pat., 15,2%) und Gummi (sonstiges) (91 Pat.; 11,3%).

Die häufigsten Diagnose lauteten: allergisches Kontaktekzem (344 Pat.; 42,8%), chronisches irritatives Kontaktekzem (110 Pat.; 13,7%), atopisches Ekzem (61 Pat.; 7,6%), dyshidrotisches Ekzem (43 Pat.; 5,3%), hyperkeratotisches Ekzem (43 Pat.; 5,3%), nicht klassifiziertes Ekzem (30 Pat.; 3,7%) und atopisches Palmarekzem (22 Pat.; 2,7%). Ein aerogenes Kontaktekzem (airborne dermatitis) lag bei 16 Patienten (2,0%) vor, eine akutes irritatives Kontaktekzem bei 12 Patienten (1,5%).



### 3.8.1.2 Reaktionshäufigkeiten

In Tabelle 3.8.1.2.1 sind die 35 am häufigsten positiv getesteten Allergene zusammengestellt. Wie zu erwarten, ist das häufigste Allergen Dichromat; entsprechende Sensibilisierungen wurden durch den Umgang mit Zement und zementhaltigen Produkten erworben [Geier und Schnuch 1995, Uter et al. 2004, Geier et al. 2011]. In Deutschland wird erst seit 2000 chromatarmer Zement mit weniger als 2 ppm wasserlöslichem Chrom VI in größerem Umfang eingesetzt; eine Verordnung der Europäischen Union, die die Verwendung von chromatarmem Zement bei Verarbeitung mit den Händen vorschreibt, ist seit 2005 in Kraft [Geier et al. 2012 b]. Seither ist die Zahl der Neu-Sensibilisierungen zurückgegangen [Geier et al. 2011, Geier et al. 2012 b]. Bei einer Datenanalyse wie der hier vorliegenden, deren Auswertungszeitraum 2002 beginnt, und die auch Patienten einschließt, die schon viele Jahre im Baugewerbe arbeiten, ist aufgrund der früheren Exposition gegenüber chromathaltigem Zement mit einer hohen Quote von Chromat-Sensibilisierten zu rechnen [vergl. Geier et al. 2011]. Kobalt-Sensibilisierungen werden von Patienten mit allergischem Kontaktekzem durch Chromat im Zement als Kopplungsallergie erworben, da Kobalt auch in Zement vorhanden ist, und auf der Haut von Ekzempatienten in eine sensibilisierungsfähige Form überführt werden kann. Dies erklärt die sehr hohe Quote allergischer Reaktionen auf Kobaltchlorid [Geier et al. 2011, Geier et al. 2012 b]. Im Übrigen wird das Spektrum der 35 häufigsten Allergene dominiert von Komponenten von Epoxidharz-Systemen und Gummiinhaltsstoffen wie Thiuramen, Dithiocarbamaten und Mercaptobenzothiazol-Derivaten. Weitere Allergene der DKG-Standardreihe sind ebenfalls unter den 35 häufigsten Allergenen diese Gruppe vertreten, jedoch nicht mit erhöhten Sensibilisierungsquoten.

Tabelle 3.8.1.2.1:

Die 35 häufigsten Allergene bei 804 Patienten mit Berufsdermatose und Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter o.ä. als aktuellem oder früherem Beruf. Es sind die nicht adjustierten (rohe) Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote positiver Reaktionen [95%-CI]
Kaliumdichromat	702	163	23,2 [20,1 - 26,5]
Epoxidharz	706	108	15,3 [12,7 - 18,2]
Kobaltchlorid	716	88	12,3 [10,0 - 14,9]
Thiuram Mix	709	69	9,7 [7,7 - 12,2]
1,6-Hexandioldiglycidylether	329	48	14,6 [11,0 - 18,9]
1,4-Butandioldiglycidylether	326	44	13,5 [10,0 - 17,7]
Tetraethylthiuramdisulfid	388	43	11,1 [8,1 - 14,6]
Nickelsulfat	714	41	5,7 [4,2 - 7,7]
Phenylglycidylether	510	40	7,8 [5,7 - 10,5]
m-Xylidendiamin	238	39	16,4 [11,9 - 21,7]
Tetramethylthiurammonosulfid	387	36	9,3 [6,6 - 12,6]
Kolophonium	715	34	4,8 [3,3 - 6,6]
Perubalsam	720	34	4,7 [3,3 - 6,5]
4,4'-Diaminodiphenylmethan	517	33	6,4 [4,4 - 8,8]
Duftstoff-Mix	712	30	4,2 [2,9 - 6,0]
Tetramethylthiuramdisulfid	388	27	7,0 [4,6 - 10,0]
Methyldibromo Glutaronitril (Dibromdicyanobutan)	507	26	5,1 [3,4 - 7,4]
Isophorondiamin (IPD)	472	25	5,3 [3,5 - 7,7]
BIS-GMA	435	25	5,7 [3,8 - 8,4]
(Chlor)-Methylisothiazolinon (MCI/MI)	719	23	3,2 [2,0 - 4,8]
Cresylglycidylether	466	22	4,7 [3,0 - 7,1]
1,3-Diphenylguanidin (DPG)	433	20	4,6 [2,8 - 7,0]
1,2-Benzisothiazolin-3-on, Natriumsalz	487	20	4,1 [2,5 - 6,3]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.8.1.2.1 (Fortsetzung):

Die 35 häufigsten Allergene bei 804 Patienten mit Berufsdermatose und Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter o.ä. als aktuellem oder früherem Beruf. Es sind die nicht adjustierten (rohe) Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote positiver Reaktionen [95%-CI]
Wollwachsalkohole	719	19	2,6 [1,6 - 4,1]
Butylglycidylether	466	19	4,1 [2,5 - 6,3]
Benzoylperoxid	442	18	4,1 [2,4 - 6,4]
p-tert-Butylphenylglycidylether	235	18	7,7 [4,6 - 11,8]
p-Phenylendiamin	330	17	5,2 [3,0 - 8,1]
Zink-diethyldithiocarbamat	710	17	2,4 [1,4 - 3,8]
Bisphenol F-Epoxidharz	41	17	41,5 [26,3 - 57,9]
Dipentamethylthiuramdisulfid	389	15	3,9 [2,2 - 6,3]
Mercaptobenzothiazol	714	14	2,0 [1,1 - 3,3]
N-Isopropyl-N'-phenyl-p-phenylendiamin	707	14	2,0 [1,1 - 3,3]
Mercapto-Mix	699	14	2,0 [1,1 - 3,3]
Morpholinylmercaptobenzothiazol	401	13	3,2 [1,7 - 5,5]

Aus Tabelle 3.8.1.2.1 ist zu entnehmen, dass 108 der 706 Patienten, bei denen Epoxidharz auf Basis von DGEBA getestet wurde, positiv reagiert haben. Das vollständige Reaktionsspektrum ist in Tabelle 3.8.1.2.2 wiedergegeben.

Tabelle 3.8.1.2.2:

804 Patienten mit Berufsdermatose und Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter o.ä. als aktuellem oder früherem Beruf: Reaktionen auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas.

Reaktion	Anzahl	Prozent
negativ	583	82,6
fraglich	10	1,4
follikulär	2	0,3
+	42	5,9
++	44	6,2
+++	22	3,1
irritativ	3	0,4
Summe	706	100,0

Insgesamt ergaben sich bei 108 von 706 Patienten positive Reaktionen, das entspricht einer Reaktionsquote von 15,3%. Der Reaktions-Index (RI) lag bei 0,76, die Positivity Ratio (PR) bei 38,9%.

Wie in Abschnitt 3.3.1 erläutert, wurden weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen (DGEBA-Harz, Härter und Reaktivverdünner) mit unterschiedlicher Häufigkeit epikutan getestet. Bei 100 der 108 Patienten (92,6%) mit positiver Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Härter epikutan getestet: MXDA, IPDA, DETA, TETA, TMHDA . 65 dieser Patienten (65%) reagierten auf keinen der Härter positiv. 20 Patienten (20%) reagierten auf einen Härter, 13 Patienten (13%) auf 2 Härter und 3 Patienten (3%) auf 3 Härter. Bei 93 der 108 Patienten (86,1%) mit positiver Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, TMPTGE, BGE, PTBPGE. 50 der 93 Patienten (53,8%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 14 Patienten (15,1%) reagierten auf einen Verdünner, 15 Patienten (16,1%) auf 2 Verdünner, 9 Patienten (9,7%) auf 3, 4 Patienten (4,3%) auf 4, und 1 Patient (1,1%) auf 5 Reaktivverdünner. Die 93 mit den Reaktivverdünnern getesteten Patienten wurden alle auch mit den genannten Härtern getestet; insofern handelt es sich also um dieselben Patienten, von denen 93 mit Härtern und Reaktivverdünnern getestet wurden, und 7 nur mit Härtern. Fasst man die Ergebnisse zusammen, um festzustellen wie häufig Reaktionen auf Härter *oder* Reaktivverdünner insgesamt waren, so ergibt sich Folgendes.

42 der 100 Patienten (42%), bei denen mindestens einer der fünf oben genannten Härter und/oder mindestens einer der fünf oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet wurde, reagierten auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. 15 Patienten (15%) reagierten positiv auf eine dieser Verbindungen, 20 Patienten (20%) auf 2, 10 Patienten (10%) auf 3, 6 Patienten (6%) auf 4 und 7 Patienten (7%) auf 5 der 10 Härter und Verdünner. Die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen Härter und Reaktivverdünner, die bei Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz beobachtet wurden, sind in Tabelle 3.8.1.2.3 zusammengestellt. Wie in der Gesamtgruppe der Patienten mit Epoxidharz-Allergie (Tabelle 3.3.3.1), so waren auch hier 1,6-HDDGE und 1,4-BDDGE unter den Reaktivverdünnern die häufigsten Allergene, gefolgt von PGE, PTBPGE und CGE. Unter den Amin-Härtern war – ebenfalls wie in der Gesamtgruppe der 1.453 Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz – MXDA das häufigste Allergen. Auffällig ist hier jedoch die extrem hohe Quote positive Reaktionen auf MXDA, die mit 49,0% sogar statistisch signifikant höher liegt als bei den übrigen Patienten mit Epoxidharz-Allergie, wo 12,8% (95%-CI 9,2% - 17,2%; 37 von 289 Getesteten) positive Reaktionen beobachtet wurden. Besonders bemerkenswert ist, dass die höhere Reaktionsquote bei den im Baugewerbe Beschäftigten mit Epoxidharz-Allergie beobachtet wurde, obwohl hier ein höherer Anteil der gegen DGEBA-Harz Sensibilisierten mit MXDA getestet wurde als bei den übrigen Patienten (51 von 108 = 47,2% vs. 289 von 1.345 = 21,5%). Unter diesen Voraussetzungen hätte man eher eine niedrigere Sensibilisierungsquote erwartet, da offenbar breiter (also möglicherweise ungezielter) getestet wurde. IPDA und TMHDA führten mit 18,3% bzw. 16,3% ähnlich häufig zu positiven Reaktionen.

Tabelle 3.8.1.2.3:

Patienten mit positiver Reaktion auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. (n=108): Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	19	13	68,4 [43,4 – 87,4]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	69	33	47,8 [35,6 – 60,2]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	69	31	44,9 [32,9 – 57,4]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	94	29	30,9 [21,7 – 41,2]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	51	12	23,5 [12,8 – 37,5]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	93	18	19,4 [11,9 – 28,9]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	93	11	11,8 [6,1 – 20,2]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	51	5	9,8 [3,3 - 21,4]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	51	25	49,0 [34,8 – 63,4]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	93	17	18,3 [11,0 – 27,6]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	43	7	16,3 [6,8 – 30,7]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	46	3	6,5 [1,4 – 17,9]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	65	0	0,0 [0,0 – 5,5]

Da, wie in Abschnitt 3.5.1 ausgeführt, 5-22% der positiven Reaktionen auf die Reaktivverdünner, 16% der allergischen Reaktionen auf MXDA, 40% der Reaktionen auf IPDA und 60-65% der Reaktionen auf TMHDA, DETA oder TETA bei Patienten auftreten, die nicht gegen DGEBA-Harz sensibilisiert sind, ist es gerechtfertigt, auch die Gesamtmenge der Reaktionen auf Reaktivverdünner und Amin-Härter unabhängig von der Reaktivität auf das DGEBA-Harz auch bei den Maurern, Fliesenlegern, Bauarbeitern usw. mit Berufsdermatose zu untersuchen (siehe Tabelle 3.8.1.2.4). Der Anteil der mit den einzelnen Komponenten Getesteten lag hier wesentlich höher als in der Gesamtgruppe (Tabelle 3.5.1.2), meist etwa um den Faktor 10. Da auch die Quote positiver Reaktionen auf das DGEBA-Harz etwa um den Faktor 10 höher lag, hätte man ähnliche Reaktionsquoten auf Reaktivverdünner und Härter erwarten können wie in der Gesamtgruppe. Die Reaktionsquoten lagen aber bis auf

wenige Ausnahmen erheblich höher als in der Gesamtgruppe. Entweder wurde bei den Maurern usw. mit Berufsdermatose also viel gezielter getestet als in der Gesamtgruppe oder diese Berufsgruppe ist in der Tat besonders gefährdet, eine Sensibilisierung gegen Amin-Härter oder Reaktivverdünner zu erwerben.

Tabelle 3.8.1.2.4:

804 Patienten mit Berufsdermatose und Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter o.ä. als aktuellem oder früherem Beruf: Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	41	17	41,5 [26,3 – 57,9]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	330	48	14,5 [10,9 – 18,8]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	327	44	13,5 [9,9 – 17,6]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	512	40	7,8 [5,6 – 10,5]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	236	18	7,6 [4,6 – 11,8]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	467	22	4,7 [3,0 – 7,0]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	467	19	4,1 [2,5 – 6,3]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	234	6	2,6 [0,9 – 5,5]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	237	39	16,5 [12,0 – 21,8]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	472	25	5,3 [3,5 – 7,7]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	221	9	4,1 [1,9 – 7,6]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	276	3	1,1 [0,2 – 3,1]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	401	2	0,5 [0,1 – 1,8]

### 3.8.1.3 Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen

Analog zu dem Vorgehen in Abschnitt 3.3.5 wird in Tabelle 3.8.1.3.1 die Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei den insgesamt 108 Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind, gegenübergestellt.

Tabelle 3.8.1.3.1:

Gegenüberstellung der Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei Patienten mit positiver Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz und der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind.

Substanz	Sensibilisierungs-Quote	Häufigkeit in SiDaBs
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	68,4 [43,4 – 87,4]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	47,8 [35,6 – 60,2]	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	44,9 [32,9 – 57,4]	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	30,9 [21,7 – 41,2]	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	23,5 [12,8 – 37,5]	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)	19,4 [11,9 – 28,9]	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	11,8 [6,1 – 20,2]	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	9,8 [3,3 - 21,4]	selten / kaum verbreitet
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	49,0 [34,8 – 63,4]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	18,3 [11,0 – 27,6]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	16,3 [6,8 – 30,7]	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	6,5 [1,4 – 17,9]	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	0,0 [0,0 – 5,5]	häufig / weit verbreitet



Im Wesentlichen sind die in Tabelle 3.8.1.3.1 dargestellten Daten nicht anders zu beurteilen als die Daten in Tabelle 3.3.5.1. Dies gilt insbesondere für die Reaktivverdünner. Bei den Härtern ergeben sich durch die höheren Reaktionsquoten auf MXDA und TMHDA und die niedrigere Quote positiver Reaktionen auf TETA kleinere Unterschiede im Ranking bezüglich der sensibilisierenden Wirkung. Wenn man mit den Angaben zur Sensibilisierungshäufigkeit (Reaktionsquote) einerseits und der Häufigkeit der Nennung in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern andererseits einen Quotienten bildet, so ergibt sich folgende Reihenfolge: DETA > MXDA > TMHDA > IPDA > TETA. Hier sind die Abstände zwischen den einzelnen Härtern deutlicher als in der Gesamtgruppe der Patienten mit positiver Reaktion auf Epoxidharz.

Ebenfalls analog zum Vorgehen in Abschnitt 3.3.5 wurde ein SEQ berechnet. Bezugsgrößen waren die Grundgesamtheit von insgesamt 52 allergischen Reaktionen auf MXDA, IPDA, TMHDA, DETA und TETA (siehe Tabelle 3.8.1.2.3). Dieselben 5 Amin-Härter sind in insgesamt 2140 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern aufgeführt (siehe Tabelle 2.3). In Tabelle 3.8.1.3.2 ist der Anteil der allergischen Reaktionen auf jeden einzelnen Amin-Härter an den insgesamt 52 allergischen Reaktionen auf alle 5 Amin-Härter zusammen dem Anteil der Nennungen in Sicherheitsdatenblättern an den insgesamt 2140 Sicherheitsdatenblättern gegenübergestellt. Der SEQ wird durch Division des prozentualen Anteils der allergischen Reaktionen an der Gesamtmenge der allergischen Reaktionen auf Amin-Härter (Spalte 3) durch den Anteil der Nennungen des einzelnen Amin-Härters an der Gesamtmenge von 2140 Sicherheitsdatenblättern (Spalte 5) berechnet. Der SEQ ist in Spalte 6 aufgeführt. Auch mit dieser Methode ergibt sich dasselbe Ranking wie bereits erwähnt: DETA hat den höchsten SEQ (1,9) gefolgt von MXDA (1,7), TMHDA (0,9), IPDA (0,7), und TETA (0). Auch hier gilt, wie in der Gesamtgruppe der Epoxidharz-Positiven, dass der SEQ von IPDA bei dieser Berechnung möglicher Weise überschätzt wird, da IPDA fast doppelt so häufig getestet wurde wie die anderen Amin-Härter, so dass auch entsprechend mehr Sensibilisierungen festgestellt wurden, die in die Berechnung eingeflossen sind. Auch TETA wurde häufiger getestet als die anderen Amin-Härter, nämlich etwa 1,7mal so häufig. (Würde man unter der Annahme von 20% positiven Reaktionen auf IPDA bei 50 Testungen (Testzahl ähnlich wie MXDA) die SEQs berechnen, so ergäben sich folgende Werte: DETA – 2,2; MXDA – 2,0; TMHDA – 1,0; IPDA – 0,5; TETA – 0,0.)

Tabelle 3.8.1.3.2:

Ermittlung eines „Sensitization Exposure Quotient“ (SEQ) durch Gegenüberstellung des Anteils der Sensibilisierungen gegen einzelne Amin-Härter an der Gesamtmenge der Sensibilisierungen gegen Amin-Härter (Spalte 3) und des Anteils der einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge der Nennungen dieser Amin-Härter in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) (Spalte 5). Der SEQ (Spalte 6) wird ermittelt, indem der Wert in Spalte 3 durch den Wert in Spalte 5 dividiert wird.

Substanz	Anzahl Sensibilisierungen	Anteil an 52 Sensibil. gegen Amin-Härter	Anzahl Nennungen in SiDaBs	Anteil an 2.140 Nennungen in SiDaBs	SEQ
m-Xylidendiamin (MXDA)	25	48,1 %	608	28,4 %	1,7
Isophorondiamin (IPDA)	17	32,7 %	1009	47,1 %	0,7
Trimethylhexan-1,6-diamin	7	13,5 %	320	15,0 %	0,9
Diethylentriamin (DETA)	3	5,8 %	65	3,0 %	1,9
Triethylentetramin (TETA)	0	0 %	138	6,5 %	0

Wie in Abschnitt 3.5.1 ausgeführt, treten 5-22% der positiven Reaktionen auf die Reaktivverdünner, 16% der allergischen Reaktionen auf MXDA, 40% der Reaktionen auf IPDA und 60-65% der Reaktionen auf TMHDA, DETA oder TETA bei Patienten auf., die nicht gegen DGEBA-Harz sensibilisiert sind. Daher ist es gerechtfertigt, bei einer Gegenüberstellung der Sensibilisierungshäufigkeiten und der Daten zur Verbreitung nicht nur die Patienten zu berücksichtigen, die gegen DGEBA-Epoxidharz sensibilisiert sind (wie dies in den Tabellen 3.8.1.3.1 und 3.8.1.3.2 getan wurde), sondern alle gegen den jeweiligen Amin-Härter sensibilisierten Patienten.

In Tabelle 3.8.1.3.3 sind nun die Sensibilisierungshäufigkeiten auf diese Komponenten unabhängig von einer Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz aufgeführt.

Tabelle 3.8.1.3.3:

Gegenüberstellung der Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen (unabhängig von der Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz) und der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind.

Substanz	Sensibilisierungs-Quote	Häufigkeit in SiDaBs
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	41,5 [26,3 – 57,9]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	14,5 [10,9 – 18,8]	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	13,5 [9,9 – 17,6]	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	7,8 [5,6 – 10,5]	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	7,6 [4,6 – 11,8]	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)	4,7 [3,0 – 7,0]	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	4,1 [2,5 – 6,3]	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	2,6 [0,9 – 5,5]	selten / kaum verbreitet
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	16,5 [12,0 – 21,8]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	5,3 [3,5 – 7,7]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	4,1 [1,9 – 7,6]	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	1,1 [0,2 – 3,1]	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	0,5 [0,1 – 1,8]	häufig / weit verbreitet

Vergleicht man diese Daten mit Tabelle 3.5.3.1, in der die analoge Auswertung für alle Patienten wiedergegeben ist, und nicht nur für die Maurer usw. mit Berufsdermatose, dann sieht man hier allgemein deutlich höhere Reaktionsquoten. Dies spricht für eine gezieltere Testung. Das Ranking ist aber insgesamt dasselbe wie in Tabelle 3.5.3.1. Allein TMHDA tritt mit einer höheren Reaktionsquote hervor.

Wenn man bei den Amin-Härtern mit den Angaben zur Sensibilisierungshäufigkeit (Reaktionsquote) einerseits und der Häufigkeit der Nennung in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern andererseits einen Quotienten bildet, so ergibt sich hier folgende Reihenfolge: MXDA > DETA > TMHDA > IPDA > TETA. Dabei liegt MXDA mit großem Abstand an der Spitze, und der Unterschied zwischen DETA und TMHDA ist nur gering. Mit wiederum größerem Abstand folgen dann IPDA und TETA, zwischen denen keine große Differenz besteht.

Analog zum Vorgehen in Abschnitt 3.3.5 wurde auch für diese Gruppe ein SEQ berechnet. Bezugsgrößen waren die Grundgesamtheit von insgesamt 78 allergischen Reaktionen auf MXDA, IPDA, TMHDA, DETA und TETA (siehe Tabelle 3.8.1.2.4). Dieselben 5 Amin-Härter sind in insgesamt 2140 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern aufgeführt (siehe Tabelle 2.3). In Tabelle 3.8.1.3.4 ist der Anteil der allergischen Reaktionen auf jeden einzelnen Amin-Härter an den insgesamt 78 allergischen Reaktionen auf alle 5 Amin-Härter zusammen dem Anteil der Nennungen in Sicherheitsdatenblättern an den insgesamt 2140 Sicherheitsdatenblättern gegenübergestellt. Der SEQ wird durch Division des prozentualen Anteils der allergischen Reaktionen an der Gesamtmenge der allergischen Reaktionen auf Amin-Härter (Spalte 3) durch den Anteil der Nennungen des einzelnen Amin-Härters an der Gesamtmenge von 2140 Sicherheitsdatenblättern (Spalte 5) berechnet. Der SEQ ist in Spalte 6 aufgeführt. Auch mit dieser Methode ergibt sich dasselbe Ranking wie bereits erwähnt: MXDA hat den höchsten SEQ (1,8) gefolgt von DETA (1,3), TMHDA (0,8), IPDA (0,7), und TETA (0,4). Auch hier gilt, wie in der Gesamtgruppe der Epoxidharz-Positiven, dass der SEQ von IPDA bei dieser Berechnung möglicher Weise überschätzt wird, da IPDA fast doppelt so häufig getestet wurde wie die anderen Amin-Härter, so dass auch entsprechend mehr Sensibilisierungen festgestellt wurden, die in die Berechnung eingeflossen sind. (Würde man unter der Annahme von 5,3% positiven Reaktionen auf IPDA bei 245 Testungen (Testzahl ähnlich wie MXDA) die SEQs berechnen, so ergäben sich folgende Werte: MXDA – 2,1; DETA – 1,5; TMHDA – 0,9; IPDA – 0,4; TETA – 0,5.)

Tabelle 3.8.1.3.4:

Ermittlung eines „Sensitization Exposure Quotient“ (SEQ) durch Gegenüberstellung des Anteils der Sensibilisierungen gegen einzelne Amin-Härter an der Gesamtmenge der Sensibilisierungen gegen Amin-Härter (Spalte 3) und des Anteils der einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge der Nennungen dieser Amin-Härter in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) (Spalte 5). Der SEQ (Spalte 6) wird ermittelt, indem der Wert in Spalte 3 durch den Wert in Spalte 5 dividiert wird.

Substanz	Anzahl Sensibilisierungen	Anteil an 78 Sensibil. gegen Amin-Härter	Anzahl Nennungen in SiDaBs	Anteil an 2.140 Nennungen in SiDaBs	SEQ
m-Xylidendiamin (MXDA)	39	50,0 %	608	28,4 %	1,8
Isophorondiamin (IPDA)	25	32,1 %	1009	47,1 %	0,7
Trimethylhexan-1,6-diamin	9	11,5 %	320	15,0 %	0,8
Diethylentriamin (DETA)	3	3,8 %	65	3,0 %	1,3
Triethylentetramin (TETA)	2	2,6 %	138	6,5 %	0,4

Man kann also festhalten, dass in der Baubranche offenbar MXDA und DETA als Sensibilisatoren wesentlich bedeutender sind IPDA und TETA, während TMHDA dazwischen liegt. Die dennoch relativ hohe absolute Zahl von gegen IPDA Sensibilisierten liegt an der sehr, sehr weiten Verbreitung von IPDA.

### 3.8.2 Maler und Lackierer

#### 3.8.2.1 Klinische und anamnestische Daten

In den Jahren 2002 bis 2011 wurden in den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen insgesamt 533 Patienten mit Berufsdermatose bzw. Hautveränderungen im Beruf epikutan getestet, bei denen als aktueller oder früherer Beruf Maler und Lackierer genannt war. Tabelle 3.8.2.1.1 gibt eine Beschreibung dieser Patientengruppe mit dem MOAHLFA-Index.

Tabelle 3.8.2.1.1:

MOAHLFA-Index der 533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf.

	Anzahl	Prozent
Männer	455	85,4
Berufsdermatose	533	100,0
Atopische Dermatitis	102	19,1
Handekzem	317	59,5
Beinekzem	13	2,4
Gesichtsekzem	61	11,4
Alter >= 40 Jahre	265	49,7

Erwartungsgemäß dominieren auch in dieser Berufsgruppe die Männer. Insgesamt ist diese Patientengruppe relativ jung. In Tabelle 3.8.2.1.2 sind die aktuellen und früheren Berufe dieser Patienten zusammengestellt.

Tabelle 3.8.2.1.2:

Die häufigsten aktuelle und frühere Berufe der 533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf.

Beruf	aktuell		früher	
	n	%	n	%
Maler, Lackierer	364	68,3	100	18,8
arbeitslos	42	7,9	0	0
Warenmaler, Autolackierer	36	6,8	11	2,1
Dekorationen-, Schildermaler	9	1,7	4	0,8
Rentner	8	1,5	0	0
Korrosionsschützer	7	1,3	2	0,4
Andere Berufe	67	12,6	31	5,8
Angabe fehlt	0	0	385	72,2

Die häufigsten mutmaßlichen Auslöser des Ekzems (Allergenquellen) sind in Tabelle 3.8.2.1.3 dargestellt.

Tabelle 3.8.2.1.3:

Mutmaßliche Allergenquellen bei 533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf. In der IVDK-Dokumentation können bis zu 3 entsprechende Bereiche angegeben werden. Es sind alle Kontaktstoffkategorien angegeben, die bei mindestens 2 % der Patienten genannt wurden.

Kontaktstoff-Kategorie	n	%
Farben, Lacke	339	63,6
Kleber	88	16,5
Baustoffe (Zement, Fliesenkleber...)	73	17,3
Kosmetika, Cremes, Lichtschutzmittel	59	11,1
Handschuhe (Leder, Gummi, Stoff...)	51	9,6
Gummi (sonstiges)	50	9,4
Farben / frisch gestrichene Räume	48	9,0
Kunststoffe	44	8,3
Lösemittel, Benzin...	41	7,7
Chemikalien (sonstige)	33	6,2
Medikamente, äußerlich	31	5,8
Kühlschmierstoffe	15	2,8
Fette, Öle	11	2,1

Die häufigsten Hauptabschlussdiagnosen lauteten: allergisches Kontaktekzem (201 Pat.; 37,7%), chronisches irritatives Kontaktekzem (89 Pat.; 16,7%), atopisches Ekzem (33 Pat.; 6,2%), dyshidrotisches Ekzem (30 Pat.; 5,6%), Ausschluss einer Sensibilisierung (27 Pat., 5,1%), aerogenes Ekzem (18 Pat., 3,4%), hyperkeratotisches Ekzem (16 Pat.; 3,0%), nicht klassifiziertes Ekzem (15 Pat.; 2,8%) und atopisches Palmarekzem (12 Pat.; 2,3%). Ein akutes irritatives Kontaktekzem lag bei 11 Patienten (2,1%) vor.

### 3.8.2.2 Reaktionshäufigkeiten

In Tabelle 3.8.2.2.1 sind die 30 am häufigsten positiv getesteten Allergene zusammengestellt. Das Epoxidharz auf Basis von DGEBA ist das häufigste Allergen; unter den 30 häufigsten Allergenen finden sich etliche weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen, aber keine anderen Kunstharze oder deren Bestandteile. 14 der 16 Patienten mit positiver Reaktion auf BIS-GMA reagierten auch auf das DGEBA-Epoxidharz, einer nicht, und bei einem weiteren wurde Epoxidharz nicht getestet. Sehr wahrscheinlich liegen hier keine originären Sensibilisierungen gegen BIS-GMA vor, sondern immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz [Geier et al. 2007]. Auffallend sind ferner die hohen Reaktionsquoten auf MCI/MI und weitere Isothiazolinone, besonders MI. Isothiazolinone werden weit verbreitet zur Konservierung von Wandfarben eingesetzt, zum Teil in recht hohen Konzentrationen [Schnuch et al. 2002, Geier et al. 2012 c]. Aus den frisch aufgetragenen Farben dunsten über mehrere Tage Isothiazolinone aus, so dass bei Sensibilisierten ein aerogenes allergisches Kontaktekzem ausgelöst werden kann [Schnuch et al. 2002, Geier et al. 2012 c].

Tabelle 3.8.2.2.1:

Die 30 häufigsten Allergene bei 533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechts-standardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand, % pos. [95%-CI]
Epoxidharz	481	86	17,9 [14,6 - 21,6]	15,4 [8,7 - 22,1]
(Chlor)-Methylisothiazolinon (MCI/MI)	477	47	9,9 [7,3 - 12,9]	7,3 [3,1 - 11,4]
Nickelsulfat	471	37	7,9 [5,6 - 10,7]	25,5 [16,1 - 34,9]
Phenylglycidylether	410	34	8,3 [5,8 - 11,4]	8,1 [2,9 - 13,3]
1,6-Hexandioldiglycidylether	282	33	11,7 [8,2 - 16,0]	9,4 [2,8 - 16,0]
1,4-Butandioldiglycidylether	282	28	9,9 [6,7 - 14,0]	9,5 [2,7 - 16,3]
Kobaltchlorid	476	27	5,7 [3,8 - 8,1]	10,4 [3,8 - 17,0]
Methylisothiazolinon	183	27	14,8 [10,0 - 20,7]	9,5 [3,4 - 15,6]
Kaliumdichromat	477	26	5,5 [3,6 - 7,9]	8,9 [2,8 - 15,1]
Perubalsam	477	26	5,5 [3,6 - 7,9]	7,8 [1,9 - 13,8]

Fortsetzung nächste Seite



Tabelle 3.8.2.2.1 (Fortsetzung):

Die 30 häufigsten Allergene bei 533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechts-standardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand, % pos. [95%-CI]
Benzoylperoxid	393	25	6,4 [4,2 - 9,2]	6,0 [1,2 - 10,8]
p-tert-Butylphenylglycidylether	202	21	10,4 [6,6 - 15,5]	6,7 [2,4 - 11,1]
Methyldibromo Glutaronitril	383	20	5,2 [3,2 - 7,9]	2,0 [1,2 - 2,9]
4,4'-Diaminodiphenylmethan	417	17	4,1 [2,4 - 6,4]	5,0 [0,3 - 9,8]
Isophorondiamin	405	17	4,2 [2,5 - 6,6]	1,7 [0,9 - 2,5]
1,2-Benzisothiazolin-3-on, Natriumsalz	284	17	6,0 [3,5 - 9,4]	3,8 [0,5 - 7,2]
m-Xylidendiamin	206	17	8,3 [4,9 - 12,9]	9,1 [0,0 - 18,7]
Duftstoff-Mix	476	16	3,4 [1,9 - 5,4]	3,6 [0,0 - 7,3]
BIS-GMA	384	16	4,2 [2,4 - 6,7]	4,5 [0,0 - 9,0]
Bisphenol F-Epoxidharz	31	16	51,6 [33,1 - 69,8]	31,8 [14,8 - 48,9]
Kolophonium	474	15	3,2 [1,8 - 5,2]	4,0 [0,1 - 8,0]
Thiuram-Mix	476	13	2,7 [1,5 - 4,6]	5,1 [0,0 - 10,1]
1,3-Diphenylguanidin	259	11	4,2 [2,1 - 7,5]	4,0 [0,0 - 9,0]
Octylisothiazolinon	205	11	5,4 [2,7 - 9,4]	3,8 [0,0 - 8,0]
Butylglycidylether	396	11	2,8 [1,4 - 4,9]	1,1 [0,5 - 1,8]
Terpentin	476	10	2,1 [1,0 - 3,8]	2,5 [0,0 - 6,1]
Cresylglycidylether	395	9	2,3 [1,0 - 4,3]	0,9 [0,3 - 1,5]
Trimethylhexan-1,6-diamin	203	9	4,4 [2,0 - 8,2]	1,8 [0,7 - 3,0]
p-Phenylendiamin	206	8	3,9 [1,7 - 7,5]	1,6 [0,5 - 2,7]
Duftstoff-Mix II	349	8	2,3 [1,0 - 4,5]	1,6 [0,0 - 3,5]

Aus Tabelle 3.8.2.2.1 ist zu entnehmen, dass 86 der 481 Patienten, bei denen Epoxidharz auf Basis von DGEBA getestet wurde, positiv reagiert haben. Das vollständige Reaktionsspektrum ist in Tabelle 3.8.2.2.2 wiedergegeben.

Tabelle 3.8.2.2.2:

533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf: Reaktionen auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas.

Reaktion	Anzahl	Prozent
negativ	390	81,1
fraglich	4	0,8
+	31	6,4
++	42	8,7
+++	13	2,7
irritativ	1	0,2
Summe	481	100,0

Insgesamt ergaben sich bei 86 von 481 Patienten positive Reaktionen, das entspricht einer Reaktionsquote von 17,9%. Der Reaktions-Index (RI) lag bei 0,89, die Positivity Ratio (PR) bei 36,0%.

Wie in Abschnitt 3.3.1 erläutert, wurden weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen (DGEBA-Harz, Härter und Reaktivverdünner) mit unterschiedlicher Häufigkeit epikutan getestet. Da in dieser Berufsgruppe nur 86 Patienten positiv auf das DGEBA-Epoxidharz reagiert haben, wurde auf eine gesonderte Auswertung der Reaktionen auf Amin-Härter und Reaktivverdünner bei den Epoxidharz-Positiven verzichtet. Vielmehr wurde von vornherein die Gesamtmenge aller Patienten berücksichtigt, bei denen die Härter und/oder Verdünner getestet wurden, unabhängig von ihrem Sensibilisierungsstatus gegenüber dem DGEBA-Harz. Bei 419 der 533 Patienten (78,6%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Härter epikutan getestet: MXDA, IPDA, DETA, TETA, TMHDA. 387 dieser Patienten (92,4%) reagierten auf keinen der Härter positiv. 23 Patienten (5,5%) reagierten auf einen Härter, 5 Patienten (1,2%) auf 2 Härter und 4 Patienten (1%) auf 3 Härter. Bei 397 der 533 Patienten (74,5%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, TMPTGE, BGE, PTBPGE. 348 der 397 Patienten (87,7%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 21 Patienten (5,3%) reagierten auf einen Verdünner, 15 Patienten (3,8%) auf 2 Verdünner, 7 Patienten (1,8%) auf 3, 5 Patienten (1,25%) auf 4, und 1 Patient (0,25%) auf 5 Reaktivverdünner. Die 397 mit den Reaktivverdünnern getesteten Patienten wurden alle auch mit den genannten Härtern getestet; insofern handelt es sich also um dieselben Patienten, von denen 397 mit Härtern und Reaktivverdünnern getestet wurden, und 22 nur mit Härtern. Fasst man die Ergebnisse zusammen, um festzustellen wie häufig Reaktionen auf Härter *oder* Reaktivverdünner insgesamt waren, so ergibt sich Folgendes.

354 der 419 Patienten (84,5%), bei denen mindestens einer der fünf oben genannten Härter und/oder mindestens einer der fünf oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet wurde, reagierten auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. 26 Patienten (6,2%) reagierten positiv auf eine dieser Verbindungen, 18 Patienten (4,3%) auf 2, 9 Patienten (2,1%) auf 3, 8 Patienten (1,9%) auf 4, 3 Patienten (0,7%) auf 5 und 1 Patient (0,25%) auf 6 der 10 Härter und Verdünner.

Die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen Härter und Reaktivverdünner sind in Tabelle 3.8.2.2.3 zusammengestellt. Die Reaktionsquoten sind ähnlich wie bei den Maurern, Fliesenlegern usw. mit Berufsdermatose (siehe Tabelle 3.8.1.2.4). Es fällt lediglich auf, dass die Quoten positiver Reaktionen auf MXDA bei den Malern und Lackierern nur halb so hoch ist (8,3% vs. 16,5%). Der Unterschied ist jedoch nicht statistisch signifikant. Die Daten sind zudem nur eingeschränkt vergleichbar, weil nicht alle Patienten in jeder Gruppe, sondern nur etwa 30% der Maurer usw. und etwa 39% der Maler und Lackierer mit MXDA getestet wurden. Dies kann zu einer Verzerrung der Reaktionsquoten führen, da die Selektionskriterien für die Testungen nicht bekannt sind.

Tabelle 3.8.2.2.3:

533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf: Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	31	16	51,6 [33,1 – 69,8]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	282	33	11,7 [8,2 – 16,0]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	282	28	9,9 [6,7 – 14,0]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	410	34	8,3 [5,8 – 11,4]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	202	21	10,4 [6,6 – 15,5]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	395	9	2,3 [1,0 – 4,3]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	396	11	2,8 [1,4 – 4,9]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	204	4	2,0 [0,5 – 4,9]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.8.2.2.3 (Fortsetzung):

533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf: Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	206	17	8,3 [4,9 – 12,9]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	403	17	4,2 [2,5 – 6,7]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	192	9	4,7 [2,2 – 8,7]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	245	2	0,8 [0,1 – 2,9]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	167	0	0,0 [0,0 – 2,2]

### 3.8.2.3 Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen

Analog zu dem Vorgehen in Abschnitt 3.5.3 wird in Tabelle 3.8.2.3.1 die Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei den insgesamt 533 Patienten der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind, gegenübergestellt.

Tabelle 3.8.2.3.1:

Gegenüberstellung der Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei 533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf und der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind.

Substanz	Sensibilisierungs-Quote	Häufigkeit in SiDaBs
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	51,6 [33,1 – 69,8]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	11,7 [8,2 – 16,0]	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	9,9 [6,7 – 14,0]	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	8,3 [5,8 – 11,4]	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	10,4 [6,6 – 15,5]	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)	2,3 [1,0 – 4,3]	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	2,8 [1,4 – 4,9]	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	2,0 [0,5 – 4,9]	selten / kaum verbreitet
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	8,3 [4,9 – 12,9]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	4,2 [2,5 – 6,7]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerenmischung; TMHDA)	4,7 [2,2 – 8,7]	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	0,8 [0,1 – 2,9]	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	0,0 [0,0 – 2,2]	häufig / weit verbreitet

Im Wesentlichen sind die in Tabelle 3.8.2.3.1 dargestellten Daten nicht anders zu beurteilen als die Daten in Tabelle 3.8.1.3.3. Dies gilt insbesondere für die Reaktivverdünner. Bei den Härtern ergeben sich durch die niedrigeren Reaktionsquoten auf MXDA und IPDA kleinere Unterschiede im Ranking bezüglich der sensibilisierenden Wirkung. Wenn man mit den Angaben zur Sensibilisierungshäufigkeit (Reaktionsquote) einerseits und der Häufigkeit der Nennung in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern andererseits einen Quotienten bildet, so ergibt sich folgende Reihenfolge: TMHDA > MXDA > DETA > IPDA > TETA. Dabei sind die Abstände zwischen TMHDA, MXDA und DETA nur gering, während IPDA erst mit großem Abstand folgt.

Ebenfalls analog zum Vorgehen in Abschnitt 3.5.3 wurde ein SEQ berechnet. Bezugsgrößen waren die Grundgesamtheit von insgesamt 45 allergischen Reaktionen auf MXDA, IPDA, TMHDA, DETA und TETA (siehe Tabelle 3.8.2.2.3). Dieselben 5 Amin-Härter sind in insgesamt 2140 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern aufgeführt (siehe Tabelle 2.3). In Tabelle 3.8.2.3.2 ist der Anteil der allergischen Reaktionen auf jeden einzelnen Amin-Härter an den insgesamt 45 allergischen Reaktionen auf alle 5 Amin-Härter zusammen dem Anteil der Nennungen in Sicherheitsdatenblättern an den insgesamt 2140 Sicherheitsdatenblättern gegenübergestellt. Der SEQ wird durch Division des prozentualen Anteils der allergischen Reaktionen an der Gesamtmenge der allergischen Reaktionen auf Amin-Härter (Spalte 3) durch den Anteil der Nennungen des einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge von 2140 Sicherheitsdatenblättern (Spalte 5) berechnet. Der SEQ ist in Spalte 6 aufgeführt. Mit dieser Methode ergibt sich ein etwas anderes Ranking: DETA hat den höchsten SEQ (1,5), gefolgt von MXDA und TMHDA (beide 1,3), IPDA (0,8) und TETA (0). Auch hier gilt, dass DETA, TMHDA und MXDA dicht beieinander liegen, während IPDA erst mit größerem Abstand folgt.

IPDA wurde fast doppelt so häufig epikutan getestet wie MXDA, und etwa 1,6mal so häufig wie DETA, so dass auch entsprechend mehr Sensibilisierungen festgestellt wurden, die in die Berechnung des SEQ eingeflossen sind. Daher kann der SEQ von IPDA bei dieser Berechnung möglicher Weise überschätzt worden sein. (Würde man unter der Annahme von 5% positiven Reaktionen auf IPDA bei 240 Testungen (Testzahl ähnlich wie DETA) die SEQs berechnen, so ergäben sich folgende Werte: DETA – 1,7; MXDA – 1,5; TMHDA – 1,5; IPDA – 0,6; TETA – 0,0.)

Tabelle 3.8.2.3.2:

Ermittlung eines „Sensitization Exposure Quotient“ (SEQ) durch Gegenüberstellung des Anteils der Sensibilisierungen gegen einzelne Amin-Härter an der Gesamtmenge der Sensibilisierungen gegen Amin-Härter (Spalte 3) und des Anteils der einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge der Nennungen dieser Amin-Härter in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) (Spalte 5). Der SEQ (Spalte 6) wird ermittelt, indem der Wert in Spalte 3 durch den Wert in Spalte 5 dividiert wird.

Substanz	Anzahl Sensibilisierungen	Anteil an 45 Sensibil. gegen Amin-Härter	Anzahl Nennungen in SiDaBs	Anteil an 2.140 Nennungen in SiDaBs	SEQ
m-Xylidendiamin (MXDA)	17	37,8 %	608	28,4 %	1,3
Isophorondiamin (IPDA)	17	37,8 %	1009	47,1 %	0,8
Trimethylhexan-1,6-diamin	9	20,0 %	320	15,0 %	1,3
Diethylentriamin (DETA)	2	4,4 %	65	3,0 %	1,5
Triethylentetramin (TETA)	0	0 %	138	6,5 %	0

### 3.8.3 Kunststoffverarbeiter

#### 3.8.3.1 Klinische und anamnestische Daten

In den Jahren 2002 bis 2011 wurden in den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen insgesamt 234 Patienten mit Berufsdermatose bzw. Hautveränderungen im Beruf epikutan getestet, bei denen als aktueller oder früherer Beruf Kunststoffverarbeiter genannt war. Tabelle 3.8.3.1.1 gibt eine Beschreibung dieser Patientengruppe mit dem MOAHLFA-Index.

Tabelle 3.8.3.1.1:

MOAHLFA-Index der 234 Patienten mit Berufsdermatose und Kunststoffverarbeiter als aktuellem oder früherem Beruf.

	Anzahl	Prozent
Männer	167	71,4
Berufsdermatose	234	100,0
Atopische Dermatitis	40	17,1
Handekzem	145	62,0
Beinekzem	2	0,9
Gesichtsekzem	30	12,8
Alter >= 40 Jahre	122	52,1

Unter Berücksichtigung der im MOAHLFA-Index erfassten Charakteristika ist diese Population ähnlich wie der Maler und Lackierer mit Berufsdermatose; der Männeranteil ist jedoch etwas geringer. Gleichwohl dominiert auch in dieser Berufsgruppe das männliche Geschlecht.

In Tabelle 3.8.3.1.2 sind die aktuellen und früheren Berufe dieser Patienten zusammengestellt.



Tabelle 3.8.3.1.2:

Die häufigsten aktuelle und frühere Berufe der 234 Patienten mit Berufsdermatose und Kunststoffverarbeiter als aktuellem oder früherem Beruf.

Beruf	aktuell		früher	
	n	%	n	%
Kunststoffverarbeiter	151	64,5	23	9,8
Laminierer	26	11,1	9	3,8
arbeitslos	18	7,7	2	0,9
Sportgerätebauer (Boote etc.)	16	6,8	1	0,4
Spritzgießer	5	2,1	2	0,9
Rentner	4	1,7	0	0
Andere Berufe	13	5,6	42	17,9
Angabe fehlt	1	0,4	155	66,2

Unter den Patienten mit „anderen“ Berufen waren auch Maurer (einmal als aktueller Beruf und zweimal als früherer Beruf) sowie Maler und Lackierer (ebenfalls einmal als aktueller Beruf und zweimal als früherer Beruf). Insgesamt war die Überlappung mit diesen Berufsgruppen also gering.

Die häufigsten mutmaßlichen Auslöser des Ekzems (Allergenquelle) sind in Tabelle 3.8.3.1.3 dargestellt.

Tabelle 3.8.3.1.3:

Mutmaßliche Allergenquellen bei 234 Patienten mit Berufsdermatose und Kunststoffverarbeiter als aktuellem oder früherem Beruf. In der IVDK-Dokumentation können bis zu 3 entsprechende Bereiche angegeben werden. Es sind alle Kontaktstoffkategorien angegeben, die bei mindestens 5 % der Patienten genannt wurden.

Kontaktstoff-Kategorie	n	%
Kunststoffe	137	58,5
Kleber	66	28,2
Gummi (sonstiges)	32	13,7
Handschuhe (Leder, Gummi, Stoff...)	26	11,1
Farben, Lacke	20	8,5
Kosmetika, Cremes, Lichtschutzmittel	19	8,1
Medikamente, äußerlich	17	7,3
Chemikalien (sonstige)	14	6,0
Baustoffe (Zement, Fliesenkleber...)	12	5,1

Die häufigsten Hauptabschlussdiagnosen lauteten: allergisches Kontaktekzem (109 Pat.; 46,6%), chronisches irritatives Kontaktekzem (30 Pat.; 12,8%), Ausschluss einer Sensibilisierung (13 Pat., 5,6%), dyshidrotisches Ekzem (11 Pat.; 4,7%), nicht klassifiziertes Ekzem (10 Pat.; 4,3%), hyperkeratotisches Ekzem (10 Pat.; 4,3%), aerogenes Ekzem (8 Pat., 3,4%) und atopisches Ekzem (6 Pat.; 2,6%). Ein akutes irritatives Kontaktekzem lag bei 4 Patienten (1,7%) vor.

### *3.8.3.2 Reaktionshäufigkeiten*

In Tabelle 3.8.3.2.1 sind die 38 am häufigsten positiv getesteten Allergene zusammengestellt. Das Epoxidharz auf Basis von DGEBA ist das häufigste Allergen; unter den 30 häufigsten Allergenen finden sich etliche weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen, aber keine weiteren Kunstharze. Als einziges weiteres Kunstharz führte Phenol-Formaldehydharz (Novolak) bei 4 von 179 getesteten Patienten (2,2%) zu positiven Reaktionen, womit es in der Rangliste jenseits von Platz 30 lag. Sieben der 8 Patienten mit positiver Reaktion auf BIS-GMA reagierten auch das DGEBA-Epoxidharz; bei dem verbleibenden Patienten mit Reaktion auf BIS-GMA wurde Epoxidharz nicht getestet. Sehr wahrscheinlich liegen hier keine originären Sensibilisierungen gegen BIS-GMA vor, sondern immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz [Geier et al. 2007]. Die Quoten positiver Reaktionen auf die Allergene der DKG-Standardreihe unter den 30 häufigsten Allergenen erscheinen zum Teil leicht erhöht. Insgesamt liegen aber keine signifikanten Häufungen im Vergleich zur allgemeinen Testpopulation des Untersuchungszeitraumes vor, wie die Berücksichtigung der 95%-Konfidenzintervalle zeigt.

Tabelle 3.8.3.2.1:

Die 38 häufigsten Allergene bei 234 Patienten mit Berufsdermatose und Kunststoffverarbeiter als aktuellem oder früherem Beruf. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechts-standardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand, % pos. [95%-CI]
Epoxidharz	205	51	24,9 [19,1 - 31,4]	23,7 [15,8 - 31,5]
1,6-Hexandioldiglycidylether	133	26	19,5 [13,2 - 27,3]	25,3 [13,2 - 37,3]
1,4-Butandioldiglycidylether	133	24	18,0 [11,9 - 25,6]	26,0 [13,2 - 38,7]
Nickelsulfat	205	21	10,2 [6,5 - 15,2]	18,2 [10,2 - 26,1]
Duftstoff-Mix	204	15	7,4 [4,2 - 11,8]	8,2 [2,8 - 13,5]
Perubalsam	204	13	6,4 [3,4 - 10,7]	7,1 [2,9 - 11,3]
Phenylglycidylether	187	13	7,0 [3,8 - 11,6]	8,5 [2,8 - 14,2]
Benzoylperoxid	171	12	7,0 [3,7 - 11,9]	11,0 [4,2 - 17,9]
Kobaltchlorid	203	12	5,9 [3,1 - 10,1]	8,2 [2,4 - 13,9]
Kaliumdichromat	204	11	5,4 [2,7 - 9,4]	5,9 [1,2 - 10,6]
(Chlor)-Methylisothiazolinon (MCI/MI)	205	10	4,9 [2,4 - 8,8]	7,6 [2,0 - 13,3]
Cresylglycidylether	182	10	5,5 [2,7 - 9,9]	6,5 [1,6 - 11,4]
Bisphenol F-Epoxidharz	26	10	38,5 [20,2 - 59,4]	30,4 [0,0 - 63,1]
p-tert-Butylphenylglycidylether	93	9	9,7 [4,5 - 17,6]	9,8 [2,2 - 17,4]
4,4'-Diaminodiphenylmethan	186	8	4,3 [1,9 - 8,3]	5,1 [0,6 - 9,7]
BIS-GMA	169	8	4,7 [2,1 - 9,1]	3,8 [0,0 - 7,6]
Butylglycidylether	181	8	4,4 [1,9 - 8,5]	5,2 [0,7 - 9,8]
Hydroxyisohexyl-3-cyclohexene- carboxaldehyde (HICC)	199	7	3,5 [1,4 - 7,1]	4,4 [0,3 - 8,5]
1,3-Diphenylguanidin	115	6	5,2 [1,9 - 11,0]	3,3 [0,0 - 6,5]
Isophorondiamin	180	6	3,3 [1,2 - 7,1]	3,8 [0,0 - 7,8]
p-Phenylendiamin	87	6	6,9 [2,6 - 14,4]	7,9 [0,4 - 15,5]
Thiuram-Mix	204	6	2,9 [1,1 - 6,3]	1,4 [0,3 - 2,5]
m-Xylidendiamin	94	6	6,4 [2,4 - 13,4]	4,7 [0,0 - 9,7]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.8.3.2.1 (Fortsetzung):

Die 38 häufigsten Allergene bei 234 Patienten mit Berufsdermatose und Kunststoffverarbeiter als aktuellem oder früherem Beruf. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechts-standardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand, % pos. [95%-CI]
Duftstoff-Mix II	141	6	4,3 [1,6 - 9,0]	6,5 [0,0 - 13,3]
Amerchol L-101	134	5	3,7 [1,2 - 8,5]	3,9 [0,0 - 7,9]
Cocamidopropylbetain	130	5	3,8 [1,3 - 8,7]	5,0 [0,3 - 9,7]
Methyldibromo Glutaronitril	153	5	3,3 [1,1 - 7,5]	2,5 [0,0 - 5,2]
Kolophonium	204	5	2,5 [0,8 - 5,6]	3,2 [0,0 - 6,8]
Propolis	204	5	2,5 [0,8 - 5,6]	5,8 [0,5 - 11,1]
Tetraethylthiuramdisulfid	107	5	4,7 [1,5 - 10,6]	2,2 [0,3 - 4,0]
Methylisothiazolinon	69	5	7,2 [2,4 - 16,1]	11,0 [0,0 - 24,9]
Formaldehyd	205	4	2,0 [0,5 - 4,9]	1,6 [0,0 - 3,5]
Octylgallat	134	4	3,0 [0,8 - 7,5]	2,5 [0,0 - 5,6]
Phenol-Formaldehydharz (Novolak)	179	4	2,2 [0,6 - 5,6]	1,1 [0,0 - 2,1]
Tetramethylthiurammonosulfid	107	4	3,7 [1,0 - 9,3]	1,8 [0,0 - 3,5]
Wollwachsalkohole	205	4	2,0 [0,5 - 4,9]	1,6 [0,0 - 3,5]
1,2-Benzisothiazolin-3-on, Natriumsalz	80	4	5,0 [1,4 - 12,3]	1,9 [0,1 - 3,7]
Trimethylolpropantriglycidylether	94	4	4,3 [1,2 - 10,5]	3,7 [0,0 - 8,6]

Aus Tabelle 3.8.3.2.1 ist zu entnehmen, dass 51 der 205 Patienten, bei denen Epoxidharz auf Basis von DGEBA getestet wurde, positiv reagiert haben. Das vollständige Reaktionsspektrum ist in Tabelle 3.8.3.2.2 wiedergegeben.

Tabelle 3.8.3.2.2:

205 Patienten mit Berufsdermatose und Kunststoffverarbeiter als aktuellem oder früherem Beruf: Reaktionen auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas.

Reaktion	Anzahl	Prozent
negativ	148	72,2
fraglich	5	2,4
follikulär	1	0,5
+	21	10,2
++	24	11,7
+++	6	2,9
irritativ	0	0,0
Summe	205	100,0

Insgesamt ergaben sich bei 51 von 205 Patienten positive Reaktionen, das entspricht einer Reaktionsquote von 24,9%. Der Reaktions-Index (RI) lag bei 0,79, die Positivity Ratio (PR) bei 41,2%.

Wie in Abschnitt 3.3.1 erläutert, wurden weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen (DGEBA-Harz, Härter und Reaktivverdünner) mit unterschiedlicher Häufigkeit epikutan getestet. Wegen zu geringer Stichprobengröße wurden die Reaktionen auf diese Komponenten nicht gesondert bei den 51 Patienten mit positiver Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz ausgewertet, sondern es wurde die Gesamtmenge der mit den jeweiligen Härtern oder Reaktivverdünnern Getesteten als Grundlage genommen. Bei 185 der 234 Patienten (79,1%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Härter epikutan getestet: MXDA, IPDA, DETA, TETA, TMHDA. 170 dieser Patienten (91,9%) reagierten auf keinen der Härter positiv. 13 Patienten (7,0%) reagierten auf einen Härter und 2 Patienten (1,1%) auf 2 Härter. Ebenfalls bei 185 der 234 Patienten (79,1%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, TMPTGE, BGE, PTBPGE. 155 der 185 Patienten (83,8%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 6 Patienten (3,2%) reagierten auf einen Verdünner, 13 Patienten (7,0%) auf 2 Verdünner, 7 Patienten (3,8%) auf 3, und jeweils 2 Patienten (1,1%) auf 4 bzw. 5 Reaktivverdünner. Insgesamt wurden bei 187 Patienten mindestens einer der oben genannten Härter und/oder mindestens einer der oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet. 150 dieser 187 Patienten (80,2%) reagierten auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. 12 Patienten (6,4%) reagierten positiv auf eine dieser Verbindungen, 11 Patienten (5,9%) auf 2, 7 Patienten (3,7%) auf 3, 3 Patienten (1,6%) auf 4, 3 Patienten (1,6%) auf 5 und 1 Patient (0,5%) auf 6 der 10 Härter und Verdünner.

Die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen Härter und Reaktivverdünner sind in Tabelle 3.8.3.2.3 zusammengestellt. Die Reaktionsquoten auf die meisten Reaktivverdünner und die Amin-Härter DETA und TETA sind höher als bei den Maurern, Fliesenlegern usw. mit Berufsdermatose (siehe Tabelle 3.8.1.2.4) und den Malern und Lackierern mit Berufsdermatose (siehe Tabelle 3.8.2.2.3). Dagegen sind die Quoten positiver Reaktionen auf die Härter MXDA, IPDA und TMHDA in Vergleich niedriger. Die Unterschiede sind jedoch in keinem Fall signifikant. Die Daten sind aber, wie bereits erwähnt, nur eingeschränkt vergleichbar, weil nicht alle Patienten in jeder Gruppe mit allen Allergenen getestet wurden. Dies kann zu einer Verzerrung der Reaktionsquoten führen, da die Selektionskriterien für die Testungen nicht bekannt sind.

Tabelle 3.8.3.2.3:

234 Patienten mit Berufsdermatose und Kunststoffverarbeiter als aktuellem oder früherem Beruf: Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	26	10	38,5 [20,2 – 59,4]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	133	26	19,5 [13,2 – 27,3]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	133	24	18,0 [11,9 – 25,6]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	187	13	7,0 [3,8 – 11,6]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	93	9	9,7 [4,5 – 17,6]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	182	10	5,5 [2,7 – 9,9]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	181	8	4,4 [1,9 – 8,5]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	93	4	4,3 [1,2 – 10,6]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	93	6	6,5 [2,4 – 13,5]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	180	6	3,3 [1,2 – 7,1]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	84	1	1,2 [0,0 – 6,5]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	104	3	2,9 [0,6 – 8,2]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	70	1	1,4 [0,0 – 7,7]

### 3.8.3.3 Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen

Analog zu dem Vorgehen in Abschnitt 3.5.3 wird in Tabelle 3.8.3.3.1 die Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei den insgesamt 234 Patienten der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind, gegenübergestellt.

Tabelle 3.8.3.3.1:

Gegenüberstellung der Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei 234 Patienten mit Berufsdermatose und Kunststoffverarbeiter als aktuellem oder früherem Beruf und der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind.

Substanz	Sensibilisierungs-Quote	Häufigkeit in SiDaBs
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	38,5 [20,2 – 59,4]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	19,5 [13,2 – 27,3]	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	18,0 [11,9 – 25,6]	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	7,0 [3,8 – 11,6]	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	9,7 [4,5 – 17,6]	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)	5,5 [2,7 – 9,9]	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	4,4 [1,9 – 8,5]	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	4,3 [1,2 – 10,6]	selten / kaum verbreitet
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	6,5 [2,4 – 13,5]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	3,3 [1,2 – 7,1]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	1,2 [0,0 – 6,5]	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	2,9 [0,6 – 8,2]	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	1,4 [0,0 – 7,7]	häufig / weit verbreitet

Im Wesentlichen sind die in hier dargestellten Daten nicht anders zu beurteilen als die entsprechenden Daten bei den Maurern, Fliesenlegern usw. mit Berufsdermatose (siehe Tabelle 3.8.1.3.3) und den Malern und Lackierern mit Berufsdermatose (siehe Tabelle 3.8.2.3.1). Dies gilt insbesondere für die Reaktivverdünner. Bei den Härtern ergeben sich durch die niedrigeren Reaktionsquoten auf die Härter MXDA, IPDA und TMHDA kleinere Unterschiede im Ranking bezüglich der sensibilisierenden Wirkung. Wenn man mit den Angaben zur Sensibilisierungshäufigkeit (Reaktionsquote) einerseits und der Häufigkeit der Nennung in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern andererseits einen Quotienten bildet, so ergibt sich folgende Reihenfolge: DETA > MXDA > TETA > TMHDA > IPDA. Dabei führt DETA mit großem Abstand, während die Unterschiede zwischen MXDA und TETA bzw. zwischen TMHDA und IPDA nur gering sind. Es ist allerdings zu berücksichtigen, dass die Stichprobe relativ klein ist und daher die 95%-Konfidenzintervalle relativ groß sind.

Insgesamt ergaben sich nur 17 positive Reaktionen auf die 5 genannten Amin-Härter (siehe Tabelle 3.8.3.2.3). Daher wurde auch auf die Berechnung eines SEQ verzichtet.



### 3.9. Sensibilisierungen gegen Komponenten von Epoxidharz-Systemen in durch die mutmaßliche Allergenquelle definierten Risikogruppen

Im Folgenden werden Subgruppen betrachtet, die nicht durch den Beruf, sondern die vermutete Allergenquelle definiert sind. Der wesentliche Unterschied zu den in Abschnitt 3.8. betrachteten Subgruppen von Patienten besteht darin, dass hier auch Patienten berücksichtigt sind, bei denen die Exposition außerberuflich stattfand. Naturgemäß ergeben sich selbstverständlich Überlappungen mit den durch Beruf definierten Subgruppen.

#### 3.9.1 Baustoffe

##### 3.9.1.1 Klinische und anamnestische Daten

In den Jahren 2002 bis 2011 wurden in den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen insgesamt 2.068 Patienten epikutan getestet, bei denen die Kategorie „Baustoffe“ als mutmaßliche Allergenquelle genannt war. Tabelle 3.9.1.1.1 gibt eine Beschreibung dieser Patientengruppe mit dem MOAHLFA-Index.

Tabelle 3.9.1.1.1:

MOAHLFA-Index der 2.068 Patienten mit Baustoffen als mutmaßlicher Allergenquelle.

	Anzahl	Prozent
Männer	1.893	91,5
Berufsdermatose	1.073	51,9
Atopische Dermatitis	435	21,0
Handekzem	1.336	64,6
Beinekzem	60	2,9
Gesichtsekzem	180	8,7
Alter >= 40 Jahre	1.304	63,1

Bemerkenswerter Weise dominieren in dieser Subgruppe von Patienten die Männer. Knapp zwei Drittel litten an einem Handekzem, aber nur gut die Hälfte hatte eine Berufsdermatose.

In Tabelle 3.9.1.1.2 sind die Gruppen der aktuellen und früheren Berufe dieser Patienten zusammengestellt.

Tabelle 3.9.1.1.2:

Die häufigsten Gruppen der aktuellen und früheren Berufe der 2.068 Patienten mit Baustoffen als mutmaßlicher Allergenquelle.

Beruf	aktuell		früher	
	n	%	n	%
Maurer, Fliesenleger usw.	521	25,2	186	9,0
Tätigkeiten mit unbestimmter Exposition	418	20,2	14	0,7
Mechaniker, Maschinisten, Werkzeugmacher	128	6,2	27	1,3
Ingenieure, Techniker usw.	112	5,4	14	0,7
Büroberufe	108	5,2	18	0,9
Installateure, Schlosser usw.	93	4,5	24	1,2
Elektriker	82	4,0	15	0,7
Maler, Lackierer	71	3,4	22	1,1
Straßenbauer, Tiefbauer	51	2,5	14	0,7
Bauausstatter	47	2,3	8	0,4
Verkehrsberufe	46	2,2	4	0,2
Tischler, Holzbearbeiter	42	2,0	21	1,0
Andere Berufe	323	15,6	79	3,8
Angabe fehlt	26	1,3	1.622	78,4

Die häufigsten mutmaßlichen Auslöser des Ekzems (Allergenquellen) sind in Tabelle 3.9.1.1.3 dargestellt.

Tabelle 3.9.1.1.3:

Mutmaßliche Allergenquellen bei 2.068 Patienten mit Baustoffen als mutmaßlicher Allergenquelle. In der IVDK-Dokumentation können bis zu 3 entsprechende Bereiche angegeben werden. Es sind alle Kontaktstoffkategorien angegeben, die bei mindestens 5 % der Patienten genannt wurden.

Kontaktstoff-Kategorie	n	%
Baustoffe (Zement, Fliesenkleber...)	2.068	100,0
Handschuhe (Leder, Gummi, Stoff...)	320	15,5
Kosmetika, Cremes, Lichtschutzmittel	236	11,4
Gummi (sonstiges)	220	10,6
Kleber	164	7,9
Farben, Lacke	131	6,3
Medikamente, äußerlich	113	5,5

Die häufigsten Hauptabschlussdiagnosen lauteten: allergisches Kontaktekzem (661 Pat.; 32,0%), chronisches irritatives Kontaktekzem (240 Pat.; 11,6%), Ausschluss einer Sensibilisierung (176 Pat., 8,5%), atopisches Ekzem (175 Pat.; 8,5%), hyperkeratotisches Ekzem (172 Pat.; 8,3%), dyshidrotisches Ekzem (141 Pat.; 6,8%), nicht klassifiziertes Ekzem (112 Pat.; 5,4%). Ein aeroogenes Ekzem lag bei 25 Patienten (1,2%) vor, ein akutes irritatives Kontaktekzem bei 23 Patienten (1,1%).

### 3.9.1.2 Reaktionshäufigkeiten

In Tabelle 3.9.1.2.1 sind die 40 am häufigsten positiv getesteten Allergene zusammengestellt. Wie nicht anders zu erwarten, ist Kaliumdichromat das häufigste Allergen. Dichromat-Sensibilisierungen wurden bis zur Einführung von chromatreduziertem Zement durch den Umgang mit nassem Zement erworben. In einer Patientengruppe, bei der „Baustoffe“ als mutmaßliche Allergenquelle angegeben ist, finden sich naturgemäß zahlreiche Patienten, die durch den Umgang mit Zement ein Ekzem erlitten und eine Dichromat-Sensibilisierung erworben haben. In Deutschland wird erst seit 2000 chromatarmer Zement mit weniger als 2 ppm wasserlöslichem Chrom VI in größerem Umfang eingesetzt; eine Verordnung der Europäischen Union, die die Verwendung von chromatarmem Zement bei Verarbeitung mit den Händen vorschreibt, ist seit 2005 in Kraft. Seither ist die Zahl der Neu-Sensibilisierungen zurückgegangen [Geier et al. 2011, Geier et al. 2012 b]. Bei einer Datenanalyse wie der hier vorliegenden, deren Auswertungszeitraum 2002 beginnt, und die auch Patienten einschließt, die schon viele Jahre im Baugewerbe arbeiten, ist aufgrund der früheren Exposition gegenüber chromathaltigem Zement mit einer hohen Quote von Chromat-Sensibilisierten zu rechnen.

Kobalt-Sensibilisierungen werden von Patienten mit allergischem Kontaktekzem durch Chromat im Zement als Kopplungsallergie erworben, da Kobalt auch in Zement vorhanden ist, und auf der Haut von Ekzempatienten in eine sensibilisierungsfähige Form überführt werden kann. Dies erklärt die hohe Quote allergischer Reaktionen auf Kobaltchlorid [Geier et al. 2011, Geier et al. 2012 b].

Sensibilisierungen gegen Epoxidharz auf Basis von DGEBA werden ebenfalls sehr häufig beobachtet. Darüber hinaus finden sich unter den 40 häufigsten Allergenen zahlreiche weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen und Gummiinhaltsstoffe wie Thiurame, Dithiocarbamate und Mercaptobenzothiazol-Derivate.

Auffallend ist ferner die erhöhte Quote positiver Reaktionen auf MCI/MI und die Tatsache, dass Benzisothiazolinon unter den häufigsten Allergenen vertreten ist. Isothiazolinone werden weit verbreitet zur Konservierung von Wandfarben eingesetzt, zum Teil in recht hohen Konzentrationen [Schnuch et al. 2002, Geier et al. 2012 c]. Möglicher Weise sind die

Patienten dieser Gruppe auch gegen entsprechend konservierte Produkte aus dem Bau-Bereich exponiert.

Weitere Allergene der DKG-Standardreihe sind ebenfalls unter den 35 häufigsten Allergenen diese Gruppe vertreten, jedoch nicht mit erhöhten Sensibilisierungsquoten.

Tabelle 3.9.1.2.1:

Die 40 häufigsten Allergene bei 2.068 Patienten mit Baustoffen als mutmaßlicher Allergenquelle. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand. % pos. [95%-CI]
Kaliumdichromat	1892	291	15,4 [13,8 - 17,1]	13,2 [9,9 - 16,6]
Kobaltchlorid	1902	170	8,9 [7,7 - 10,3]	11,3 [7,8 - 14,8]
Epoxidharz	1895	149	7,9 [6,7 - 9,2]	5,5 [3,4 - 7,6]
Nickelsulfat	1889	124	6,6 [5,5 - 7,8]	15,5 [11,2 - 19,7]
Perubalsam	1906	108	5,7 [4,7 - 6,8]	8,0 [4,9 - 11,0]
Duftstoff-Mix	1891	100	5,3 [4,3 - 6,4]	7,0 [4,1 - 9,8]
Thiuram-Mix	1892	97	5,1 [4,2 - 6,2]	2,6 [1,5 - 3,6]
Kolophonium	1900	78	4,1 [3,3 - 5,1]	4,9 [2,6 - 7,3]
Methyldibromoglutaronitril	1381	64	4,6 [3,6 - 5,9]	3,3 [1,2 - 5,3]
1,6-Hexandioldiglycidylether	633	64	10,1 [7,9 - 12,7]	5,7 [1,7 - 9,8]
(Chlor)-Methylisothiazolinon (MCI/MI)	1904	61	3,2 [2,5 - 4,1]	5,2 [2,6 - 7,8]
Tetraethylthiuramdisulfid	846	57	6,7 [5,1 - 8,6]	4,9 [1,3 - 8,5]
Tetramethylthiurammonosulfid	847	54	6,4 [4,8 - 8,2]	5,2 [1,0 - 9,5]
1,4-Butandioldiglycidylether	632	53	8,4 [6,3 - 10,8]	5,2 [1,1 - 9,2]
4,4'-Diaminodiphenylmethan	1154	51	4,4 [3,3 - 5,8]	8,9 [4,2 - 13,6]
1,2-Benzisothiazolin-3-on, Natriumsalz	1340	51	3,8 [2,8 - 5,0]	3,0 [0,5 - 5,6]
Wollwachsalkohole	1905	45	2,4 [1,7 - 3,1]	1,9 [0,6 - 3,1]
Phenylglycidylether	1102	44	4,0 [2,9 - 5,3]	1,5 [1,0 - 1,9]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.9.1.2.1 (Fortsetzung):

Die 40 häufigsten Allergene bei 2.068 Patienten mit Baustoffen als mutmaßlicher Allergenquelle. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand. % pos. [95%-CI]
Propolis	1903	43	2,3 [1,6 - 3,0]	3,5 [1,4 - 5,6]
Benzoylperoxid	933	41	4,4 [3,2 - 5,9]	4,3 [1,2 - 7,3]
Tetramethylthiuramdisulfid	847	38	4,5 [3,2 - 6,1]	3,1 [-0,1 - 6,4]
m-Xylidendiamin	464	38	8,2 [5,9 - 11,1]	5,1 [0,8 - 9,5]
Kompositen-Mix	880	36	4,1 [2,9 - 5,6]	3,7 [0,9 - 6,5]
Duftstoff-Mix II	1267	33	2,6 [1,8 - 3,6]	2,9 [0,5 - 5,3]
N-Isopropyl-N'-phenyl-p-phenylendiamin	1877	32	1,7 [1,2 - 2,4]	1,5 [0,2 - 2,7]
Quecksilber (II)-amid-chlorid	1031	32	3,1 [2,1 - 4,4]	6,0 [2,1 - 9,9]
Paraben-Mix	1905	31	1,6 [1,1 - 2,3]	1,3 [0,3 - 2,3]
Isophorondiamin	1007	30	3,0 [2,0 - 4,2]	1,2 [0,7 - 1,6]
p-Phenylendiamin	829	30	3,6 [2,5 - 5,1]	4,9 [1,4 - 8,4]
Terpentin	1901	30	1,6 [1,1 - 2,2]	1,6 [0,3 - 2,8]
Cresylglycidylether	980	30	3,1 [2,1 - 4,3]	1,1 [0,7 - 1,5]
Formaldehyd	1905	29	1,5 [1,0 - 2,2]	2,5 [0,7 - 4,3]
1,3-Diphenylguanidin	1002	28	2,8 [1,9 - 4,0]	2,0 [0,0 - 4,1]
Methylisothiazolinon	579	26	4,5 [3,0 - 6,5]	6,0 [0,0 - 12,2]
Mercapto-Mix	1870	25	1,3 [0,9 - 2,0]	0,5 [0,3 - 0,7]
p-tert-Butylphenylglycidylether	462	25	5,4 [3,5 - 7,9]	6,8 [0,0 - 13,6]
Cocamidopropylbetain	1289	24	1,9 [1,2 - 2,8]	1,9 [0,0 - 3,7]
Zink-diethyldithiocarbamat	1881	24	1,3 [0,8 - 1,9]	0,5 [0,3 - 0,7]
Mercaptobenzothiazol	1898	23	1,2 [0,8 - 1,8]	0,5 [0,3 - 0,6]
Thiomersal	354	23	6,5 [4,2 - 9,6]	7,5 [1,7 - 13,4]

Aus Tabelle 3.9.1.2.1 ist zu entnehmen, dass 149 der 1.895 Patienten, bei denen Epoxidharz auf Basis von DGEBA getestet wurde, positiv reagiert haben. Das vollständige Reaktionsspektrum ist in Tabelle 3.9.1.2.2 wiedergegeben.

Tabelle 3.9.1.2.2:

2.068 Patienten mit Baustoffen als mutmaßlicher Allergenquelle: Reaktionen auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas.

Reaktion	Anzahl	Prozent
negativ	1.727	91,1
fraglich	15	0,8
follikulär	2	0,1
+	62	3,3
++	65	3,4
+++	22	1,2
irritativ	2	0,1
Summe	1.895	100,0

Insgesamt ergaben sich bei 149 von 1.895 Patienten positive Reaktionen, das entspricht einer Reaktionsquote von 7,9%. Der Reaktions-Index (RI) lag bei 0,77, die Positivity Ratio (PR) bei 41,6%.

Wie in Abschnitt 3.3.1 erläutert, wurden weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen (DGEBA-Harz, Härter und Reaktivverdünner) mit unterschiedlicher Häufigkeit epikutan getestet. Bei 1.471 der 2.068 Patienten (71,1%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Härter epikutan getestet: MXDA, IPDA, DETA, TETA, TMHDA . 1.405 dieser Patienten (95,5%) reagierten auf keinen der Härter positiv. 50 Patienten (3,4%) reagierten auf einen Härter, 13 Patienten (0,9%) auf 2 Härter, 2 Patienten (0,1%) auf 3 Härter und 1 Patient (0,1%) auf 4 Härter. Bei 972 der 2.068 Patienten (47,0%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, TMPTGE, BGE, PTBPGE. 887 der 972 Patienten (91,3%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 31 Patienten (3,2%) reagierten auf einen Verdünner, 32 Patienten (3,3%) auf 2 Verdünner, 14 Patienten (1,4%) auf 3, und jeweils 4 Patienten (0,4%) auf 4 bzw. 5 Reaktivverdünner. Die Gruppen der mit den Härtern und den Reaktivverdünnern getesteten Patienten überlappen sich. Insgesamt wurde bei 1.472 Patienten mindestens einer der genannten Härter und/oder mindestens einer der genannten Reaktivverdünner epikutan getestet. 1.351 dieser 1.472 Patienten (91,8%), bei denen mindestens einer der fünf oben genannten Härter und/oder mindestens einer der fünf oben genannten

Reaktivverdünner epikutan getestet wurde, reagierten auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. 48 Patienten (3,3%) reagierten positiv auf eine dieser Verbindungen, 38 Patienten (2,6%) auf 2, 17 Patienten (1,2%) auf 3, 11 Patienten (0,7%) auf 4, 4 Patienten (0,3%) auf 5, 1 Patient (0,1%) auf 6 und 2 Patienten (0,1%) auf 7 der 10 Härter und Verdünner.

Die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen Härter und Reaktivverdünner sind in Tabelle 3.9.1.2.3 zusammengestellt. Die Reaktionsquoten liegen hier insgesamt niedriger als bei den Maurern, Fliesenlegern usw. mit Berufsdermatose (siehe Tabelle 3.8.1.2.4), die Rangfolge bzgl. der relativen Häufigkeit positiver Reaktionen im internen Vergleich ist aber gleich.

Tabelle 3.9.1.2.3:

2.068 Patienten mit Baustoffen als mutmaßlicher Allergenquelle: Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	64	22	34,4 [22,9 – 47,3]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	633	64	10,1 [7,9 – 12,7]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	632	53	8,4 [6,3 – 10,8]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	1.102	44	4,0 [2,9 – 5,3]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	462	25	5,4 [3,5 – 7,9]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	980	30	3,1 [2,1 – 4,3]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	969	23	2,4 [1,5 – 3,5]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	460	8	1,7 [0,8 – 3,4]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	464	38	8,2 [5,9 – 11,1]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	1.005	30	3,0 [2,0 – 4,2]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	438	10	2,3 [1,1 – 4,2]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	560	3	0,5 [0,1 – 1,6]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	1.070	5	0,5 [0,2 – 1,1]

### 3.9.1.3 Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen

Analog zu dem Vorgehen in Abschnitt 3.5.3 wird in Tabelle 3.9.1.3.1 die Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei den insgesamt 533 Patienten der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind, gegenübergestellt.

Tabelle 3.9.1.3.1:

Gegenüberstellung der Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei 2.068 Patienten mit Baustoffen als mutmaßlicher Allergenquelle und der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind.

Substanz	Sensibilisierungs-Quote	Häufigkeit in SiDaBs
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	34,4 [22,9 – 47,3]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	10,1 [7,9 – 12,7]	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	8,4 [6,3 – 10,8]	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	4,0 [2,9 – 5,3]	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	5,4 [3,5 – 7,9]	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)	3,1 [2,1 – 4,3]	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	2,4 [1,5 – 3,5]	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	1,7 [0,8 – 3,4]	selten / kaum verbreitet
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	8,2 [5,9 – 11,1]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	3,0 [2,0 – 4,2]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	2,3 [1,1 – 4,2]	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	0,5 [0,1 – 1,6]	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	0,5 [0,2 – 1,1]	häufig / weit verbreitet



Im Wesentlichen sind die in Tabelle 3.9.1.3.1 dargestellten Daten nicht anders zu beurteilen als die Daten in Tabelle 3.8.1.3.3. Wenn man mit den Angaben zur Sensibilisierungshäufigkeit (Reaktionsquote) einerseits und der Häufigkeit der Nennung in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern andererseits einen Quotienten bildet, so ergibt sich folgende Reihenfolge: MXDA > DETA > TMHDA > TETA > IPDA. Dabei führt MXDA mit großem Abstand, während die Unterschiede zwischen DETA und TMHDA bzw. zwischen TETA und IPDA jeweils nur gering sind.

Ebenfalls analog zum Vorgehen in Abschnitt 3.5.3 wurde ein SEQ berechnet. Bezugsgrößen waren die Grundgesamtheit von insgesamt 45 allergischen Reaktionen auf MXDA, IPDA, TMHDA, DETA und TETA (siehe Tabelle 3.9.1.2.3). Dieselben 5 Amin-Härter sind in insgesamt 2140 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern aufgeführt (siehe Tabelle 2.3). In Tabelle 3.9.1.3.2 ist der Anteil der allergischen Reaktionen auf jeden einzelnen Amin-Härter an den insgesamt 86 allergischen Reaktionen auf alle 5 Amin-Härter zusammen dem Anteil der Nennungen in Sicherheitsdatenblättern an den insgesamt 2140 Sicherheitsdatenblättern gegenübergestellt. Der SEQ wird durch Division des prozentualen Anteils der allergischen Reaktionen an der Gesamtmenge der allergischen Reaktionen auf Amin-Härter (Spalte 3) durch den Anteil der Nennungen des einzelnen Amin-Härters an der Gesamtmenge von 2140 Sicherheitsdatenblättern (Spalte 5) berechnet. Der SEQ ist in Spalte 6 aufgeführt. Mit dieser Methode ergibt sich ein ähnliches Ranking: MXDA hat den höchsten SEQ (1,6), gefolgt von DETA (1,2); TETA (0,9), TMHDA (0,8) und IPDA (0,7) liegen deutlich darunter, aber untereinander nur mit geringem Abstand.

IPDA und TETA wurden etwa doppelt so häufig epikutan getestet wie die anderen Amin-Härter, so dass auch entsprechend mehr Sensibilisierungen festgestellt wurden, die in die Berechnung des SEQ eingeflossen sind. Daher kann der SEQ von IPDA und TETA bei dieser Berechnung möglicher Weise überschätzt worden sein. (Würde man unter der Annahme von 3% positiven Reaktionen auf IPDA und 0,5% positiven Reaktionen auf TETA bei jeweils 500 Testungen (Testzahl ähnlich wie die anderen Amin-Härter) die SEQs berechnen, so ergäben sich folgende Werte: MXDA – 1,9; DETA – 1,4; TMHDA – 1,0; TETA – 0,7; IPDA – 0,5.)

Tabelle 3.9.1.3.2:

Ermittlung eines „Sensitization Exposure Quotient“ (SEQ) durch Gegenüberstellung des Anteils der Sensibilisierungen gegen einzelne Amin-Härter an der Gesamtmenge der Sensibilisierungen gegen Amin-Härter (Spalte 3) und des Anteils der einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge der Nennungen dieser Amin-Härter in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) (Spalte 5). Der SEQ (Spalte 6) wird ermittelt, indem der Wert in Spalte 3 durch den Wert in Spalte 5 dividiert wird.

Substanz	Anzahl Sensibilisierungen	Anteil an 45 Sensibil. gegen Amin-Härter	Anzahl Nennungen in SiDaBs	Anteil an 2.140 Nennungen in SiDaBs	SEQ
m-Xylidendiamin (MXDA)	38	44,2 %	608	28,4 %	1,6
Isophorondiamin (IPDA)	30	34,9 %	1009	47,1 %	0,7
Trimethylhexan-1,6-diamin	10	11,6 %	320	15,0 %	0,8
Diethylentriamin (DETA)	3	3,5 %	65	3,0 %	1,2
Triethylentetramin (TETA)	5	5,8 %	138	6,5 %	0,9

### 3.9.2 Farben und Lacke

#### 3.9.2.1 Klinische und anamnestische Daten

In den Jahren 2002 bis 2011 wurden in den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen insgesamt 1.683 Patienten epikutan getestet, bei denen die Kategorie „Farben und Lacke“ als mutmaßliche Allergenquelle genannt war. Tabelle 3.9.2.1.1 gibt eine Beschreibung dieser Patientengruppe mit dem MOAHLFA-Index.

Tabelle 3.9.2.1.1:

MOAHLFA-Index der 1.683 Patienten mit Farben und Lacken als mutmaßlicher Allergenquelle.

	Anzahl	Prozent
Männer	1.140	67,7
Berufsdermatose	721	42,8
Atopische Dermatitis	390	23,2
Handekzem	819	48,7
Beinekzem	57	3,4
Gesichtsekzem	225	13,4
Alter >= 40 Jahre	980	58,2

Auch in dieser Subgruppe von Patienten sind mehr Männer als Frauen vertreten; Der Frauenanteil ist aber deutlich höher als in der „Baustoff“-Gruppe. Auffallend ist, dass hier ein vergleichsweise hoher Anteil von Patienten mit Gesichtsekzem vorliegt. Der Anteil von Patienten mit Berufsdermatose war dagegen geringer.

In Tabelle 3.9.2.1.2 sind die Gruppen der aktuellen und früheren Berufe dieser Patienten zusammengestellt.

Tabelle 3.9.2.1.2:

Die häufigsten Gruppen der aktuellen und früheren Berufe der 1.683 Patienten mit Farben und Lacken als mutmaßlicher Allergenquelle.

Beruf	aktuell		früher	
	n	%	n	%
Maler, Lackierer	365	21,7	74	4,4
Tätigkeiten mit unbestimmter Exposition	358	21,3	9	0,5
Büroberufe	126	7,5	15	0,9
Mechaniker, Maschinisten, Werkzeugmacher	105	6,2	31	1,8
Drucker	77	4,6	11	0,7
Tischler, Holzbearbeiter	57	3,4	13	0,8
Hausfrauen	50	3,0	6	0,4
Ingenieure, Techniker usw.	37	2,2	6	0,4
Lehrer, Seelsorger, sozialpflegerische Berufe	35	2,1	5	0,3
Maurer, Fliesenleger usw.	34	2,0	9	0,5
Andere Berufe	417	24,8	105	6,2
Angabe fehlt	22	1,3	1.399	83,1

Die häufigsten mutmaßlichen Auslöser des Ekzems (Allergenquellen) sind in Tabelle 3.9.2.1.3 dargestellt.

Tabelle 3.9.2.1.3:

Mutmaßliche Allergenquellen bei 1.683 Patienten mit Farben und Lacken als mutmaßlicher Allergenquelle. In der IVDK-Dokumentation können bis zu 3 entsprechende Bereiche angegeben werden. Es sind alle Kontaktstoffkategorien angegeben, die bei mindestens 5 % der Patienten genannt wurden.

Kontaktstoff-Kategorie	n	%
Farben, Lacke	1.683	100,0
Kosmetika, Cremes, Lichtschutzmittel	203	12,1
Kleber	174	10,3
Baustoffe (Zement, Fliesenkleber...)	131	7,8
Handschuhe (Leder, Gummi, Stoff...)	123	7,3
Gummi (sonstiges)	116	6,9
Lösemittel, Benzin...	99	5,9
Chemikalien (sonstige)	98	5,8
Kunststoffe	85	5,1
Farben / frisch gestrichene Räume	81	4,8

Die häufigsten Hauptabschlussdiagnosen lauteten: allergisches Kontaktekzem (539 Pat.; 32,0%), chronisches irritatives Kontaktekzem (202 Pat.; 12,0%), atopisches Ekzem (137 Pat.; 8,1%), Ausschluss einer Sensibilisierung (131 Pat., 7,8%), dyshidrotisches Ekzem (110 Pat.; 6,5%), nicht klassifiziertes Ekzem (105 Pat.; 6,2%), hyperkeratotisches Ekzem (81 Pat.; 4,8%). Ein aerogenes Ekzem lag bei 43 Patienten (2,6%) vor, ein akutes irritatives Kontaktekzem bei 24 Patienten (1,4%).

### *3.9.2.2 Reaktionshäufigkeiten*

In Tabelle 3.9.2.2.1 sind die 30 am häufigsten positiv getesteten Allergene zusammengestellt. Im Vergleich mit der Gesamtgruppe der in den Jahren 2002 bis 2011 im IVDK getesteten Patienten fallen erhöhte Quoten positiver Reaktionen auf Epoxidharz, MCI/MI, MI und Kaliumdichromat auf. Offenbar waren diese Patienten also nicht nur gegen wasserbasierte Wandfarben o.ä. exponiert, die mit Isothiazolinonen konserviert waren, sondern auch vermehrt gegenüber Epoxidharz-Systemen und zementhaltigen Zubereitungen. Dies geht auch aus der Auflistung der Kontaktstoffkategorien hervor (siehe Tabelle 3.9.2.1.3). Bemerkenswerter Weise ist die Sensibilisierungsquote gegenüber Kobalt kaum erhöht, obwohl Kobalt in den Lehrbüchern der Kontaktallergie als typisches Farb-Allergen (Sikkativ) aufgeführt wird. Möglicherweise handelt es sich dabei um eine veraltete Angabe. So genannte „Para-Stoffe“ wurden vermehrt getestet, vermutlich in der Annahme, dass dies Marker-Allergene für Farbstoffe seien. Dies ist jedoch nur eingeschränkt der Fall. Dennoch führten die so genannten „Para-Stoffe“ recht häufig zu allergischen Reaktionen. Die klinische Relevanz dieser Reaktionen wäre im Einzelfall zu prüfen.

Tabelle 3.9.2.2.1:

Die 30 häufigsten Allergene bei 1.683 Patienten mit Farben und Lacken als mutmaßlicher Allergenquelle. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand. % pos. [95%-CI]
Nickelsulfat	1527	162	10,6 [9,1 - 12,3]	17,2 [14,7 - 19,7]
Epoxidharz	1531	109	7,1 [5,9 - 8,5]	5,5 [4,2 - 6,7]
(Chlor)-Methylisothiazolinon (MCI/MI)	1540	97	6,3 [5,1 - 7,6]	5,8 [4,4 - 7,1]
Perubalsam	1533	95	6,2 [5,0 - 7,5]	6,1 [4,6 - 7,5]
Duftstoff-Mix	1533	80	5,2 [4,2 - 6,5]	6,0 [4,5 - 7,5]
Kaliumdichromat	1536	75	4,9 [3,9 - 6,1]	5,8 [4,3 - 7,3]
Kolophonium	1534	70	4,6 [3,6 - 5,7]	4,2 [3,0 - 5,4]
Kobaltchlorid	1534	69	4,5 [3,5 - 5,7]	6,3 [4,6 - 7,9]
Benzoylperoxid	927	54	5,8 [4,4 - 7,5]	5,2 [3,3 - 7,1]
Methyldibromoglutaronitril	1167	54	4,6 [3,5 - 6,0]	3,9 [2,6 - 5,2]
p-Phenylendiamin	679	45	6,6 [4,9 - 8,8]	8,4 [5,6 - 11,2]
Methylisothiazolinon	452	42	9,3 [6,8 - 12,4]	8,6 [5,0 - 12,2]
Phenylglycidylether	982	39	4,0 [2,8 - 5,4]	3,0 [1,6 - 4,3]
Propolis	1536	38	2,5 [1,8 - 3,4]	2,8 [1,7 - 3,8]
4,4'-Diaminodiphenylmethan	1027	37	3,6 [2,5 - 4,9]	3,6 [2,1 - 5,2]
Terpentin	1531	37	2,4 [1,7 - 3,3]	2,2 [1,3 - 3,1]
p-Aminoazobenzol	339	34	10,0 [7,0 - 13,7]	9,8 [5,9 - 13,8]
Dispers Orange 3	542	33	6,1 [4,2 - 8,4]	5,0 [2,9 - 7,0]
Thiomersal	326	32	9,8 [6,8 - 13,6]	11,2 [7,1 - 15,4]
1,4-Butandiol diglycidylether	569	32	5,6 [3,9 - 7,8]	4,2 [2,1 - 6,4]
1,6-Hexandiol diglycidylether	570	32	5,6 [3,9 - 7,8]	3,8 [1,9 - 5,6]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.9.2.2.1 (Fortsetzung):

Die 30 häufigsten Allergene bei 1.683 Patienten mit Farben und Lacken als mutmaßlicher Allergenquelle. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand. % pos. [95%-CI]
Duftstoff-Mix II	1069	31	2,9 [2,0 - 4,1]	3,1 [1,8 - 4,4]
Thiuram-Mix	1538	30	2,0 [1,3 - 2,8]	1,6 [0,9 - 2,3]
1,2-Benzisothiazolin-3-on, Natriumsalz	612	30	4,9 [3,3 - 6,9]	3,2 [1,3 - 5,0]
N-Isopropyl-N'-phenyl-p-phenylendiamin	1512	28	1,9 [1,2 - 2,7]	1,9 [1,0 - 2,7]
Formaldehyd	1539	27	1,8 [1,2 - 2,5]	1,8 [1,0 - 2,6]
p-Toluyldiamin	192	26	13,5 [9,0 - 19,2]	15,4 [9,3 - 21,6]
Quecksilber (II)-amid-chlorid	770	25	3,2 [2,1 - 4,8]	3,6 [2,0 - 5,3]
Hydroxyisohexyl-3-cyclohexene carboxaldehyde (HICC)	1524	25	1,6 [1,1 - 2,4]	2,3 [1,3 - 3,2]
1,3-Diphenylguanidin	668	24	3,6 [2,3 - 5,3]	2,4 [1,1 - 3,7]

Aus Tabelle 3.9.2.2.1 ist zu entnehmen, dass 109 der 1.531 Patienten, bei denen Epoxidharz auf Basis von DGEBA getestet wurde, positiv reagiert haben. Das vollständige Reaktionsspektrum ist in Tabelle 3.9.2.2.2 wiedergegeben.

Tabelle 3.9.2.2.2:

1.683 Patienten mit Farben und Lacken als mutmaßlicher Allergenquelle: Reaktionen auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas.

Reaktion	Anzahl	Prozent
negativ	1.408	92,0
fraglich	11	0,7
follikulär	2	0,1
+	42	2,7
++	54	3,5
+++	13	0,9
irritativ	1	0,1
Summe	1.531	100,0

Insgesamt ergaben sich bei 109 von 1.531 Patienten positive Reaktionen, das entspricht einer Reaktionsquote von 7,1%. Der Reaktions-Index (RI) lag bei 0,77, die Positivity Ratio (PR) bei 38,5%.

Wie in Abschnitt 3.3.1 erläutert, wurden weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen (DGEBF-Harz, Härter und Reaktivverdünner) mit unterschiedlicher Häufigkeit epikutan getestet. Bei 951 der 1.531 Patienten (62,1%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Härter epikutan getestet: MXDA, IPDA, DETA, TETA, TMHDA. 921 dieser Patienten (96,8%) reagierten auf keinen der Härter positiv. 23 Patienten (2,4%) reagierten auf einen Härter, 5 Patienten (0,5%) auf 2 Härter und 2 Patienten (0,2%) auf 3 Härter. Bei 902 der 1.531 Patienten (58,9%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, TMPTGE, BGE, PTBPGE. 852 der 902 Patienten (94,5%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 19 Patienten (2,1%) reagierten auf einen Verdünner, 16 Patienten (1,8%) auf 2 Verdünner, 7 Patienten (0,8%) auf 3, und jeweils 4 Patienten (0,4%) auf 4 bzw. 5 Reaktivverdünner. Die Gruppen der mit den Härtern und den Reaktivverdünnern getesteten Patienten überlappen sich. Insgesamt wurde bei 953 Patienten mindestens einer der genannten Härter und/oder mindestens einer der genannten Reaktivverdünner epikutan getestet. 882 dieser 953 Patienten (92,5%), bei denen mindestens einer der fünf oben genannten Härter und/oder mindestens einer der fünf oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet wurde, reagierten auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. 33 Patienten (3,5%) reagierten positiv auf eine dieser Verbindungen, 17 Patienten (1,8%) auf 2, 9 Patienten (0,9%) auf 3, 7 Patienten (0,7%) auf 4 und 5 Patienten (0,5%) auf 5 Härter und Verdünner.

Die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen Härter und Reaktivverdünner sind in Tabelle 3.9.2.2.3 zusammengestellt. Die Reaktionsquoten liegen hier insgesamt niedriger als bei den Malern und Lackierern mit Berufsdermatose (siehe Tabelle 3.8.2.2.3), was nicht verwunderlich ist, da auch die Quote positiver Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz nur knapp halb so hoch ist. Die Rangfolge bzgl. der relativen Häufigkeit positiver Reaktionen ist aber etwa gleich.



Tabelle 3.9.2.2.3:

1.683 Patienten mit Farben und Lacken als mutmaßlicher Allergenquelle: Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	47	16	34,0 [20,9 – 49,3]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	570	32	5,6 [3,9 – 7,8]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	569	32	5,6 [3,9 – 7,8]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	982	39	4,0 [2,8 – 5,4]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	380	20	5,3 [3,2 – 8,0]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	901	20	2,2 [1,4 – 3,4]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	901	19	2,1 [1,3 – 3,3]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	382	5	1,3 [0,4 – 3,0]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	384	11	2,9 [1,4 – 5,1]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	916	19	2,1 [1,3 – 3,2]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	363	5	1,4 [0,4 – 3,2]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	526	4	0,8 [0,2 – 1,9]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	301	0	0,0 [0,0 – 1,2]

### 3.9.2.3 Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen

Analog zu dem Vorgehen in Abschnitt 3.5.3 wird in Tabelle 3.9.2.3.1 die Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei den insgesamt 533 Patienten der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind, gegenübergestellt.

Tabelle 3.9.2.3.1:

Gegenüberstellung der Häufigkeit positiver Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen bei 533 Patienten mit Berufsdermatose und Maler und Lackierer als aktuellem oder früherem Beruf und der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) genannt sind.

Substanz	Sensibilisierungs-Quote	Häufigkeit in SiDaBs
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	34,0 [20,9 – 49,3]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	5,6 [3,9 – 7,8]	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	5,6 [3,9 – 7,8]	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	4,0 [2,8 – 5,4]	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	5,3 [3,2 – 8,0]	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)	2,2 [1,4 – 3,4]	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	2,1 [1,3 – 3,3]	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	1,3 [0,4 – 3,0]	selten / kaum verbreitet
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	2,9 [1,4 – 5,1]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	2,1 [1,3 – 3,2]	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	1,4 [0,4 – 3,2]	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	0,8 [0,2 – 1,9]	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	0,0 [0,0 – 1,2]	häufig / weit verbreitet

Im Wesentlichen sind die in Tabelle 3.9.2.3.1 dargestellten Daten nicht anders zu beurteilen als die Daten in Tabelle 3.9.1.3.1. Wenn man mit den Angaben zur Sensibilisierungshäufigkeit (Reaktionsquote) einerseits und der Häufigkeit der Nennung in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern andererseits einen Quotienten bildet, so ergibt sich folgende Reihenfolge: DETA > MXDA > TMHDA > IPDA > TETA. Dabei führt DETA mit großem Abstand, während die Unterschiede zwischen MXDA und TMHDA nur gering sind.

Analog zum Vorgehen in Abschnitt 3.5.3 wurde ein SEQ berechnet. Bezugsgröße war die Grundgesamtheit von insgesamt 39 allergischen Reaktionen auf MXDA, IPDA, TMHDA, DETA und TETA (siehe Tabelle 3.9.2.2.3). Dieselben 5 Amin-Härter sind in insgesamt 2140 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern aufgeführt (siehe Tabelle 2.3). In Tabelle 3.9.2.3.2 ist der Anteil der allergischen Reaktionen auf jeden einzelnen Amin-Härter an den insgesamt 39 allergischen Reaktionen auf alle 5 Amin-Härter zusammen dem Anteil der Nennungen in Sicherheitsdatenblättern an den insgesamt 2140 Sicherheitsdatenblättern gegenübergestellt. Der SEQ wird durch Division des prozentualen Anteils der allergischen Reaktionen an der Gesamtmenge der allergischen Reaktionen auf Amin-Härter (Spalte 3) durch den Anteil der Nennungen des einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge von 2140 Sicherheitsdatenblättern (Spalte 5) berechnet. Der SEQ ist in Spalte 6 aufgeführt. Mit dieser Methode ergibt sich ein anderes Ranking: Die SEQs von MXDA, IPDA und TMHDA sind nahezu identisch (1,0), während der SEQ von DETA deutlich darüber liegt (3,4), und TETA mangels positiver Reaktionen einen SEQ von Null hat.

IPDA wurde etwa 2,5mal so häufig epikutan getestet wie MXDA, TMHDA oder TETA, und DETA etwa 1,5mal so häufig. Daher wurden auf diese Amin-Härter auch entsprechend mehr Sensibilisierungen festgestellt, die in die Berechnung des SEQ eingeflossen sind. Daher kann der SEQ von IPDA und DETA bei dieser Berechnung möglicher Weise überschätzt worden sein. (Würde man unter der Annahme von 2,1% positiven Reaktionen auf IPDA und 0,8% positiven Reaktionen auf DETA bei jeweils 350 Testungen (Testzahl ähnlich wie die anderen Amin-Härter) die SEQs berechnen, so ergäben sich folgende Werte: DETA – 3,7; MXDA – 1,4; TMHDA – 1,2; IPDA – 0,6; TETA – 0,0.)

Tabelle 3.9.2.3.2:

Ermittlung eines „Sensitization Exposure Quotient“ (SEQ) durch Gegenüberstellung des Anteils der Sensibilisierungen gegen einzelne Amin-Härter an der Gesamtmenge der Sensibilisierungen gegen Amin-Härter (Spalte 3) und des Anteils der einzelnen Amin-Härter an der Gesamtmenge der Nennungen dieser Amin-Härter in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern (SiDaBs) (Spalte 5). Der SEQ (Spalte 6) wird ermittelt, indem der Wert in Spalte 3 durch den Wert in Spalte 5 dividiert wird.

Substanz	Anzahl Sensibilisierungen	Anteil an 39 Sensibil. gegen Amin-Härter	Anzahl Nennungen in SiDaBs	Anteil an 2.140 Nennungen in SiDaBs	SEQ
m-Xylidendiamin (MXDA)	11	28,2 %	608	28,4 %	1,0
Isophorondiamin (IPDA)	19	48,7 %	1009	47,1 %	1,0
Trimethylhexan-1,6-diamin	5	12,8 %	320	15,0 %	0,9
Diethylentriamin (DETA)	4	10,3 %	65	3,0 %	3,4
Triethylentetramin (TETA)	0	0,0 %	138	6,5 %	0,0

### 3.9.3 Kleber

#### 3.9.3.1 Klinische und anamnestische Daten

In den Jahren 2002 bis 2011 wurden in den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen insgesamt 2.205 Patienten epikutan getestet, bei denen die Kategorie „Kleber“ als mutmaßliche Allergenquelle genannt war. Tabelle 3.9.3.1.1 gibt eine Beschreibung dieser Patientengruppe mit dem MOAHLFA-Index.

Tabelle 3.9.3.1.1:

MOAHLFA-Index der 2.205 Patienten mit Klebern als mutmaßlicher Allergenquelle.

	Anzahl	Prozent
Männer	1.367	62,0
Berufsdermatose	923	41,9
Atopische Dermatitis	410	18,6
Handekzem	1.062	48,2
Beineckzem	159	7,2
Gesichtsekzem	236	10,7
Alter >= 40 Jahre	1.402	63,6

Im Vergleich zu den beiden Patientengruppen mit den Kontaktstoffkategorien „Baustoffe“ und „Farben und Lacke“ sind hier mehr Patienten mit einem Beineckzem vorhanden. In Tabelle 3.9.3.1.2 sind die Gruppen der aktuellen und früheren Berufe dieser Patienten zusammengestellt.

Tabelle 3.9.3.1.2:

Die häufigsten Gruppen der aktuellen und früheren Berufe der 2.205 Patienten mit Klebern als mutmaßlicher Allergenquelle.

Beruf	aktuell		früher	
	n	%	n	%
Tätigkeiten mit unbestimmter Exposition	569	25,8	26	1,2
Mechaniker, Maschinisten, Werkzeugmacher	229	10,4	30	1,4
Büroberufe	145	6,6	28	1,3
Maurer, Fliesenleger usw.	123	5,6	33	1,5
Ingenieure, Techniker usw.	85	3,9	12	0,5
Maler, Lackierer	80	3,6	28	1,3
Hausfrauen	76	3,4	5	0,2
Tischler, Holzbearbeiter	73	3,3	30	1,4
Kunststoffverarbeiter	67	3,0	9	0,4
Andere Berufe	731	33,1	174	7,9
Angabe fehlt	27	1,2	1.830	83,0

Die häufigsten mutmaßlichen Auslöser des Ekzems (Allergenquelle) sind in Tabelle 3.9.3.1.3 dargestellt.

Tabelle 3.9.3.1.3:

Mutmaßliche Allergenquellen bei 2.205 Patienten mit Klebern als mutmaßlicher Allergenquelle. In der IVDK-Dokumentation können bis zu 3 entsprechende Bereiche angegeben werden. Es sind alle Kontaktstoffkategorien angegeben, die bei mindestens 5 % der Patienten genannt wurden.

Kontaktstoff-Kategorie	n	%
Kleber	2.205	100,0
Gummi (sonstiges)	316	14,3
Kunststoffe	239	10,8
Kosmetika, Cremes, Lichtschutzmittel	235	10,7
Farben, Lacke	174	7,9
Medikamente, äußerlich	172	7,8
Baustoffe (Zement, Fliesenkleber...)	168	7,6
Handschuhe (Leder, Gummi, Stoff...)	150	6,8

Die häufigsten Hauptabschlussdiagnosen lauteten: allergisches Kontaktekzem (733 Pat.; 33,2%), chronisches irritatives Kontaktekzem (250 Pat.; 11,3%), Ausschluss einer Sensibilisierung (218 Pat., 9,9%), nicht klassifiziertes Ekzem (140 Pat.; 6,3%), atopisches Ekzem (132 Pat.; 6,0%), dyshidrotisches Ekzem (117 Pat.; 5,3%), hyperkeratotisches Ekzem (84 Pat.; 3,8%). Ein aeroogenes Ekzem lag bei 59 Patienten (2,7%) vor, ein akutes irritatives Kontaktekzem bei 44 Patienten (2,0%).

### 3.9.3.2 Reaktionshäufigkeiten

In Tabelle 3.9.3.2.1 sind die 35 am häufigsten positiv getesteten Allergene zusammengestellt. Passend zur Kategorie der mutmaßlichen Allergenquelle, durch die diese Patientengruppe definiert ist, findet man im Vergleich zur Gesamtgruppe der in den Jahren 2002 bis 2011 im IVDK getesteten Patienten erhöhte Quoten positiver Reaktionen auf Epoxidharz und Kolophonium. Außerdem befinden sich unter den 35 häufigsten Allergenen 7 weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen, 5 Methacrylate und p-tert-Butylphenol-Formaldehydharz. In allen diesen Fällen handelt es sich um Allergene, die in verschiedenen Typen von Klebstoffen vorkommen. Die Reaktionsquoten auf weitere Allergene der DKG-Standardreihe waren teils leicht erhöht, teils etwas verringert, im Ganzen aber ohne wesentliche Auffälligkeiten.

Tabelle 3.9.3.2.1:

Die 35 häufigsten Allergene bei 2.205 Patienten mit Klebern als mutmaßlicher Allergenquelle. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand. % pos. [95%-CI]
Epoxidharz	1917	212	11,1 [9,7 - 12,5]	9,2 [7,7 - 10,6]
Nickelsulfat	1923	195	10,1 [8,8 - 11,6]	15,2 [13,1 - 17,4]
Perubalsam	1934	144	7,4 [6,3 - 8,7]	7,0 [5,7 - 8,3]
Kolophonium	1933	143	7,4 [6,3 - 8,7]	8,5 [6,9 - 10,1]
Duftstoff-Mix	1932	134	6,9 [5,8 - 8,2]	8,1 [6,5 - 9,6]
Benzoylperoxid	1770	121	6,8 [5,7 - 8,1]	8,1 [6,4 - 9,7]
Kaliumdichromat	1934	105	5,4 [4,5 - 6,5]	4,7 [3,7 - 5,8]
1,6-Hexandioldiglycidylether	1115	97	8,7 [7,1 - 10,5]	6,9 [5,2 - 8,6]
4,4'-Diaminodiphenylmethan	1805	89	4,9 [4,0 - 6,0]	5,8 [4,4 - 7,2]
Kobaltchlorid	1930	82	4,2 [3,4 - 5,2]	4,9 [3,7 - 6,1]
2-Hydroxypropylmethacrylat	1746	80	4,6 [3,6 - 5,7]	6,0 [4,6 - 7,5]
Phenylglycidylether	1790	78	4,4 [3,5 - 5,4]	3,6 [2,6 - 4,6]
1,4-Butandioldiglycidylether	1111	77	6,9 [5,5 - 8,6]	6,4 [4,6 - 8,2]
2-Hydroxyethylmethacrylat	1762	73	4,1 [3,3 - 5,2]	5,8 [4,3 - 7,2]
Ethylenglycoldimethacrylat	1759	72	4,1 [3,2 - 5,1]	5,8 [4,3 - 7,3]
Hydroxyethylacrylat	1706	64	3,8 [2,9 - 4,8]	5,2 [3,7 - 6,6]
Methyldibromo Glutaronitril	1469	56	3,8 [2,9 - 4,9]	3,3 [2,3 - 4,3]
Terpentin	1936	56	2,9 [2,2 - 3,7]	2,9 [2,0 - 3,8]
Triethylenglycoldimethacrylat	1759	51	2,9 [2,2 - 3,8]	3,8 [2,6 - 5,0]
Duftstoff-Mix II	1379	51	3,7 [2,8 - 4,8]	3,9 [2,6 - 5,2]
Thiuram-Mix	1935	49	2,5 [1,9 - 3,3]	2,4 [1,5 - 3,2]
Polyvidon-Iod	425	48	11,3 [8,4 - 14,7]	10,4 [7,2 - 13,7]
Wollwachsalkohole	1935	46	2,4 [1,7 - 3,2]	2,6 [1,7 - 3,5]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.9.3.2.1:

Die 35 häufigsten Allergene bei 2.205 Patienten mit Klebern als mutmaßlicher Allergenquelle. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand. % pos. [95%-CI]
BIS-GMA	1727	45	2,6 [1,9 - 3,5]	2,0 [1,3 - 2,7]
(Chlor)-Methylisothiazolinon (MCI/MI)	1937	43	2,2 [1,6 - 3,0]	2,3 [1,5 - 3,2]
Cresylglycidylether	1755	42	2,4 [1,7 - 3,2]	1,6 [1,0 - 2,1]
m-Xylidendiamin	737	40	5,4 [3,9 - 7,3]	3,5 [2,3 - 4,8]
p-Phenylendiamin	737	39	5,3 [3,8 - 7,2]	6,4 [4,2 - 8,7]
Octylgallat	1240	38	3,1 [2,2 - 4,2]	2,7 [1,7 - 3,7]
p-tert-Butylphenol-Formaldehydharz	1935	37	1,9 [1,3 - 2,6]	2,1 [1,3 - 2,9]
p-tert-Butylphenylglycidylether	732	37	5,1 [3,6 - 6,9]	5,1 [2,9 - 7,3]
Isophorondiamin	1763	34	1,9 [1,3 - 2,7]	1,5 [0,9 - 2,2]
Propolis	1935	34	1,8 [1,2 - 2,4]	1,7 [1,0 - 2,4]
Butylglycidylether	1751	34	1,9 [1,3 - 2,7]	1,2 [0,7 - 1,7]

Aus Tabelle 3.9.3.2.1 ist zu entnehmen, dass 212 der 1.917 Patienten, bei denen Epoxidharz auf Basis von DGEBA getestet wurde, positiv reagiert haben. Das vollständige Reaktionsspektrum ist in Tabelle 3.9.3.2.2 wiedergegeben.

Tabelle 3.9.3.2.2:

2.205 Patienten mit Klebern als mutmaßlicher Allergenquelle: Reaktionen auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas.

Reaktion	Anzahl	Prozent
negativ	1.688	88,1
fraglich	14	0,7
follikulär	1	0,1
+	81	4,2
++	94	4,9
+++	37	1,9
irritativ	2	0,1
Summe	1.917	100,0



Insgesamt ergaben sich bei 212 von 1.917 Patienten positive Reaktionen, das entspricht einer Reaktionsquote von 11,1%. Der Reaktions-Index (RI) lag bei 0,85, die Positivity Ratio (PR) bei 38,2%.

Wie in Abschnitt 3.3.1 erläutert, wurden weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen (DGEHF-Harz, Härter und Reaktivverdünner) mit unterschiedlicher Häufigkeit epikutan getestet. Bei 1.789 der 2.205 Patienten (81,1%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Härter epikutan getestet: MXDA, IPDA, DETA, TETA, TMHDA . 1.703 dieser Patienten (95,2%) reagierten auf keinen der Härter positiv. 64 Patienten (3,6%) reagierten auf einen Härter, 19 Patienten (1,1%) auf 2 Härter und 3 Patienten (0,2%) auf 3 Härter. Bei 1.757 der 2.205 Patienten (79,7%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, TMPTGE, BGE, PTBPGE. 1.631 der 1.757 Patienten (92,8%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 45 Patienten (2,6%) reagierten auf einen Verdünner, 43 Patienten (2,4%) auf 2 Verdünner, 28 Patienten (1,6%) auf 3, 7 Patienten (0,4%) auf 4 und 3 Patienten (0,2%) auf 5 Reaktivverdünner. Die Gruppen der mit den Härtern und den Reaktivverdünnern getesteten Patienten überlappen sich. Insgesamt wurde bei 1.792 Patienten mindestens einer der genannten Härter und/oder mindestens einer der genannten Reaktivverdünner epikutan getestet. 1.621 dieser 1.792 Patienten (90,5%), bei denen mindestens einer der fünf oben genannten Härter und/oder mindestens einer der fünf oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet wurde, reagierten auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. 74 Patienten (4,1%) reagierten positiv auf eine dieser Verbindungen, 41 Patienten (2,3%) auf 2, 30 Patienten (1,7%) auf 3, 10 Patienten (0,6%) auf 4, 13 Patienten (0,7%) auf 5 und 3 Patienten (0,2%) auf 6 Härter und Verdünner.

Die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen Härter und Reaktivverdünner sind in Tabelle 3.9.3.2.3 zusammengestellt.

Tabelle 3.9.3.2.3:

2.205 Patienten mit Klebern als mutmaßlicher Allergenquelle: Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	67	28	41,8 [29,8 – 54,5]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	1.116	97	8,7 [7,1 – 10,5]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	1.112	77	6,9 [5,5 – 8,6]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	1.791	78	4,4 [3,5 – 5,4]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	733	37	5,0 [3,6 – 6,9]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	1.756	42	2,4 [1,7 – 3,2]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	1.752	34	1,9 [1,3 – 2,7]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	732	13	1,8 [0,9 – 3,0]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	735	40	5,4 [3,9 – 7,3]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	1.762	34	1,9 [1,3 – 2,7]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	710	14	2,0 [1,1 – 3,3]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	1.039	20	1,9 [1,2 – 3,0]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	375	3	0,8 [0,2 – 2,3]

### *3.9.3.3 Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen*

Wie aus den Angaben zu den Berufen und den mutmaßlichen Allergenquellen zu entnehmen ist, war diese Patientengruppe nur zu einem geringen Anteil gegenüber typischen Baustoffen oder Farben und Lacken exponiert. In den meisten Fällen dürfte eine berufliche oder außerberufliche Exposition gegenüber Zwei-Komponentenklebern, Acrylat-Klebern oder ähnlichen Produkten vorgelegen haben. Zur Verbreitung der getesteten Komponenten von Epoxidharz-Systemen in dieser Produkt-Kategorie liegen uns keine Informationen vor. Die bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblätter bieten hier keine sinnvolle Grundlage, da es sich nicht bzw. nur ausnahmsweise um derartige Produkte handelt.

Ein sinnvoller Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen ist daher nicht möglich.

### 3.9.4 Kunststoffe

#### 3.9.4.1 Klinische und anamnestische Daten

In den Jahren 2002 bis 2011 wurden in den dem IVDK angeschlossenen dermatologischen Abteilungen insgesamt 1.991 Patienten epikutan getestet, bei denen die Kategorie „Kunststoffe“ als mutmaßliche Allergenquelle genannt war. Tabelle 3.9.4.1.1 gibt eine Beschreibung dieser Patientengruppe mit dem MOAHLFA-Index.

Tabelle 3.9.4.1.1:

MOAHLFA-Index der 1.991 Patienten mit Kunststoffen als mutmaßlicher Allergenquelle.

	Anzahl	Prozent
Männer	1.168	58,7
Berufsdermatose	723	36,3
Atopische Dermatitis	329	16,5
Handekzem	912	45,8
Beinekzem	131	6,6
Gesichtsekzem	257	12,9
Alter >= 40 Jahre	1.301	65,3

Im Vergleich zu der Gruppe der Kunststoffverarbeiter mit Berufsdermatose sind in dieser Subgruppe von Patienten sind deutlich weniger Patienten mit Berufsdermatose, weniger Männer und weniger Patienten mit Handekzem vertreten; dagegen ist der Anteil von Patienten mit Beinekzem erheblich höher.

In Tabelle 3.9.4.1.2 sind die Gruppen der aktuellen und früheren Berufe dieser Patienten zusammengestellt.

Tabelle 3.9.4.1.2:

Die häufigsten Gruppen der aktuellen und früheren Berufe der 1.991 Patienten mit Kunststoffen als mutmaßlicher Allergenquelle.

Beruf	aktuell		früher	
	n	%	n	%
Tätigkeiten mit unbestimmter Exposition	586	29,4	28	1,4
Büroberufe	186	9,3	25	1,3
Mechaniker, Maschinisten, Werkzeugmacher	152	7,6	37	1,9
Kunststoffverarbeiter	144	7,2	23	1,2
Ingenieure, Techniker usw.	84	4,2	16	0,8
Hausfrauen	70	3,5	10	0,5
Elektriker	70	3,5	14	0,7
Andere Berufe	676	34,0	237	11,9
Angabe fehlt	23	1,2	1.601	80,4

Die häufigsten mutmaßlichen Auslöser des Ekzems (Allergenquelle) sind in Tabelle 3.9.4.1.3 dargestellt.

Tabelle 3.9.4.1.3:

Mutmaßliche Allergenquellen bei 1.991 Patienten mit Kunststoffen als mutmaßlicher Allergenquelle. In der IVDK-Dokumentation können bis zu 3 entsprechende Bereiche angegeben werden. Es sind alle Kontaktstoffkategorien angegeben, die bei mindestens 5 % der Patienten genannt wurden.

Kontaktstoff-Kategorie	n	%
Kunststoffe	1.991	100,0
Gummi (sonstiges)	263	13,2
Kosmetika, Cremes, Lichtschutzmittel	249	12,5
Kleber	239	12,0
Handschuhe (Leder, Gummi, Stoff...)	115	5,8
Metalle (zur Verarbeitung)	108	5,4
Medikamente, äußerlich	107	5,4
Farben, Lacke	86	4,3
Kühlschmierstoffe	81	4,1
Baustoffe (Zement, Fliesenkleber...)	75	3,8

Man kann an den Angaben des MOAHLFA-Indexes, der Berufe und der mutmaßlichen Allergenquellen erkennen, dass es sich bei diesen 1.991 Patienten um eine in nahezu jeder Hinsicht recht heterogene Gruppe handelt, die mit keiner der anderen Subgruppen, die durch den Beruf oder die mutmaßliche Allergenquelle definiert ist, verglichen werden kann. Es ist zu vermuten, dass Kunststoffe nicht nur dann als mutmaßliche Allergenquelle genannt wurden, wenn sie hergestellt, verarbeitet oder bearbeitet wurden, sondern auch, wenn Umgang mit Kunststoffen in ausgehärteter Form vorlag, z.B. im Büro oder beim Autofahren. Insofern sind die Daten dieser Subgruppe von Patienten sehr vorsichtig zu interpretieren, da unklar ist, auf welcher Grundlage sie erhoben wurden.

Die häufigsten Hauptabschlussdiagnosen lauteten: allergisches Kontaktekzem (665 Pat.; 33,4%), Ausschluss einer Sensibilisierung (224 Pat., 11,3%), chronisches irritatives Kontaktekzem (181 Pat.; 9,1%), dyshidrotisches Ekzem (127 Pat.; 6,4%), atopisches Ekzem (124 Pat.; 6,2%), nicht klassifiziertes Ekzem (118 Pat.; 5,9%), hyperkeratotisches Ekzem (88 Pat.; 4,4%). Ein aerogenes Ekzem lag bei 36 Patienten (1,8%) vor, ein akutes irritatives Kontaktekzem bei 41 Patienten (2,1%).

#### *3.9.4.2 Reaktionshäufigkeiten*

In Tabelle 3.9.4.2.1 sind die 35 am häufigsten positiv getesteten Allergene zusammengestellt. Im Vergleich mit der Gesamtgruppe der in den Jahren 2002 bis 2011 im IVDK getesteten Patienten fallen leicht erhöhte Quoten positiver Reaktionen auf nahezu alle Allergene der DKG-Standardreihe auf. Deutlich erhöht ist die Quote positiver Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz. Unter den 35 häufigsten Allergenen befinden sich darüber hinaus 5 weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen und 6 Methacrylate. Die Sensibilisierungsquoten sind nicht mit denen vergleichbar, die in der Gruppe der Kunststoffverarbeiter mit Berufsdermatose beobachtet wurden (siehe Abschnitt 3.8.3).

Tabelle 3.9.4.2.1:

Die 35 häufigsten Allergene bei 1.991 Patienten mit Kunststoffen als mutmaßlicher Allergenquelle. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%- CI]	Quote stand. % pos. [95%- CI]
Nickelsulfat	1753	218	12,4 [10,9 - 14,1]	17,4 [15,2 - 19,7]
Epoxidharz	1754	143	8,2 [6,9 - 9,5]	7,4 [6,0 - 8,9]
Perubalsam	1763	116	6,6 [5,5 - 7,8]	5,8 [4,6 - 7,0]
Benzoylperoxid	1384	110	7,9 [6,6 - 9,5]	9,9 [7,9 - 12,0]
Kobaltchlorid	1756	108	6,2 [5,1 - 7,4]	7,5 [5,9 - 9,1]
Duftstoff-Mix	1758	97	5,5 [4,5 - 6,7]	5,9 [4,6 - 7,3]
Kaliumdichromat	1762	93	5,3 [4,3 - 6,4]	4,6 [3,5 - 5,7]
Kolophonium	1764	66	3,7 [2,9 - 4,7]	3,9 [2,9 - 5,0]
Methyldibromo Glutaronitril	1366	63	4,6 [3,6 - 5,9]	4,1 [2,9 - 5,3]
1,6-Hexandioldiglycidylether	856	60	7,0 [5,4 - 8,9]	7,1 [4,9 - 9,3]
Phenylglycidylether	1331	56	4,2 [3,2 - 5,4]	4,0 [2,8 - 5,3]
Thiuram-Mix	1765	54	3,1 [2,3 - 4,0]	3,0 [2,1 - 4,0]
4,4'-Diaminodiphenylmethan	1344	52	3,9 [2,9 - 5,0]	4,6 [3,1 - 6,0]
2-Hydroxyethylmethacrylat	1383	52	3,8 [2,8 - 4,9]	5,0 [3,5 - 6,4]
1,4-Butandioldiglycidylether	855	52	6,1 [4,6 - 7,9]	6,1 [4,1 - 8,2]
Ethylenglycoldimethacrylat	1379	50	3,6 [2,7 - 4,8]	4,8 [3,3 - 6,2]
Duftstoff-Mix II	1292	48	3,7 [2,8 - 4,9]	3,7 [2,5 - 4,9]
(Chlor)-Methylisothiazolinon (MCI/MI)	1767	46	2,6 [1,9 - 3,5]	3,1 [2,1 - 4,1]
Wollwachsalkohole	1765	42	2,4 [1,7 - 3,2]	2,7 [1,8 - 3,6]
Amerchol L-101	1100	41	3,7 [2,7 - 5,0]	3,6 [2,4 - 4,9]
2-Hydroxypropylmethacrylat	1344	41	3,1 [2,2 - 4,1]	4,0 [2,6 - 5,3]
BIS-GMA	1309	39	3,0 [2,1 - 4,1]	2,6 [1,6 - 3,6]
Hydroxyethylacrylat	1261	38	3,0 [2,1 - 4,1]	4,3 [2,8 - 5,8]

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 3.9.4.2.1 (Fortsetzung):

Die 35 häufigsten Allergene bei 1.991 Patienten mit Kunststoffen als mutmaßlicher Allergenquelle. Es sind die nicht adjustierten (rohe) sowie die alters- und geschlechtsstandardisierten Quoten positiver Reaktionen in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben.

Testsubstanz	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	Quote roh % pos. [95%-CI]	Quote stand. % pos. [95%-CI]
Hydroxyisohexyl-3-cyclohexene carboxaldehyde (HICC)	1742	36	2,1 [1,5 - 2,8]	2,0 [1,3 - 2,7]
1,3-Diphenylguanidin	874	33	3,8 [2,6 - 5,3]	2,7 [1,7 - 3,8]
Cocamidopropylbetain	1111	33	3,0 [2,1 - 4,1]	2,9 [1,8 - 4,0]
Triethylenglycoldimethacrylat	1377	31	2,3 [1,5 - 3,2]	2,5 [1,5 - 3,5]
Terpentin	1765	28	1,6 [1,1 - 2,3]	1,6 [0,9 - 2,2]
Formaldehyd	1763	27	1,5 [1,0 - 2,2]	1,4 [0,8 - 2,1]
Octylgallat	1080	27	2,5 [1,7 - 3,6]	2,2 [1,2 - 3,1]
Cresylglycidylether	1285	27	2,1 [1,4 - 3,0]	2,1 [1,2 - 3,0]
p-tert-Butylphenylglycidylether	588	27	4,6 [3,0 - 6,6]	4,6 [2,5 - 6,6]
Methylmethacrylat	1393	26	1,9 [1,2 - 2,7]	2,3 [1,3 - 3,3]
Palladiumchlorid	324	26	8,0 [5,3 - 11,5]	10,9 [6,4 - 15,4]
Tetramethylthiurammonosulfid	776	26	3,4 [2,2 - 4,9]	3,5 [2,0 - 5,1]

Aus Tabelle 3.9.4.2.1 ist zu entnehmen, dass 143 der 1.754 Patienten, bei denen Epoxidharz auf Basis von DGEBA getestet wurde, positiv reagiert haben. Das vollständige Reaktionsspektrum ist in Tabelle 3.9.4.2.2 wiedergegeben.

Tabelle 3.9.4.2.2:

1.991 Patienten mit Kunststoffen als mutmaßlicher Allergenquelle: Reaktionen auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas.

Reaktion	Anzahl	Prozent
negativ	1.588	90,5
fraglich	22	1,3
follikulär	1	0,1
+	57	3,3
++	58	3,3
+++	28	1,6
irritativ	0	0,0
Summe	1.754	100,0



Insgesamt ergaben sich bei 143 von 1.754 Patienten positive Reaktionen, das entspricht einer Reaktionsquote von 8,2%. Der Reaktions-Index (RI) lag bei 0,72, die Positivity Ratio (PR) bei 39,9%.

Wie in Abschnitt 3.3.1 erläutert, wurden weitere Komponenten von Epoxidharz-Systemen (DGEBF-Harz, Härter und Reaktivverdünner) mit unterschiedlicher Häufigkeit epikutan getestet. Bei 1.375 der 1.991 Patienten (69,1%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Härter epikutan getestet: MXDA, IPDA, DETA, TETA, TMHDA . 1.327 dieser Patienten (96,5%) reagierten auf keinen der Härter positiv. 40 Patienten (2,9%) reagierten auf einen Härter, 7 Patienten (0,5%) auf 2 Härter und 1 Patient (0,1%) auf 3 Härter. Bei 1.303 der 1.991 Patienten (65,4%) wurde mindestens einer der 5 folgenden in Epoxidharz-Systemen eingesetzten Reaktivverdünner epikutan getestet: 1,6-HDDGE, 1,4-BDDGE, TMPTGE, BGE, PTBPGE. 1.220 der 1.303 Patienten (93,6%) reagierten auf keinen der genannten Reaktivverdünner positiv. 29 Patienten (2,2%) reagierten auf einen Verdünner, 25 Patienten (1,9%) auf 2 Verdünner, 20 Patienten (1,5%) auf 3, 7 Patienten (0,5%) auf 4 und 2 Patienten (0,2%) auf 5 Reaktivverdünner. Die Gruppen der mit den Härtern und den Reaktivverdünnern getesteten Patienten überlappen sich. Insgesamt wurde bei 1.377 Patienten mindestens einer der genannten Härter und/oder mindestens einer der genannten Reaktivverdünner epikutan getestet. 1.264 dieser 1.377 Patienten (91,8%), bei denen mindestens einer der fünf oben genannten Härter und/oder mindestens einer der fünf oben genannten Reaktivverdünner epikutan getestet wurde, reagierten auf keine dieser Epoxidharz-System-Komponenten. 49 Patienten (3,6%) reagierten positiv auf eine dieser Verbindungen, 30 Patienten (2,2%) auf 2, 18 Patienten (1,3%) auf 3, 10 Patienten (0,7%) auf 4, 5 Patienten (0,4%) auf 5 und 1 Patient (0,1%) auf 6 Härter und/oder Verdünner.

Reaktionen auf Amin-Härter und Reaktivverdünner waren damit insgesamt deutlich seltener als in der Gruppe der Kunststoffverarbeiter mit Berufsdermatose.

Die Reaktionen auf die als Epikutantestsubstanz kommerziell erhältlichen Härter und Reaktivverdünner sind in Tabelle 3.9.4.2.3 zusammengestellt. Die Reaktionsquoten liegen hier insgesamt niedriger als bei den Malern und Lackieren mit Berufsdermatose (siehe Tabelle 3.8.2.2.3), was nicht verwunderlich ist, da auch die Quote positiver Reaktionen auf DGEBA-Epoxidharz nur knapp halb so hoch ist. Die Rangfolge bzgl. der relativen Häufigkeit positiver Reaktionen ist aber etwa gleich.

Tabelle 3.9.4.2.3:

1.991 Patienten mit Kunststoffen als mutmaßlicher Allergenquelle: Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	57	19	33,3 [21,4 – 47,1]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	859	61	7,1 [5,5 – 9,0]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	858	53	6,2 [4,7 – 8,0]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	1.334	56	4,2 [3,2 – 5,4]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	591	27	4,6 [3,0 – 6,6]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	1.288	27	2,1 [1,4 – 3,0]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	1.294	25	1,9 [1,3 – 2,8]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	590	11	1,9 [0,9 – 3,3]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	591	17	2,9 [1,7 – 4,6]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	1.303	21	1,6 [1,0 – 2,5]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	567	6	1,1 [0,4 – 2,3]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	787	9	1,1 [0,5 – 2,2]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	398	4	1,0 [0,3 – 2,6]

### 3.9.4.3 Vergleich der Sensibilisierungshäufigkeiten mit der Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen

Da, wie eingangs erwähnt, die Datengrundlage recht heterogen und schwer definierbar ist, scheint ein Vergleich der Sensibilisierungsquoten mit der Häufigkeit, mit der die Komponenten in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern genannt sind, wenig sinnvoll. Dasselbe gilt für die Berechnung eines SEQ. Beides wurde daher nicht vorgenommen.

#### **4. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse**

Im Rahmen des Teilprojektes 5.4.1 wurden Daten des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) der Jahre 2002 bis 2011 ausgewertet. In diesen 10 Jahren wurden in den 56 am IVDK beteiligten dermatologischen Abteilungen insgesamt 105.656 Patienten epikutan getestet. Ein Epoxidharz auf Basis von Bisphenol A-diglycidylether (DGEBA) wurde im Rahmen der Standardreihe bei etwa 90% der Patienten getestet. Es handelte sich also nicht um gezielte Epikutantestungen bei Patienten mit konkretem Verdacht auf eine Epoxidharz-Allergie. Insgesamt wurde das DGEBA-Harz (1% Vas.) bei 93.406 Patienten getestet, von denen 1.453 (1,56%) positiv reagierten. Unter den Patienten mit allergischer Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz waren gehäuft Männer, Patienten mit Berufsdermatose und Patienten mit Handekzem; die Berufe Maler und Lackierer, Fußbodenleger, Maurer, Fliesenleger und Kunststoffverarbeiter waren vermehrt betroffen. Nur 62 der 1.453 Patienten mit Sensibilisierung gegen das DGEBA-Harz litten an einem aerogenen Kontaktekzem. Die Daten dieser Subgruppe wurden ausgewertet, ließen aber aufgrund der kleinen Stichprobengröße keine weiteren Rückschlüsse auf besondere Expositionen, Begleitumstände oder Begleitsensibilisierungen zu, die zum Entstehen einer airborne dermatitis beitragen.

Die folgenden weiteren Komponenten von Epoxidharz-Systemen wurden gezielt bei Patienten mit Verdacht auf Epoxidharz-Allergie oder bei Patienten mit positiver Reaktion auf das DGEBA-Epoxidharz getestet (siehe Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1:

Weitere, bei Verdacht auf Epoxidharz-Allergie epikutan getestete Komponenten von Epoxidharz-Systemen. Alle Testzubereitungen in Vaseline.

Substanz	CAS Nr.	Testkonzentration
Harze		
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEHF-Harz)	9003-36-5	0,25 %
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandiol diglycidylether (1,6-HDDGE)	16096-31-4	0,25 %
1,4-Butandiol diglycidylether (1,4-BDDGE)	2425-79-8	0,25 %
Phenylglycidylether (PGE)	122-60-1	0,25 %
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	3101-60-8	0,25 %
Cresylglycidylether (CGE)	26447-14-3	0,25 %
Butylglycidylether (BGE)	2426-08-6	0,25 %
Trimethylolpropan triglycidylether (TMPTGE)	30499-70-8	0,25 %
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	1477-55-0	0,1 %
Isophorondiamin (IPDA)	2855-13-2	0,5 %
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	25620-58-0	0,5 %
Diethylentriamin (DETA)	111-40-0	1 %
Triethylentetramin (TETA)	112-24-3	0,5 %

Die Testung dieser Substanzen erfolgte mit unterschiedlicher Häufigkeit. Dies war vor allem durch die unterschiedliche Verfügbarkeit der Testsubstanzen in dem zehnjährigen Untersuchungszeitraum bedingt.

Die Testergebnisse bei Patienten mit *positiver* Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz sind in der folgenden Tabelle (Tabelle 4.2) wiedergegeben.

Tabelle 4.2.:

Patienten mit positiver Reaktion auf Epoxidharz auf Basis von DGEBA, 1 % Vas. (n=1.453): Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	115	78	67,8 [58,5 – 76,2]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	452	191	42,3 [37,7 – 47,0]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	452	155	34,3 [29,9 – 38,9]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	615	178	28,9 [25,4 – 32,7]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	340	93	27,4 [22,7 – 32,4]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	575	86	15,0 [12,1 – 18,1]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	569	61	10,7 [8,3 – 13,6]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	341	26	7,6 [5,0 – 11,0]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	340	62	18,2 [14,3 – 22,8]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	580	56	9,7 [7,4 – 12,4]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	285	14	4,9 [2,7 – 8,1]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	321	15	4,7 [2,6 - 7,6]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	294	5	1,7 [0,6 – 3,9]

Bei der Analyse der Testreaktionen auf die einzelnen Amin-Härter und Reaktivverdünner fiel auf, dass bis zu 20% der allergischen Reaktionen auf Reaktivverdünner und sogar 40% bis 65% der Reaktionen auf Amin-Härter bei Patienten auftraten, die *nicht* gegen das DGEBA-Epoxidharz sensibilisiert waren.

Da eine Exposition gegenüber diesen Verbindungen außerhalb von Epoxidharz-Systemen selten und daher relativ unwahrscheinlich ist, erscheinen auch die Sensibilisierungen gegen Amin-Härter und Reaktivverdünner, die unabhängig von einer Sensibilisierung gegen das DGEBA-Epoxidharz auftreten, für die übergeordnete Fragestellung des Forschungsvorhabens von Bedeutung.

Im Fall des Isophorondiamin ist allerdings zu berücksichtigen, dass Sensibilisierungen auch durch die Exposition gegenüber Isophorondiisocyanat erworben werden können. Vereinfacht dargestellt, wird Isophorondiisocyanat auf oder in der Haut zu Isophorondiamin umgewandelt, so dass der entsprechend (durch die Exposition gegenüber Isophorondiisocyanat) sensibilisierte Patient im Epikutantest auf Isophorondiamin allergisch reagiert [Aalto-Korte et al. 2012, Frick-Engfeldt et al. 2007]. Mit anderen Worten: Die Häufigkeit der Sensibilisierungen gegen Isophorondiamin durch die Exposition in Epoxidharz-Systemen kann möglicherweise bei unserem Vorgehen überschätzt werden.

In Tabelle 4.3 sind die Testergebnisse mit Amin-Härtern und Reaktivverdünnern bei Patienten mit *negativer* Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz wiedergegeben.

Um das Bild zu vervollständigen, sind in der danach folgenden Tabelle (Tabelle 4.4) die bei *allen mit dem DGEBA-Epoxidharz getesteten Patienten* beobachteten Testreaktionen auf die Amin-Härter und Reaktivverdünner zusammengestellt, unabhängig von der Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz.

Tabelle 4.3:

Patienten mit negativer Reaktion auf DGEBA-Epoxidharz (n=91.424):

Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	129	5	3,9 [1,3 – 8,8]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	5335	34	0,6 [0,4 – 0,9]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	5326	46	0,9 [0,6 – 1,2]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	12844	36	0,3 [0,2 – 0,4]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	3465	5	0,1 [0,0 – 0,3]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	8451	20	0,2 [0,1 – 0,4]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	8438	17	0,2 [0,1 – 0,3]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	3457	2	0,1 [0,0 – 0,2]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	3468	13	0,4 [0,2 – 0,6]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	8575	39	0,5 [0,3 – 0,6]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	3425	20	0,6 [0,4 – 0,9]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	5210	28	0,5 [0,4 – 0,8]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	2841	10	0,4 [0,1 – 0,6]

Tabelle 4.4:

Mit DGEBA-Epoxidharz getestete Patienten (n=93.406):

Testungen mit und Reaktionen auf weitere Bestandteile von Epoxidharz-Systemen. Es sind die Reaktionsquoten in Prozent mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen (95%-CI) angegeben. Alle Testsubstanzen in Vaseline.

Substanz	Konz.	Anzahl Getestete	Anzahl Positive	% pos. [95%-CI]
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)	0,25 %	248	83	33,5 [27,6 – 39,7]
Reaktivverdünner				
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	0,25 %	5.845	233	4,0 [3,5 – 4,5]
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	0,25 %	5.836	206	3,5 [3,1 – 4,0]
Phenylglycidylether (PGE)	0,25 %	13.565	217	1,6 [1,4 – 1,8]
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	0,25 %	3.845	99	2,6 [2,1 – 3,1]
Cresylglycidylether (CGE)	0,25 %	9.109	108	1,2 [1,0 – 1,4]
Butylglycidylether (BGE)	0,25 %	9.090	82	0,9 [0,7 – 1,1]
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	0,25 %	3.838	29	0,8 [0,5 – 1,1]
Härter				
m-Xylidendiamin (MXDA)	0,1 %	3.848	81	2,1 [1,7 – 2,6]
Isophorondiamin (IPDA)	0,5 %	9.238	97	1,1 [0,9 – 1,3]
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerengemisch; TMHDA)	0,5 %	3.749	34	0,9 [0,6 – 1,3]
Diethylentriamin (DETA)	1 %	5.586	43	0,8 [0,6 – 1,0]
Triethylentetramin (TETA)	0,5 %	3.170	16	0,5 [0,3 – 0,8]

Die Häufigkeit, mit der allergische Reaktionen auf eine Substanz beobachtet werden, hängt u.a. mit der Verbreitung dieser Substanz bzw. mit der Anzahl der Exponierten zusammen. Da keine konkreten Angaben zur Verbreitung der einzelnen Komponenten in Epoxidharz-Systemen oder gar zur Zahl der exponierten Personen vorlagen, wurden zur Abschätzung der relativen Verbreitung der einzelnen Komponenten die bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblätter von Epoxidharz-Systemen herangezogen (Tabelle 4.5).

Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass sich diese Sicherheitsdatenblätter ausschließlich auf Produkte aus dem Bau-Bereich beziehen. Es sind also überwiegend Maurer, Bauarbeiter, Fliesenleger, Fußbodenleger sowie Maler und Lackierer exponiert.



Über die Verbreitung einzelner Komponenten von Epoxidharz-Systemen, die in anderen Anwendungsbereichen eingesetzt werden, liegen uns keine Informationen vor.

Tabelle 4.5:

Zuordnung der in der Datenanalyse berücksichtigten Komponenten von Epoxidharz-Systemen zu den Häufigkeits-Kategorien anhand der 3.692 bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblätter (SiDaBs), von denen 635 nach 2005 erstellt wurden.

Substanz	Nennungen in SiDaBs / davon nach 2005 erstellt	Häufigkeit Kategorie
Harze		
Bisphenol A-Epoxidharz (DGEBA-Harz)*	1767 / 364	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)**	756 / 178	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Reaktivverdünner		
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	321 / 63	häufig / weit verbreitet
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	29 / 11	selten / kaum verbreitet
Phenylglycidylether (PGE)	0 / 0	sehr selten / fast nicht verbreitet
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	54 / 16	selten / kaum verbreitet
Cresylglycidylether (CGE)***	38 / 5	selten / kaum verbreitet
Butylglycidylether (BGE)	0 / 0	sehr selten / fast nicht verbreitet
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	26 / 4	selten / kaum verbreitet
Härter		
m-Xylidendiamin (MXDA)	608 / 122	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Isophorondiamin (IPDA)	1009 / 165	sehr häufig / sehr weit verbreitet
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomerenmischung; TMHDA)	320 / 57	häufig / weit verbreitet
Diethylentriamin (DETA)	65 / 10	selten / kaum verbreitet
Triethylentetramin (TETA)	138 / 21	häufig / weit verbreitet

\* CAS-Nummern 25068-38-6 und 25085-99-8 zusammengefasst.

\*\* CAS-Nummern 9003-36-5 und 28064-14-4 zusammengefasst.

\*\*\* CAS Nummern 2210-79-9 und 26447-14-3 zusammengefasst.

Aus der Gegenüberstellung dieser (relativ groben) Daten zur Verbreitung einerseits und der Häufigkeit allergischer Reaktionen im Untersuchungskollektiv andererseits wurde versucht, ein Ranking der expositionsbezogenen Sensibilisierungshäufigkeit der einzelnen Substanzen zu erstellen.

Dabei ist jedoch Folgendes zu berücksichtigen: Allergische Reaktionen auf einen bestimmten Stoff sind zwar in der Regel Folge einer Sensibilisierung gegen diesen Stoff durch Exposition gegenüber genau diesem Stoff. Sie können aber auch dadurch zustande kommen, dass sich der Betroffene gegen einen anderen, chemisch verwandten Stoff sensibilisiert hat, und nun nicht nur auf sein primäres Allergen, sondern auch auf weitere chemisch verwandte Stoffe allergisch reagiert. Dieses Phänomen nennt man immunologische Kreuzreaktion.

Solche immunologischen Kreuzreaktionen haben es verhindert, ein Ranking der expositionsbezogenen Sensibilisierungshäufigkeit der verschiedenen Reaktivverdünner (Glycidylether) zu erstellen. Zwischen dem Epoxidharz auf Basis von DGEBA und dem Phenylglycidylether sind immunologische Kreuzreaktionen bekannt; daher treten allergische Reaktionen auf Phenylglycidylether auch bei Patienten auf, die sehr wahrscheinlich nicht gegenüber diesem Reaktivverdünner exponiert waren. Zwischen den drei aromatischen Glycidylethern Phenylglycidylether, Cresylglycidylether und p-tert-Butylphenylglycidylether gibt es ebenfalls immunologische Kreuzreaktionen, ebenso zwischen den beiden aliphatischen Glycidylethern 1,6-Hexandioldiglycidylether und 1,4-Butandioldiglycidylether. Möglicher Weise bestehen auch Kreuzreaktionen zwischen 1,4-Butandioldiglycidylether und Butylglycidylether.

Man kann also bei dieser Substanzgruppe aus dem Vergleich der Häufigkeit von Sensibilisierungen und ihrer Verbreitung in Epoxidharz-Systemen keine sinnvolle Relation bilden, da Sensibilisierungen gegen eine dieser Verbindungen auch durch andere, chemisch verwandte Stoffe erworben worden sein können.

Man kann lediglich feststellen, dass 1,6-Hexandioldiglycidylether und 1,4-Butandioldiglycidylether von allen hier untersuchten Glycidylethern am häufigsten sensibilisieren (ohne dass dies durch primäre Sensibilisierungen gegen das DGEBA-Harz erklärt werden könnte), insbesondere häufiger als die genannten aromatischen Glycidylether. Bei den letzteren ist ein Teil der allergischen Reaktionen Ausdruck einer immunologischen Kreuzreaktion bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA-Epoxidharz; dadurch wird die *expositionsbezogene* Sensibilisierungshäufigkeit der aromatischen Glycidylether, insbesondere von Phenylglycidylether, überschätzt.

Es wäre jedoch nicht adäquat, allein aufgrund der hier berichteten Daten die beiden aliphatischen Glycidylether 1,6-Hexandioldiglycidylether und 1,4-Butandioldiglycidylether

unter allergologischen Aspekten als wesentlich ungünstiger einzuschätzen als die aromatischen Glycidylether, denn für die Beurteilung *in der Praxis*, also bei Verwendung der jeweiligen Verbindungen in einem Epoxidharzprodukt, steigt sowohl beim Einsatz der aliphatischen als auch der aromatischen Glycidylether der Allergengehalt. Im ersten Fall kommen andere Allergene zum Harz hinzu, im zweiten Fall erhöht sich für den Epoxidharz-Allergiker der (eine allergische Reaktion auslösende) Gesamt-Allergengehalt. Dies ist vor allem deshalb von Bedeutung, weil die Sensibilisierung gegen das DGEBA-Harz unter allen untersuchten Komponenten von Epoxidharz-Systemen die häufigste ist.

Anders verhält es sich bei den Amin-Härtern. Hier sind aus tierexperimentellen Untersuchungen keine Hinweise auf immunologische Kreuzreaktionen bekannt; auch die epidemiologischen Daten deuten nicht in diese Richtung. Durch den Vergleich der Sensibilisierungsquoten mit der Häufigkeit der Nennungen in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern ist mit gewissen Einschränkungen ein Ranking der Amin-Härter in Bezug auf ihre sensibilisierende Wirkung möglich.

Hierzu wurden zum einen die Reaktionen auf die Amin-Härter bei allen getesteten Patienten ausgewertet, und zusätzlich die Reaktionsquoten in den Subgruppen der Patienten untersucht, die beruflich gegen die bei GISBAU registrierten Epoxidharz-Produkte exponiert sind (bzw. sein können). Das daraus abgeschätzte Ranking ist in Tabelle 4.6 zusammengestellt.

Tabelle 4.6:

Ranking der expositionsbezogenen Häufigkeit der Sensibilisierungen gegen Amin-Härter in der Gesamtgruppe der mit DGEBA-Harz getesteten Patienten und in verschiedenen Subgruppen von Patienten, die durch den Beruf oder die mutmaßliche Allergenquelle definiert sind.

Patientengruppe	Ranking der expositionsbezogenen Sensibilisierungshäufigkeit
Alle mit DGEBA-Harz Getesteten (n=93.406)	DETA >> TETA > MXDA > TMHDA >> IPDA
Maurer, Fliesenleger, Bauarbeiter o.ä. mit Berufsdermatose (n=804)	DETA > MXDA >> TMHDA > IPDA >> TETA
Maler und Lackierer mit Berufsdermatose (n=533)	TMHDA > MXDA > DETA >> IPDA >> TETA
Patienten mit mutmaßlicher Allergenquelle „Baustoffe“ (n=2.068)	MXDA >> DETA > TMHDA >> TETA > IPDA
Patienten mit mutmaßlicher Allergenquelle „Farben und Lacke“ (n=1.683)	DETA >> MXDA > TMHDA >> IPDA > TETA

Wenn man berücksichtigt, dass die Expositionsdaten erstens relativ grob sind und sich zweitens ausschließlich auf Produkte aus dem Bau-Bereich beziehen, dann muss man dem Ranking der in Tabelle 4.6 genannte Subgruppen von Patienten größere Bedeutung beimessen als dem Ranking der Gesamtgruppe. Außerdem ist zu berücksichtigen, dass die durch die mutmaßliche Allergenquelle definierten Subgruppen von Patienten wesentlich größer sind als die durch den Beruf definierten Subgruppen. Zudem gibt es Überlappungen zwischen den durch den Beruf und den durch die mutmaßliche Allergenquelle definierten Subgruppen von Patienten.

Trotz dieser Einschränkungen zeichnet sich ab, dass die expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit von DETA und MXDA als relativ hoch anzusehen ist, die von IPDA und TETA dagegen als relativ niedrig. TMPHA liegt dazwischen. Dies sollte beim Ranking der Amin-Härter im Rahmen des Gesamtprojektes FP-0324 berücksichtigt werden.

#### Hinweis:

Auch die Testergebnisse mit 4,4'-Diaminodiphenylmethan, das in der Liste der zu bearbeitenden Substanzen des Gesamtprojektes FP-0324 enthalten ist, wurden ausgewertet. Diese aromatische Verbindung nimmt jedoch eine Sonderstellung ein.

4,4'-Diaminodiphenylmethan wird wegen seiner Toxizität praktisch nicht (mehr) als Härter in Epoxidharz-Systemen verwendet. Dennoch werden Sensibilisierungen gegen diese Substanz relativ häufig beobachtet. Eine mögliche Ursache dafür ist eine Sensibilisierung durch die Exposition gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat, z.B. in 2-Komponenten-Polyurethan-Produkten. Vereinfacht dargestellt, wird Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat auf oder in der Haut zu 4,4'-Diaminodiphenylmethan umgewandelt; daher kann ein gegenüber Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat Exponierter sich gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat und / oder 4,4'-Diaminodiphenylmethan sensibilisieren, so dass er im Epikutantest (auch) auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan allergisch reagiert. Daher wird die Epikutantestung mit 4,4'-Diaminodiphenylmethan auch zur Diagnostik von Typ IV-Sensibilisierungen gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat empfohlen.

4,4'-Diaminodiphenylmethan gehört außerdem im weiteren Sinne zu den in para-Stellung disubstituierten aromatischen Aminen, den so genannten „Para-Stoffen“. Bei Patienten mit Sensibilisierung gegen „Para-Stoffe“ sind immunologische Kreuzreaktionen häufig, so dass oft allergische Reaktionen auf mehrere derartige Verbindungen bei ein und demselben Patienten zu beobachten sind (so genannte „Paragruppen“-Allergie). Ein Teil der allergischen Reaktionen auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan ist also sehr wahrscheinlich auch durch eine solche „Paragruppen“-Allergie bedingt. Diese Patienten haben sich primär gegen

einen anderen „Para-Stoff“, z.B. p-Phenylendiamin oder p-Toluylendiamin in Haarfarben, sensibilisiert und reagieren dann auch allergisch auf 4,4'-Diaminodiphenylmethan.

Auch in unseren Daten legte das Spektrum der mutmaßlichen Allergenquellen, weiterer Patientencharakteristika und der Begleitsensibilisierungen den Schluss nahe, dass die Sensibilisierungen gegen 4,4'-Diaminodiphenylmethan nicht originär durch die Exposition gegenüber dieser Verbindung erworben wurden, sondern hauptsächlich Ausdruck primärer Sensibilisierungen gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat oder gegen so genannte „Para-Stoffe“ sind. Zwar sind Altsensibilisierungen durch frühere Exposition gegenüber 4,4'-Diaminodiphenylmethan nicht ausgeschlossen, die Daten tragen jedoch nicht (wesentlich) zum übergeordneten Ziel des Forschungsvorhabens bei.

## 5. Allergologische Bewertung der epikutan getesteten Komponenten von Epoxidharz-Systemen an Hand der vorliegenden Daten

In diesem Abschnitt werden die wichtigsten aus dieser Datenauswertung gewonnenen Erkenntnisse über die in Tabelle 2.3 genannten Substanzen stichwortartig verkürzt, zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 5.1:

Zusammenfassende Darstellung der wichtigsten Ergebnisse zu den einzelnen untersuchten Epoxidharzkomponenten.

Substanz	Häufigkeit Kategorie
Harze	
Bisphenol A-Epoxidharz (DGEBA-Harz)*	sehr weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; häufigstes Allergen in diesem Bereich
Bisphenol F-Epoxidharz (DGEBF-Harz)**	sehr weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; zweithäufigstes Allergen; immunologische Kreuzreaktionen mit DGEBA-Harz
Reaktivverdünner	
1,6-Hexandioldiglycidylether (1,6-HDDGE)	weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; häufigstes Allergen unter den Reaktivverdünnern; immunologische Kreuzreaktionen mit 1,4-BDDGE
1,4-Butandioldiglycidylether (1,4-BDDGE)	kaum verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; dennoch zweithäufigstes Allergen unter den Reaktivverdünnern, wohl durch immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen 1,6-HDDGE
Phenylglycidylether (PGE)	fast nicht verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; dennoch sehr häufiges Allergen unter den Reaktivverdünnern, wohl durch immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz
p-tert-Butylphenylglycidylether (PTBPGE)	kaum verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; dennoch sehr häufiges Allergen unter den Reaktivverdünnern, wohl auch durch immunologische Kreuzreaktionen
Cresylglycidylether (CGE)***	kaum verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; selten isolierte Sensibilisierungen; Sensibilisierungen wohl vor allem durch immunologische Kreuzreaktionen

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 5.1 (Fortsetzung):

Zusammenfassende Darstellung der wichtigsten Ergebnisse zu den einzelnen untersuchten Epoxidharzkomponenten.

Substanz	Häufigkeit Kategorie
Butylglycidylether (BGE)	fast nicht verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; möglicher Weise immunologische Kreuzreaktionen (via Metabolisierung) bei primärer Sensibilisierung gegen 1,4-BDDGE
Trimethylolpropantriglycidylether (TMPTGE)	kaum verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; seltenstes Allergen unter den Reaktivverdünnern
Härter	
m-Xylidendiamin (MXDA)	sehr weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; häufigstes Allergen unter den Amin-Härtern; hohe expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit
Isophorondiamin (IPDA)	sehr weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; zweithäufigstes Allergen unter den Amin-Härtern; jedoch niedrigste expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit; immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen Isophorondiisocyanat möglich
Trimethylhexan-1,6-diamin (Isomergemisch; TMHDA)	weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; selteneres Allergen unter den Amin-Härtern; mittlere expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit
Diethylentriamin (DETA)	kaum verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; selteneres Allergen unter den Amin-Härtern; jedoch hohe expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit
Triethylentetramin (TETA)	weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; seltenstes Allergen unter den Amin-Härtern; geringe expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit
4,4'-Diaminodiphenylmethan	fast nicht verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; dennoch relativ häufiges Allergen bei Epoxidharz-Exponierten und -Allergikern; Sensibilisierung wahrscheinlich meist bedingt durch immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat oder in para-Stellung disubstituierte aromatisch Amine

\* CAS-Nummern 25068-38-6 und 25085-99-8 zusammengefasst.

\*\* CAS-Nummern 9003-36-5 und 28064-14-4 zusammengefasst.

\*\*\* CAS Nummern 2210-79-9 und 26447-14-3 zusammengefasst.

## 6. Literatur

- Aalto-Korte K, Suuronen K, Kuuliala O, Henriks-Eckerman M-L, Jolanki R. Occupational contact allergy to monomeric isocyanates. *Contact Dermatitis* 2012; 67: 78-88
- Belloni Fortina A, Piaserico S, Larese F, Recchia GP, Corradin MT, Gennaro F, Carrabba E, Peserico A. Diaminodiphenylmethane (DDM): frequency of sensitization, clinical relevance and concomitant positive reactions. *Contact Dermatitis* 2001; 44: 283-288
- Brasch J, Geier J, Schnuch A, Uter W. A high-positive patch test load correlates with further positive patch test reactions irrespective of their location. *Allergy* 2006; 61: 1411-1415
- Frick-Engfeldt M, Isaksson M, Zimerson E, Bruze M. How to optimize patch testing with diphenylmethane diisocyanate. *Contact Dermatitis* 2007; 57: 138-151
- Geier J. Kontaktallergie gegen Epoxidharze aus der Perspektive des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) und der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG). *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft* 2010; 70: 7-9
- Geier J, Schnuch A. A comparison of contact allergies among construction and non-construction workers attending contact dermatitis clinics in Germany: Results of the Information Network of Departments of Dermatology from november 1989 to july 1993. *American Journal of Contact Dermatitis* 1995; 6: 86-94
- Geier J, Krautheim A, Fuchs Th. Airborne allergic contact dermatitis in a parquet fitter. *Contact Dermatitis* 2012 a; 67: 106-108
- Geier J, Krautheim A, Uter W, Lessmann H, Schnuch A. Occupational contact allergy in the building trade in Germany: influence of preventive measures and changing exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 2011; 84: 403-411
- Geier J, Lessmann H, Hillen U, Jappe U, Dickel H, Koch P, Frosch PJ, Schnuch A, Uter W. An attempt to improve diagnostics of contact allergy due to epoxy resin systems. First results of the multicentre study EPOX 2002. *Contact Dermatitis* 2004; 51: 263-272
- Geier J, Lessmann H, Skudlik C, Ballmer-Weber BK, Weisshaar E, Uter W, Schnuch A. Berufsbedingte Kontaktallergie bei Maurern, Fliesenlegern und Angehörigen verwandter Berufe. Aktuelles Sensibilisierungsspektrum und Entwicklungen der letzten Jahre. *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2012 b; 60 im Druck
- Geier J, Lessmann H, Uter W, Schnuch A. Are concomitant patch test reactions to epoxy resin and BIS-GMA indicative of cross reactivity? *Contact Dermatitis* 2007; 57: 376-380
- Geier J, Uter W, Lessmann H, Schnuch A. The positivity ratio – another parameter to assess the diagnostic quality of a patch test preparation. *Contact Dermatitis* 2003; 48: 280-282
- Geier J, Weisshaar E, Lessmann H, Becker D, Dickel H, Häberle M, John SM, Mahler V, Skudlik C, Wagner E, Wehrmann W, Werfel T, Zagrodnik F, Diepgen TL für die Arbeitsgruppe „Bewertung der Allergene bei BK 5101“ der Arbeitsgemeinschaft für Berufs- und Umweltdermatologie in der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft: Bewertung von Epikutantestreaktionen auf "Problemallergene" mit vermehrt fraglichen oder schwach positiven Reaktionen. *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2010; 58: 34-38



- Geier J, Werfel T, Becker D, Dickel H, Fartasch M, Häberle M, Hillen U, John SM, Mahler V, Skudlik C, Weisshaar E, Zagrodnik F, Diepgen TL für die Arbeitsgruppe „Bewertung der Allergene bei BK 5101“ der Arbeitsgemeinschaft für Berufs- und Umweltdermatologie und der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe in der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. Auswirkungen berufsbedingter Kontaktallergien gegen Methylisothiazolinon (MI), Benzisothiazolinon (BIT) und/oder Octylisothiazolinon (OIT) bei der BK 5101. *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2012 c; 60: 10-17
- Pontén A, Zimerson E, Bruze M. Sensitizing capacity and cross-reactivity of phenyl glycidyl ether. *Contact Dermatitis* 2004; 50: 166
- Pontén A, Zimerson E, Bruze M. Can simultaneous contact allergies to phenyl glycidyl ether and epoxy resins of the bisphenol A/F-types be explained by contamination of the epoxy resins? *Contact Dermatitis* 2008; 59: 273-279
- Pontén A, Zimerson E, Sörensen Ö, Bruze M. Sensitizing capacity and cross-reaction pattern of the isomers of diglycidyl ether of bisphenol F in the guinea pig. *Contact Dermatitis* 2002; 47: 293-298
- Schnuch A, Aberer W, Agathos M, Becker D, Brasch J, Elsner P, Frosch PJ, Fuchs Th, Geier J, Hillen U, Löffler H, Mahler V, Richter G, Szliska C für die Deutsche Kontaktallergie-Gruppe. Durchführung des Epikutantests mit Kontaktallergenen. Leitlinien der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft (DDG) und der Deutschen Gesellschaft für Allergie und klinische Immunologie (DGAKI). *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2008 a; 6: 770-775
- Schnuch A, Brasch J, Uter W. Polysensitization and increased susceptibility in contact allergy: a review. *Allergy* 2008 c; 63: 156-167
- Schnuch A, Geier J, Lessmann H, Arnold R, Uter W. Surveillance of contact allergies: methods and results of the Information Network of Departments of Dermatology (IVDK). *Allergy* 2012; 67: 847-857
- Schnuch A, Geier J, Uter W, Frosch PJ et al. National rates and regional differences in sensitization to allergens of the standard series. Population-adjusted frequencies of sensitization (PAFS) in 40,000 patients from a multicenter study (IVDK). *Contact Dermatitis* 1997; 37: 200-209
- Schnuch A, Mildau G, Kratz E-M, Uter W. Risk of sensitization to preservatives estimated on the basis of patch test data and exposure, according to a sample of 3541 leave-on products. *Contact Dermatitis* 2011; 65: 167-174
- Schnuch A, Uter W, Geier J, Lessmann H, Hillen U. Kontaktallergien gegen Dispersionsfarben. Epidemiologische Überwachung durch den IVDK, Intervention des Umweltbundesamtes und erfolgreiche Primärprävention. *Allergo Journal* 2002; 11: 39-47
- Schnuch A, Uter W, Lessmann H, Arnold R, Geier J. Klinische Epidemiologie der Kontaktallergien. Das Register und das Überwachungssystem des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK). *Allergo Journal* 2008 b; 17: 611-624
- Uter W, Lessmann H, Geier J, Becker D, Fuchs Th, Richter G. The spectrum of allergic (cross-)sensitivity in clinical patch testing with 'para amino' compounds. *Allergy* 2002; 57: 319-322
- Uter W, Mackiewicz M, Schnuch A, Geier J. Interne Qualitätssicherung von Epikutantest-Daten des multizentrischen Projektes „Informationsverbund Dermatologischer Kliniken“ (IVDK). *Dermatologie in Beruf und Umwelt* 2005; 53: 107-114
- Uter W, Rühl R, Pfahlberg A, Geier J, Schnuch A, Gefeller O. Contact allergy in construction workers: results of a multifactorial analysis. *Ann. Occup. Hyg.* 2004; 48: 21-27

Forschungsvorhaben

## **Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke**

gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen  
Unfallversicherung (DGUV)

Kennziffer FP-0324

### **Teilprojekt 5.3**

#### **Bewertung**

Dezember 2012

Endbericht

Bearbeitung:

Dr. Karin Heine, Dr. Fritz Kalberlah, Dr. Martin Hassauer  
Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG)  
Klarastr. 63, 79106 Freiburg

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Aggregierte Substanzbewertung</b> .....	<b>G 3</b>
1.1	Methodisches Vorgehen der aggregierten Substanzbewertung .....	G 3
1.1.1	Ansatz der Bewertung .....	G 3
1.2	Übersicht der festgelegten Cut-off Werte .....	G 6
1.3	Einzelstoffbewertung – Kategoriezuordnung auf Basis .....	
	vorhandener Daten .....	G 9
1.3.1	EP-Harze .....	G 9
1.3.2	Zusammenfassung und relative Bewertung der Harze .....	G 17
1.3.3	Härter, aromatische Amine .....	G 18
1.3.4	Härter, aliphatische Amine: .....	G 19
1.3.5	Härter, cycloaliphatische Polyamine: .....	G 35
1.3.6	Härter, sonstige .....	G 43
1.3.7	Säureanhydride .....	G 48
1.3.8	tertiäre Amine .....	G 55
1.3.9	Phenole .....	G 55
1.3.10	Zusammenfassung und relative Bewertung Härter .....	G 58
1.3.11	Reaktivverdünner .....	G 62
1.3.12	Zusammenfassung und relative Bewertung Reaktivverdünner ..	G 84
1.4	Diskussion und Schlussfolgerung .....	G 92
1.4.1	Datenlage .....	G 92
1.4.2	Schwächen des Systems .....	G 93
1.4.3	Zusatzbewertung .....	G 94
1.4.4	Bewertung der projektbezogenen in vitro Testung .....	G 95
1.4.5	Unsicherheiten bei der Hersteller-Einstufung .....	G 96
1.4.6	Finale Bewertung durch FoBiG und IVDK (Vergleich) .....	G 97
<b>2</b>	<b>Glossar/Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>G 102</b>
<b>3</b>	<b>Literatur</b> .....	<b>G 103</b>

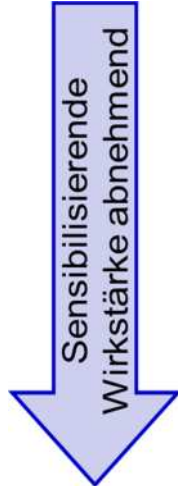
# 1 Aggregierte Substanzbewertung

## 1.1 Methodisches Vorgehen der aggregierten Substanzbewertung

### 1.1.1 Ansatz der Bewertung

Im vorliegenden Projekt sollen die Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen gemäß ihrer sensibilisierenden Wirkstärke eingeordnet werden. Nach Überprüfung der Möglichkeiten einer solchen Gruppierung auf Basis vorhandener Testmethoden wird auf dem momentanen Stand vorgeschlagen, insgesamt drei Kategorien zu bilden (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1. Drei Kategorien zur Einstufung der Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen gemäß ihrer sensibilisierenden Wirkstärke



Kürzel	Kategorie	Definition
SHS	Sehr hohe Sensibilisierungsstärke (S)	Sehr hohe S im Tierversuch und/oder sehr hohe Humanevidenz*
HS (Default)	Hohe Sensibilisierungsstärke	WoE hohe S oder Unbekannt (Defaultvorgehen bei zu wenig Daten)
GMS	Geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke	WoE geringe bis mäßige S und/oder geringe Humanevidenz

\* Unter Humanevidenz wird im vorliegenden Bericht nicht nur der klare Beweis einer Humansensibilisierung verstanden, sondern auch zusätzlich versucht, die quantitative Wirkung eines Inhaltsstoffes einzubeziehen.

S: Sensibilisierungsstärke; WoE: weight of evidence, Ansatz zur gewichteten Bewertung verschiedener Daten

Die Einzelstoffbewertung und Zuordnung zu einer Wirkstärkekategorie basiert im vorliegenden Projekt auf einem Ansatz mit „in Zusammenschau gewichteten wissenschaftlichen Hinweisen“ (WoE; „weight of evidence“). Wenn vorhanden, werden im vorliegenden Projekt z.B. folgende Daten in Bezug auf deren Einfluss auf die sensibilisierende Wirkstärke bewertet:

- physikalisch chemische Parameter
- toxikokinetische Daten (v.a. die dermale Absorption)
- Hinweise aus Humanbefunden (Epidemiologie, Testungen, Fallberichte und „industrial hygiene studies and data on exposure and health effects“)
- toxikologische Ergebnisse aus mechanistischen Studien (*in vivo* und *in vitro*), sowie
- Ergebnisse computer-basierter Systeme, inklusive prädiktive Algorithmen (z.B. QSAR) und mathematische Modelle, die ausgewählte Prozesse (z.B. Hautdurchdringung) auf Basis analytischer oder numerischer Modelle beschreiben.

Die Einordnung der Daten folgt dabei einem stufenweisen Vorgehen. Es werden die Teilschritte A bis D durchlaufen, wie sie in Abbildung 1 dargestellt sind.

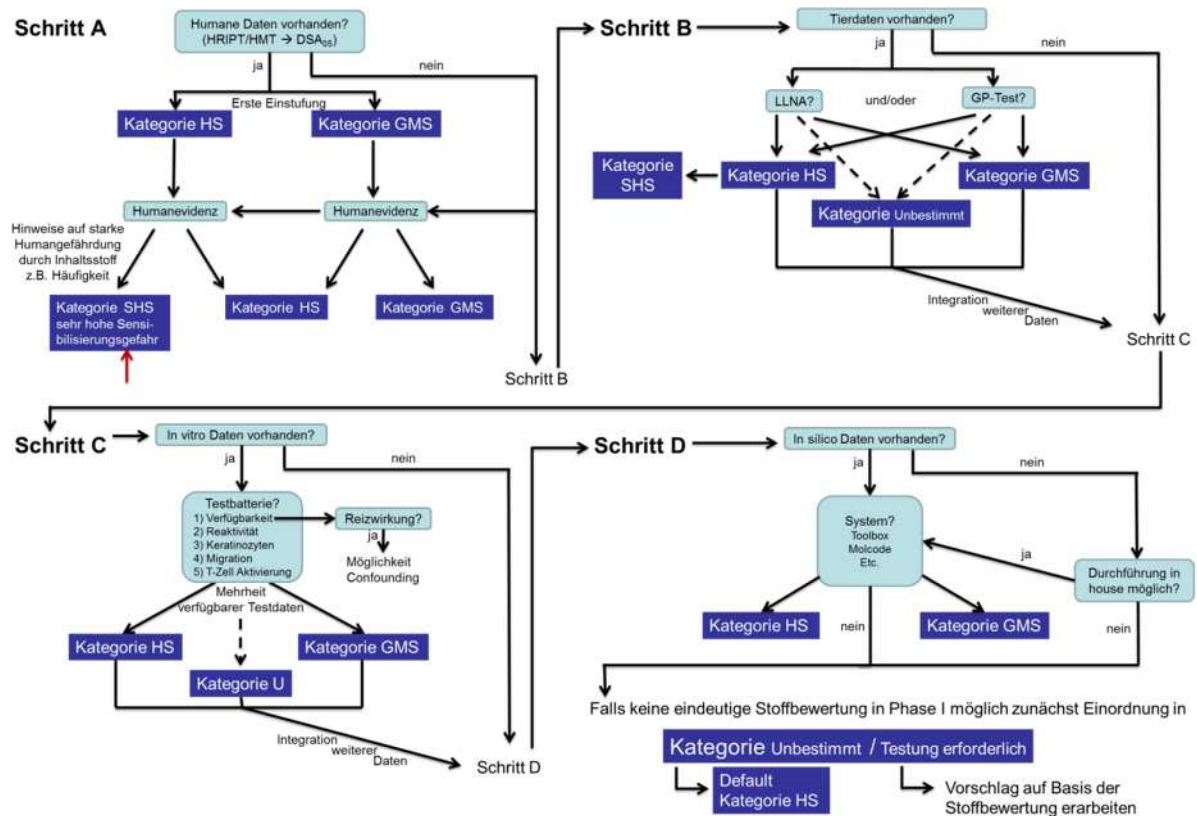


Abbildung 1. Stufenweise Gesamtbewertung der sensibilisierenden Wirkstärke einer Substanz

In einem ersten Schritt wird dabei die sensibilisierende Wirkstärke auf Basis vorhandener Humandaten eingeschätzt (**Schritt A**). Dem Hinweis auf eine starke Humangefährdung durch einen bestimmten Inhaltsstoff wird dabei besondere hohe Bedeutung zugemessen. Allerdings ist nur sehr selten mit adäquaten Daten beim Menschen zu rechnen, die die Wirkstärke betreffen. Bei Schritt A soll nicht nur die tatsächliche Wirkstärke des Inhaltsstoffes einfließen, sondern beispielsweise auch eine Häufung der auf diesen Inhaltsstoff zurückzuführenden Kontakthyper-sensibilisierungen. Eine Schwierigkeit stellt dabei die Gewichtung der Häufigkeit des Auftretens von Sensibilisierungen durch Epoxidharzinhaltsstoffe dar. So kann beispielsweise auch ein schwaches Allergen bei häufiger Verwendung relevant erscheinen.

Fehlt eine klare Beurteilung nach der Betrachtung der verfügbaren Humandaten, so schließt sich die Beurteilung von Daten aus dem Tierversuch zum Inhaltsstoff an (**Schritt B**). Hier wird neben den bekannten drei Wirkstärkekategorien eine vierte Kategorie eingefügt. Eine Substanz wird dieser Kategorie „Unbestimmt/Default“ zugeordnet, wenn die vorhandenen Tierdaten keine eindeutige Zuordnung zur Kategorie HS oder GMS zulassen, d.h. diesbezüglich widersprüchlich sind. Die

Kategorie SHS kann prinzipiell nur erreicht werden, wenn alle Daten in die Richtung einer sehr hohen Sensibilisierungsstärke zeigen.

Nachfolgend werden Hinweise aus *in vitro* Studien zum jeweiligen Inhaltsstoff beurteilt (**Schritt C**). Hier wird neben dem jeweiligen Testergebnis ebenso Wert auf die Vollständigkeit einer bestimmten Testbatterie gelegt (siehe Abbildung 2). Diese Kombination von Studien prüft die wichtigsten mechanistischen Stufen einer Hypersensibilisierungsreaktion ab. Die Bewertung nur eines Keratinozytenassays beispielsweise kann nicht aussagekräftig sein, ohne die Bioverfügbarkeit der Testsubstanz miteinzubeziehen. Die Bewertung von *in vitro* Daten wird durch Vergleich mit Cut-off Werten durchgeführt. Sofern (noch) keine Cut-off Werte vorliegen, wird dennoch versucht, zumindest die Aussagen von Relativbewertungen (vergleichende Betrachtungen zwischen verwandten Substanzen) für eine Wirkstärkenaussage heranzuziehen. Die Mehrzahl der sich daraus ergebenden Testergebnisse, die auch logisch sinnvoll miteinander korrelieren, entscheidet über die Gruppenzuordnung in diesem Schritt. Die Kategorie SHS kann alleine durch die Bewertung von *in vitro* Daten, wie auch von *in silico* Daten in Schritt D nicht vergeben werden.

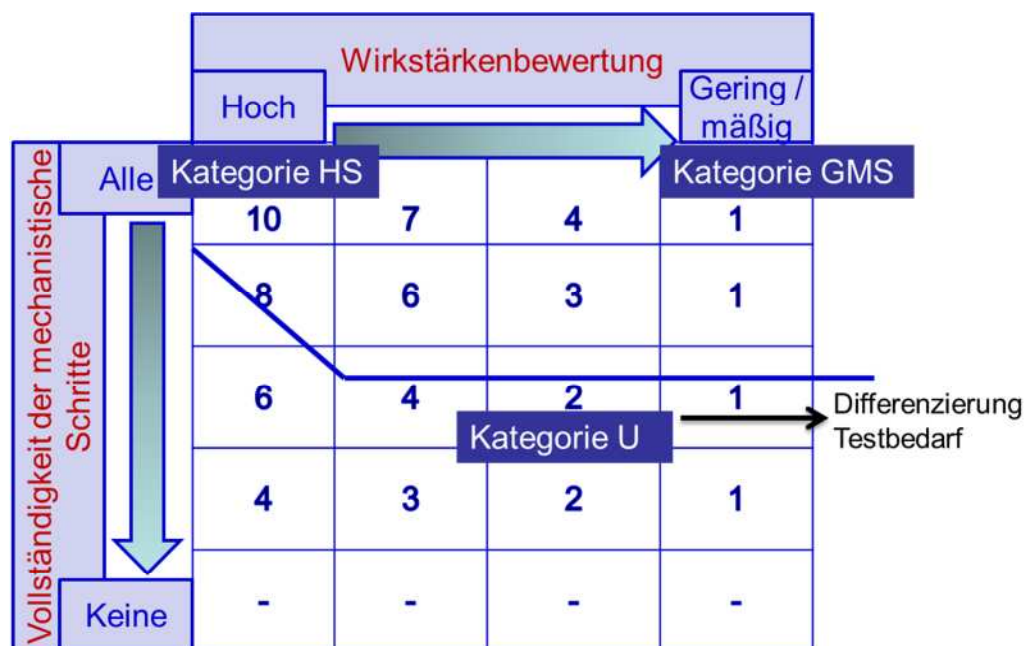


Abbildung 2. Gewichtete *in vitro* Datenbewertung

In **Schritt D** wird das Vorhandensein von *in silico* Daten überprüft. Frei verfügbare Tools wurden dabei auf die Inhaltsstoffe angewandt und die erzielten Ergebnisse dokumentiert. Finden sich Ergebnisse, die eine Zuordnung in die Kategorie HS oder GMS möglich machen, wird dies getan.

Die erzielten Gruppenzuordnungen auf den unterschiedlichen Informationsebenen wird zusammenfassend betrachtet und eine Gesamtzuordnung getroffen (weight of evidence – Betrachtung).

## 1.2 Übersicht der festgelegten Cut-off Werte

Zur besseren Nachvollziehbarkeit der Kategoriezuordnung finden sich in Tabelle 2 die Cut-off Werte für die Testbewertung, welche als Basis für die aggregierte Gesamtbewertung dienen.

Tabelle 2. Cut-off Werte der angewendeten Testsysteme

	Test	Kategorie GMS	Kategorie HS
A	Humanbefunde	Auswertung durch IVDK	
B	Klassischer LLNA	EC3 Wert > 10 %	EC3 Wert ≤ 2 % <sup>1</sup> EC3 Wert > 2 ≤ 10 % <sup>2</sup>
	GPMT <sup>3</sup> (+ andere Adjuvans Tests)	≥ 30% bis < 60% Pos bei id Induktion mit > 0,1% bis ≤ 1% oder ≥ 30% Pos bei id Induktion mit > 1%	≥ 30% Pos bei id Induktion mit ≤ 0,1% oder ≥ 60% Pos bei id Induktion mit > 0,1% bis ≤ 1%
	Buehler Test <sup>3</sup> (+ andere Nicht-Adjuvans Tests)	≥ 15% bis < 60% Pos bei top. Induktion mit > 0,2% bis ≤ 20% oder ≥ 15% Pos bei top. Induktion mit > 20%	≥ 15% positive bei top. Induktion mit ≤ 0,2% oder ≥ 60% positive bei top. Induktion mit > 0,2% bis ≤ 20%
C	Bioverfügbarkeit a) log K <sub>OW</sub> b) K <sub>P</sub> / log K <sub>P</sub> c) 3D Hautmodelle EST-1000™ →	a) Nur qualitativ: gute (log K <sub>OW</sub> von -2 bis 5) vs. weniger gute Bioverfügbarkeit b) Relativer Vergleich kongruenter Inhaltsstoffe möglich; GMS erwartet bei log K <sub>P</sub> -Werten von < -5 c) Noch kein cut-off validiert, aber relativer Vergleich chemisch verwandter Inhaltsstoffe möglich	
	Haptenisierung / DPRA	Peptid-Depletion < 40 %	Peptid-Depletion ≥ 40 %
		Cut-off Einstufung: 6,4 % Peptid-Depletion	
	Keratinozytenreaktion a) NCTC2544 IL-18 Test b) KeratinoSens™ <sup>4</sup>	a) Cut-off noch nicht validiert (1. Abschätzung: IL-18 1,2fach erhöht) b) Cut-off noch nicht validiert; rel. Wirkstärke innerhalb Substanzklassen	a) Cut-off noch nicht validiert (1. Abschätzung: IL-18 1,4fach erhöht) b) Cut-off noch nicht validiert; rel. Wirkstärke innerhalb Substanzklassen

	Test	Kategorie GMS	Kategorie HS
		(Cut-off im Vorläufer-test <sup>5</sup> : EC1,5 $\geq$ 100 $\mu$ M oder I <sub>max</sub> < 3)	(Cut-off im Vorläufer-test: EC1,5<100 $\mu$ M oder I <sub>max</sub> $\geq$ 3)
	Reifung & Migration von DCs		
	a) MUSST	a) Cut-off noch nicht validiert ( für Einstufung H317: CD86 Expression $\geq$ 1,2fach)	a) Cut-off noch nicht validiert
	b) h-CLAT	b) Cut-off noch nicht validiert (für Einstufung H317: CD86 Expression $\geq$ 1,5fach und/ oder CD54 Expression $\geq$ 2fach <sup>6</sup> )	b) Cut-off noch nicht validiert
	c) VITASENS®	c) Kein Cut-off bestimmt (x-fache Induktion der CREM/CCR2 Genexpression bei IC20)	c) Kein Cut-off bestimmt
	d) LCSA	d) Konz. mit halbmaximaler CD86 Expression $\geq$ 50 $\mu$ M	d) Konz. mit halbmaximaler CD86 Expression < 50 $\mu$ M
	T-Zellaktivierung / Proliferation antigenspezifischer T-Zellen CAATC-Assay	Kein Cut-off bestimmt	Kein Cut-off bestimmt
D	QSAR-Toolbox	Zuerst strukturelle und mechanistische Charakterisierung der Substanz und ihrer Metaboliten nötig, anhand dieser Kategoriebildung; bei genügend Substanzen in Kategorie mit experimentellen Daten qualitativer Read-out möglich	
		Standardwert aus Toolbox: -1 oder 1	Standardwert aus Toolbox: 2
	MOLCODE	Potentiell Quantifizierung möglich, jedoch kostenpflichtig	
	TOXTREE (SMARTS)	Mechanismus der Proteinreaktivität ermitteln	
	CAESAR	Anwendbarkeit auf Inhaltsstoffe prüfen, deren Reaktionsmechanismus die Michael Addition ist	

Id.: intradermal; top.: topisch; Konz.: Konzentration; rel.: relativ;

1: Die von ECETOC vorgeschlagenen Grenzen (EC3 < 0,1 % („extreme“) und  $\geq$ 0,1 - <1 % („strong“)) werden jedoch als Anhaltspunkt genommen, um eine Substanz eventuell aus der Gruppe „hohe Sensibilisierungsstärke“



in die Gruppe „sehr hohe Sensibilisierungsstärke umzugruppieren“, wenn zudem weitere Hinweise auf eine sehr hohe Wirkstärke vorliegen.

2: LLNA Ergebnis für 19 Stoffe: 11x  $\leq 2\%$ ; 6x  $>2$  bis  $\leq 10\%$ ; 2x  $>10\%$ ; Viele Substanzen, die stark humansensibilisierend (d.h.  $DSA_{05} \leq 500 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) sind, haben  $EC3 > 2$  bis  $\leq 10\%$  (ICCVAM, 2011).

Auf dieser Basis beruht unser weiteres Vorgehen. Bei **EC3  $\leq 10\%$**  = Kategorie HS, aber mit der Möglichkeit, bei Substanzen mit  $EC3$  zwischen  $>2\%$  und  $10\%$  **und** Hinweisen aus anderen Testsystemen auf geringere Wirkstärke eine Umstufung in die Kategorie GMS vorzunehmen.

3: Bei der zweiten Begleitkreissitzung im April 2012 wurde die Wirkstärkenbewertung anhand von Versuchen an Meerschweinchen von Expertenseite kritisch hinterfragt. Die Wirkstärkenbewertung anhand von diesen Versuchen wäre im originalen Studiendesign nicht vorgesehen gewesen. Die Zuordnung von Wirkstärken wurde erst durch das in Kraft treten von REACH (VERORDNUNG (EG) Nr. 1907/2006) und der harmonisierten Einstufungsverordnung (VERORDNUNG (EG) Nr. 1272/2008) im Nachhinein notwendig. In den Tests anzuwendende Dosis ist die höchstmögliche Dosis, die noch eine leichte, aber nicht zu starke Hautreizung hervorruft. Dementsprechend wird bei nicht reizenden Stoffen eine hohe Dosis gewählt. Man weiß nicht, was bei geringerer Dosis geschieht. Eventuell ergäbe sich daraus eine Einstufung in eine höhere Kategorie in Einzelfällen. Bei der finalen Vergabe der Wirkstärkekategorien wurde in solchen Fällen, in denen auf Basis von Limitierungen durch den Versuchsaufbau die Unsicherheit der möglichen Unterschätzung der Wirkstärke eines Inhaltsstoffes besteht, die Einschätzung eines individuellen Tests als „formal“ gekennzeichnet.

4: Optimierter ARE–Assay  $\rightarrow$  KeratinoSens (Emter et al., 2010)

5: ARE–Assay (Natsch et al., 2009)

6: Andere Beurteilung zur Einstufung: 1,5facher Induktion der Expression von CD86 und/oder CD54 aus Bauch et al., 2011

### 1.3 Einzelstoffbewertung – Kategoriezuordnung auf Basis vorhandener Daten

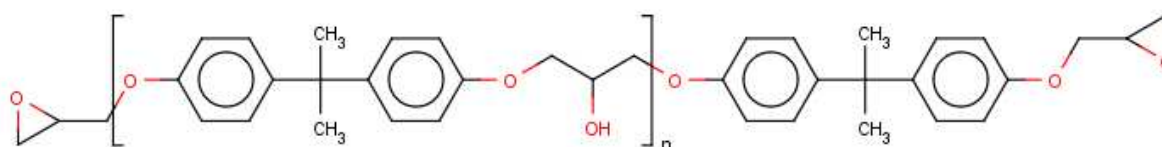
Pro Substanz wird tabellarisch eine kurze Übersicht der jeweiligen Datenlage gegeben. Es findet sich die jeweilige Farbmarkierung im linken oberen Tabellenfeld, wie sie in Teilbericht 5.2 dieses Berichtes beschrieben wurde (Ampelsystem: Rot → Kaum/keine Daten verfügbar; Orange → „unvollständiger Datensatz“, wahrscheinlich keine quantitative Wirkstärkenbewertung durchführbar; Grün → „vollständiger Datensatz“, es wird erwartet, dass eine Wirkstärkenbewertung durchgeführt werden kann).

#### 1.3.1 EP-Harze

##### 1.3.1.1 Bisphenol A-Harze 025068-38-6

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
5. T-Zellreaktion	–	–	
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–

Unten dargestellt ist die Grundstruktur der Bisphenol A-Diglycidylether. Wenn  $n = 0$ , entspricht die Substanz dem DGEBA-Monomer mit einem Molekulargewicht von 340 Da.



Die Humanbefunde zeigen, dass Epoxidharze auf Basis von Bisphenol A-diglycidylether (DGEBA; mit einem Molekulargewicht von unter 900 Da) die häufigsten und wichtigsten Auslöser der Kontaktallergie beim Menschen sind (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). Bisphenol A-Epoxidharze sind sehr weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe und stellen das häufigste Allergen in diesem Bereich dar (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Eine Vielzahl von Tierversuchen belegen die sensibilisierende Eigenschaft der niedermolekularen DGEBA-Harze ebenfalls (Übersicht der Studien und deren Ergebnisse siehe Tabelle 3).

Tabelle 3. *In vivo* Ergebnisse zu Bisphenol A-Harzen

Quelle	Test	Testmaterial	Ergebnis-kategorie	Kommentar
Thorgeirsson und Fregert, 1977	GPMT (A)	Bisphenol A Harze geringes MW ( $\leq 900$ )	GMS	Formale Einordnung* (evtl. Unterschätzung)
Thorgeirsson et al., 1978	GPMT (A)	Bisphenol A Harze (MW 340; DGEBA)	HS	
Thorgeirsson et al., 1978	GPMT (A)	Bisphenol A Harze geringes MW ( $\leq 900$ )	GMS	Formale Einordnung* (evtl. Unterschätzung)
Thorgeirsson et al., 1978	GP-NS (NA)	Bisphenol A Harze (MW 340; DGEBA)	NEG	NS: 2xl, 1xC
Thorgeirsson et al., 1978	GP-NS (NA)	Bisphenol A Harze (MW 340; DGEBA)	GMS	NS: 1xSDS, 1xl, 1xC
Thorgeirsson et al., 1978	GP-NS (A)	Bisphenol A Harze (MW 340; DGEBA)	GMS	NS: 1xl+FCA, 1xC+RC
ESR.012 1978	GPMT (A)	EPIKOTE828	GMS	Formale Einordnung* (evtl. Unterschätzung: 5 % id I $\rightarrow$ >80 % Pos.)
Henck et al., 1980	GP-RIPT (A)	DER 331	GMS	Formale Einordnung* (evtl. Unterschätzung: 10 % id I $\rightarrow$ 90 % Pos.)
ESR.008 1979	GP-NS (NA)	DER 331	HS	NS: 4xl, 1xC
ESR.015 1979	GP-NS (NA)	Destilliertes DER 331	HS	NS: 2xl (id und epikutan), 1xC
ESR.002 zu CAS 68609-97-2	Buehler (NA)	DER 331	HS	
ESR.003 zu CAS 9003-36-5	Buehler (NA)	DER 331	HS	
ESR.005	Buehler (NA)	EPON828	NEG	
Rudzki und Krajewska, 1979	GP-NS (NA)	Epidian5	HS	NS: 34xl, 1xC
Gamer et al., 2008	LLNA	Bisphenol A Harz („technisches Gemisch“)	HS	Basis: EC3 in Aceton (0,1 %; <b>ABER</b> zweiter Test in Aceton und in AOO kein EC3 bestimmbar)
ESR.001 2006	LLNA	DER 331	HS	Basis: EC3 in AOO (5,7 %)
Thorgeirsson und Fregert, 1977	GPMT (A)	Bisphenol A Harze hohes MW ( $> 900$ )	GMS	Gerade noch einzuordnen (bei MW 1280 30 % Pos.; bei MW 1850 negativ)
Thorgeirsson et al., 1978	GPMT (A)	Bisphenol A Harze hohes MW ( $> 900$ )	NEG	
ESR.004 1987	GP-NS (NA)	DER 662	NEG	NS: 4xl, 1xC
Weitere, qualitativ nicht verwertbare Tests (fehlende Angaben). Diese sind alle positiv.				

\* Es handelt sich um eine formale Einordnung in die Kategorie GMS. Diese ist formal richtig, da die im Test verwendete Induktionskonzentration  $> 1$  % liegt und somit zu hoch gewählt wurde, um bei einem entsprechendem Ergebnis eine Einordnung in die Kategorie HS vorzunehmen. Im vorliegenden Fall wurde ein stark positives Ergebnis (ausgelöst durch eine Induktionsdosis  $> 1$  %) formal richtig in die Kategorie GMS eingetragen. Aus Sicht

der Autoren kann es jedoch sein, dass die reale Sensibilisierungsstärke des geprüften Inhaltsstoffes unterschätzt wird.

A: Adjuvans Test; NA: Nicht-Adjuvans Test, GPMT: Guinea Pig maximization test; GMS: geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke; HS: hohe Sensibilisierungsstärke; SHS: sehr hohe Sensibilisierungsstärke; NEG: nicht als sensibilisierend einzustufen; GP: Meerschweinchen; NS: Nicht-Standardtest; I: Induktionsbehandlung, C: Challenge (Auslösebehandlung), RC:-Re-Challenge; SDS: Natriumlaurylsulfat; id: intradermal; Pos.: Tiere mit positiver Hautreaktion; MW: Molekulargewicht

Die Studien wurden vor allem an Meerschweinchen durchgeführt, es liegen zusätzlich Untersuchungen an Mäusen vor. Als Testsubstanz diente in vielen Fällen das kommerzielle Produkt DER 331 (Beschreibung verschiedener Testsubstanzen in Teilprojekt 5.2). Erfolgt eine Einstufung der erzielten Ergebnisse, in die im vorliegenden Projekt definierten Wirkstärkekategorien, wurde meist die Kategorie „hohe Sensibilisierungsstärke“ (HS) vergeben. Ein Ergebnis aus dem LLNA würde sogar in Richtung der Kategorie SHS weisen (formale SHS Prüfung). Die Experimentatoren sagen jedoch, dass das erzielte Ergebnis aus dem LLNA mit Aceton eine Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke darstellen könnte. Unabhängige Wiederholungsversuche (Aceton und Aceton/Olivenöl als Vehikel) liefern kein hinreichend positiven Ergebnisse für eine Einstufung (im Test mit Aceton statistisch signifikanter Unterschied zur Vehikelkontrolle ab einer Prüfkonzentration von 1 %; im Test mit Aceton/Olivenöl konzentrations-abhängiger Anstieg der Stimulationsindices). Eine Einschränkung des Tests mit Aceton/Olivenöl ist die Tatsache, dass der Versuch im selben Konzentrationsbereich wie der Versuch mit Aceton durchgeführt wurde, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Die standardmäßige Testdurchführung würde jedoch die Exposition der maximal möglichen Substanzkonzentration, die keine starke lokale Reizwirkung oder systemische Toxizität auslöst, verlangen. Würde ein Test unter diesen Bedingungen mit AOO als Vehikel durchgeführt, würde die sensibilisierende Wirkung wahrscheinlich erkannt und ein höherer EC<sub>3</sub> Wert bestimmt werden. Diese Vermutung liegt nahe, vergleicht man das Ergebnis eines weiteren LLNAs (EC<sub>3</sub> = 5,7 %). In anderen Fällen erlaubte das Studiendesign (v.a. zu hohe Induktionskonzentrationen) keine Zuordnung in die Wirkstärkekategorie HS. Trotzdem zeigten die fraglichen Studien meist deutlich positive Prüfergebnisse (siehe Tabelle 3, Kommentar „formale Einordnung“). Im Tierversuch wurde zudem erkennbar, dass die sensibilisierende Wirkstärke der DGEBA-Oligomere mit zunehmendem Molekulargewicht abnimmt (Arbeiten von Thorgeirsson und Kollegen, 1977 und 1978). Wenige Studien lieferten negative Ergebnisse. Dies kann wiederum ebenfalls auf dem gewählten Studiendesign oder der Auswahl der Testsubstanz beruhen (z.B. zu geringe Prüfkonzentration (siehe oben) oder nicht standardisiertes Studienprotokoll, Testsubstanz festes Epoxidharz, d.h. MW > 900 Da).

Das erzielte Ergebnis für den log K<sub>OW</sub> aus *in vitro* Experimenten liegt im Rahmen des definierten Bereichs einer guten Bioverfügbarkeit.

Bezüglich der Proteinreaktivität wurde von den *in silico* Anwendungen TOXTREE, dem OECD und dem OASIS Reaktivitätsmodell aus der QSAR Toolbox funktionelle Gruppen innerhalb der DGEBA-Harze gefunden, die auf einen S<sub>N</sub>2 Mechanismus hinweisen.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS.**

**Anmerkung:** Die im Menschen beobachtete immunologische Kreuzreaktion zwischen Bisphenol F-Harzen, sowie Phenylglycidylether konnte im Tierversuch ebenfalls nachgewiesen werden.

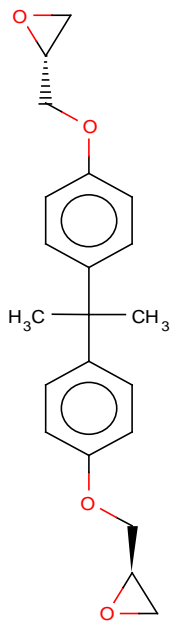
**1.3.1.2 Reaktionsprodukt Bisphenol A Epichlorhydrin 25085-99-8**

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b> 1. Bioverfügbarkeit 2. Haptenisierung 3. Keratinozytenreaktion 4. Migration&Reifung DCs 5. T-Zellreaktion	– – – – –	– – – – –
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–

Das aufgeführte Reaktionsprodukt aus Bisphenol A und Epichlorhydrin entspricht dem unter 1.3.1.1 besprochenen Inhaltsstoff. Die Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke wurde oben vorgestellt.

**1.3.1.3 Bisphenol-A-Epichlorhydrin MW 340 001675-54-3**

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b> 1. Bioverfügbarkeit 2. Haptenisierung 3. Keratinozytenreaktion 4. Migration&Reifung DCs 5. T-Zellreaktion	Ja – Ja – –	Nein (gute Biov.) – Nein (evtl. relativ) – –
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	Ja	Ja (schwach)



Es liegen keine Humandaten für das DGEBA-Monomer vor.

In verschiedenen Tierversuchen ist jedoch die sensibilisierende Wirkung belegt (siehe auch 1.3.1.1; Übersicht der verfügbaren Studien siehe 0). Ähnlich wie bereits für die DGEBA-Oligomere beschrieben, ist die Zuordnung der Wirkstärkekategorie, trotz der deutlich positiven Ergebnisse, oftmals nicht eindeutig. Grund dafür ist das gewählte Studiendesigns der Meerschweinchentests. Auch die Untersuchungen mit Mäusen liefern zunächst widersprüchliche Ergebnisse. Im Standardversuch (Vehikel AOO) deuten die erzielten Ergebnisse gemäß unseren Definitionen auf die Wirkstärkekategorie HS hin. Werden andere Vehikel, wie Aceton oder Dimethylformamid verwendet, wurden negative Studienergebnisse berichtet. Dies kann entweder am gewählten Vehikel oder der zu geringen Prüfkonzentration liegen.

Für die Prüfung unter Schritt C liegen die Werte für den  $\log K_{OW}$  und den  $\log K_P$  vor. Beide Werte befinden sich im Bereich, in dem eine gute Bioverfügbarkeit angenommen wird. Im KeratinoSens™ wurde deutlich, dass der Inhaltsstoff in der Lage ist, eine Keratinozytenreaktion auszulösen. Eine quantitative Auswertung der Ergebnisse in Bezug auf die sensibilisierende Wirkstärke ist nicht möglich, da Bewertungsmaßstäbe für den Test fehlen. Relativ zu dem ebenfalls getesteten DGEBF liegt DGEBA im selben Wirkstärkeniveau (Basis Vergleich der erzielten EC<sub>1,5</sub> Werte). Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Daten aus derselben Studie zu den Reaktivverdünnern PGE bzw. BGE, so findet man, dass die EC<sub>1,5</sub> Werte mindestens 2- bzw. 8-mal so hoch sind (d.h. die Inhaltsstoffe lösen eine weniger starke Keratinozytenreaktion aus).

Auf Basis der Humanbefunde und von *in vivo* Versuchen wurde der Inhaltsstoff im *in silico* System nach Golla als „bedeutendes Allergen“ charakterisiert bzw. als „moderat“ sensibilisierend bezeichnet. Im Screening der Firma MOLCODE wurde DGEBA in die schwächste Wirkstärkenkategorie eingeordnet. In TOXTREE wird für den Inhaltsstoff gefunden, dass er über einen S<sub>N</sub>2 Mechanismus proteinreaktiv wirkt. Dieser Mechanismus wird in der QSAR-Toolbox (OECD und OASIS Modell) bestätigt.

Tabelle 4. *In vivo* Ergebnisse zu DGEBA (Monomer)

Quelle	Test	Testmaterial	Ergebnis-kategorie	Kommentar
Pontén et al., 2002 & 2009	GPMT (A)	DGEBA	GMS	Formale Einordnung* (evtl. Unterschätzung: 5 % id I→75 % Pos.)
ESR.007 zu CAS 25068-38-6	GPMT (A)	DGEBA	GMS	Formale Einordnung* (evtl. Unterschätzung: 5 % id I→100 % Pos.)
ESR.002 zu CAS 25068-38-6	Buehler (NA)	DGEBA	GMS	Formale Einordnung* (evtl. Unterschätzung: 51,4 % I→56 % Pos.)
Warbrick et al., 2001	LLNA	DER 332	HS	Basis: EC3 in AOO (1,5 %)
Gamer et al., 2008	LLNA	DGEBA destilliert	NEG	Vehikel Aceton, max. getestete Konz.: 3 %
ESR.003 zu CAS 25068-38-6	LLNA	DGEBA	NEG	Vehikel DMF, max. getestete Konz.: 0,3 %

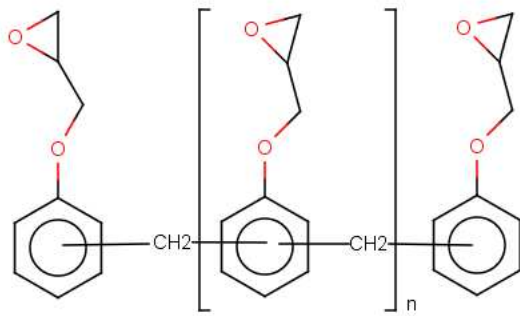
\* Es handelt sich um eine formale Einordnung in die Kategorie GMS. Diese ist formal richtig, da die im Test verwendete Induktionskonzentration >1 % im Adjuvans bzw. > 20 % im Nicht-Adjuvans Test liegt und somit zu hoch gewählt wurde, um bei einem entsprechendem Ergebnis eine Einordnung in die Kategorie HS vorzunehmen. Im vorliegenden Fall wurde ein stark positives Ergebnis, ausgelöst durch eine Induktionsdosis > 1 % bzw. > 20 %, formal richtig in die Kategorie GMS eingetragen. Aus Sicht der Autoren kann es jedoch sein, dass die reale Sensibilisierungsstärke des geprüften Inhaltsstoffes unterschätzt wird.

A: Adjuvans Test; NA: Nicht-Adjuvans Test, GPMT: Guinea Pig maximization test; HS: hohe Sensibilisierungsstärke; GMS: geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke; NEG: nicht als sensibilisierend einzustufen; I: Induktionsbehandlung, id: intradermal; Pos.: Tiere mit positiver Hautreaktion; DMF: Dimethylformamid

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten und der bereits durchgeführten Bewertung der DGEBA-Oligomere erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS.**

#### 1.3.1.4 Bisphenol F-Harze 009003-36-5

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptensierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	-	-
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die Humandaten besagen, dass Epoxidharze aus Basis von DGEBF starke Sensibilisatoren sind. Die Sensibilisierungshäufigkeit ist jedoch etwas geringer als bei DGEBA-Harzen (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). Bisphenol F-Epoxidharze sind sehr weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe und stellt nach DGEBA-Harz das zweithäufigste Allergen dar. Immunologische Kreuzreaktionen mit DGEBA-Harz sind bekannt (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

In Tierversuchen wurden im Handel erhältliche Harze, die ein Reaktionsprodukt aus Bisphenol F und Epichlorhydrin darstellen, geprüft (z.B. DER 354, DEN 438 Novolac, Epikote 155, Epikote 862; eine Übersicht ist in Tabelle 5 gegeben). Die Ergebnisse aus Meerschweinchentests, die mit Adjuvans durchgeführt wurden, erlauben eine Einordnung in die Kategorie HS. Nicht-Adjuvans Tests hingegen weisen auf nur geringe bis mittlere Sensibilisierungsstärke hin. Im LLNA wurde je nach verwendetem Vehikel ein Ergebnis erzielt, das für die Zuordnung des Inhaltsstoffes in die Kategorie HS spricht bzw. ein negatives Ergebnis erzielt (Aceton bzw. AOO; laut Ergebnis mit Aceton wäre sogar eine formale SHS Prüfung notwendig). Die Experimentatoren vermuten, dass das erzielte Ergebnis aus dem LLNA mit Aceton eine Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke darstellen könnte. Sie stützen Ihre Aussage mit Ergebnissen aus vergleichenden Versuchen zum Inhaltsstoff und anderen Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen, die in verschiedenen Vehikeln getestet wurden (siehe 1.3.5.6 und 1.3.11.8).

Tabelle 5. *In vivo* Ergebnisse zu Bisphenol F-Harzen

Quelle	Test	Testmaterial	Ergebniskategorie	Kommentar
ESR.004 1988	GPMT (A)	EPIKOTE862	HS	
ESR.006 1985	GPMT (A)	TK 12225/D (DGEBF-Harz)	HS	
Pontén et al., 2002 & 2009	GPMT (A)	Bisphenol F p,p'- Di-glycidylether (DGEBF)	GMS	Formale Einordnung* (evtl. Unterschätzung: ~5 % id I → 100 % Pos.)
ESR.002 1991	Buehler (NA)	DEN 438 Epoxy Novo-lac Resin	GMS	I: 100 %; 15 % Pos.
ESR.003 1993	Buehler (NA)	DER 354	GMS	I: 100 %; 40 % Pos.
ESR.005 1981	GPMT (A)	EPIKOTE 155	NEG	Vehikel bei I unklar, I.konz. gering (0,05 %)
Gamer et al., 2008	LLNA	Bisphenol F Harz	HS	Basis: EC3 in Aceton (0,7 %; ABER zweiter Test in Aceton und in AOO kein EC3 bestimmbar)



\* Es handelt sich um eine formale Einordnung in die Kategorie GMS. Diese ist formal richtig, da die im Test verwendete Induktionskonzentration > 1 % im Adjuvans Test liegt und somit zu hoch gewählt wurde, um bei einem entsprechendem Ergebnis eine Einordnung in die Kategorie HS vorzunehmen. Im vorliegenden Fall wurde ein stark positives Ergebnis (ausgelöst durch eine Induktionsdosis > 1 %) formal richtig in die Kategorie GMS eingetragen. Aus Sicht der Autoren kann es jedoch sein, dass die reale Sensibilisierungsstärke des geprüften Inhaltsstoffes unterschätzt wird.

A: Adjuvans Test; NA: Nicht-Adjuvans Test, GPMT: Guinea Pig maximization test; GMS: geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke; HS: hohe Sensibilisierungsstärke; NEG: nicht als sensibilisierend einzustufen; I: Induktionsbehandlung, id: intradermal; Pos.: Tiere mit positiver Hautreaktion

Aus dem Registrierungsossier wurde für den log  $K_{OW}$  ein Bereich von  $\geq 2,7$  bis  $\leq 3,6$  entnommen. Die Werte wurden experimentell bestimmt. Das erzielte Ergebnis für den log  $K_{OW}$  aus *in vitro* Experimenten liegt im Rahmen des definierten Bereichs einer guten Bioverfügbarkeit. Im KeratinoSens™ wurde deutlich, dass der Inhaltsstoff (DGEBA-Monomer) in der Lage ist, eine Keratinozytenreaktion auszulösen. Eine quantitative Auswertung der Ergebnisse in Bezug auf die sensibilisierende Wirkstärke ist nicht möglich, da Bewertungsmaßstäbe für den Test fehlen. Relativ zu dem ebenfalls getesteten DGEBA liegt DGEBA im selben Wirkstärkeniveau (Basis Vergleich der erzielten EC1,5 Werte). Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Daten aus derselben Studie zu den Reaktivverdünnern PGE bzw. BGE, so findet man, dass die EC1,5 Werte mindestens 2- bzw. 8-mal so hoch sind (d.h. die Inhaltsstoffe lösen eine weniger starke Keratinozytenreaktion aus).

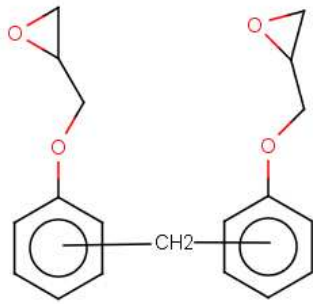
Bezüglich der Proteinreaktivität wurde von den *in silico* Anwendungen TOXTREE, dem OECD und dem OASIS Reaktivitätsmodell aus der QSAR Toolbox funktionelle Gruppen innerhalb der DGEBA-Harze gefunden, die auf einen  $S_N2$  Mechanismus hinweisen.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS.**

**Anmerkung:** Die Arbeiten von Pontén belegen, wie auch schon bei den DGEBA-Harzen, die immunologische Kreuzreaktion zwischen den DGEBA-Harzen und den genannten DGEBA-Harzen, sowie Phenylglycidylether.

**1.3.1.5 Bisphenol-F-Epichlorhydrin 028064-14-4**

→ nur 1 <i>in vivo</i> Test → keine <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 1 Test)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	–	–
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Nein (evtl. relativ)
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	5. T-Zellreaktion	–	–
	Mechanistische Domäne	–	–
	Molcode (LLNA)	–	–



Das vorliegende experimentelle Ergebnis zu DGEBF wurde bereits unter 1.3.1.4 aufgeführt und auch die Wirkstärkenbewertung erfolgt im Abschnitt über Bisphenol F-Harze.

### 1.3.2 Zusammenfassung und relative Bewertung der Harze

Von den ursprünglich 5 zu bewertenden Harzen wurden zwei einzeln aufgeführte Inhaltsstoffe anderen Inhaltsstoffen zugeordnet und gemeinsam mit den verwandten Inhaltsstoffen bewertet. Dies war zum einen das Reaktionsprodukt aus Bisphenol A und Epichlorhydrin (CAS Nr. 25085-99-8). Dies wurde dem Inhaltsstoff Bisphenol A-Harze (CAS Nr. 25068-38-6) zugeordnet, da beide CAS Nummern den identischen Stoff beschreiben (siehe auch Erklärung FP-0324, Teilprojekt 5.2 Abschnitt „Reaktionsprodukt Bisphenol A Epichlorhydrin“). Weiterhin wurden Bisphenol F-Harze (CAS Nr. 9003-36-5) und Bisphenol-F-Epichlorhydrin (CAS Nr. 28064-14-4) gemeinsam besprochen.

Die drei zu bewertenden Inhaltsstoffe wurden alle der Kategorie HS zugeordnet. Für die Substanzgruppe der DGEBA- und DGEBF-Harze werden keine weiteren Prüfungen vorgeschlagen. Die von den Harzen ausgehenden Gefahren sind genügend gut untersucht.

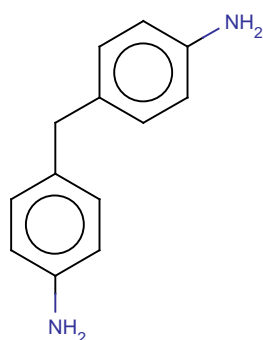
Der Frage, ob DGEBF-Harze eventuell etwas geringer sensibilisierend wirken als die DGEBA-Harze, ist nicht weiter nachzugehen. Ein Ersatz der Inhaltsstoffe (DGEBA gegen DGEBF) durch einen weniger sensibilisierenden scheint ohnehin technisch nicht möglich, da DGEBA und DGEBF-Harze meist in einer Mischung vorliegen. Gründe liegen in der Viskosität von reinem Bisphenol A-Epoxidharz und der Tendenz der reinen Epoxidharze unter den europäischen Klimabedingungen bei Lagerung auszukristallisieren. Gemische kristallisieren nicht (persönliche Kommunikation mit Dr. Karl, MC Bauchemie).

**Anmerkung:** Die Arbeiten von Pontén et al. (2002, 2009) und Thorgeirsson et al. (1978) belegen die immunologische Kreuzreaktion zwischen den DGEBF-Harzen und den genannten DGEBA-Harzen, sowie Phenylglycidylether.

### 1.3.3 Härter, aromatische Amine

#### 1.3.3.1 4,4'-Diaminodiphenylmethan 000101-77-9

→ nur 2 <i>in vivo</i> Tests → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 2 Tests)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Metabolit	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



In Untersuchungen an Patienten wurden die positiven Reaktionen nach Epikutantestung von 4,4'-Diaminodiphenylmethan als „durchweg schwach“ bezeichnet (Geier et al., 2004; siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). 4,4'-Diaminodiphenylmethan wird dennoch als relativ häufiges Allergen bei Epoxidharz-Exponierten und –Allergikern gefunden, obwohl es aufgrund seiner Toxizität (Kanzerogenität) kaum bis gar nicht in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe verbreitet ist (Verbot, Details siehe Anmerkung unten). Immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat oder in para-Stellung disubstituierte aromatische Amine sind berichtet (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Die Ergebnisse aus den Versuchen an Meerschweinchen deuten auf eine sehr geringe sensibilisierende Wirkstärke hin, zumal im GPMT die Einstufungsgrenzen für eine Zuordnung in die Gruppe mit der geringsten Wirkstärke (Kategorie GMS) nicht erreicht werden.

Es liegen nur *in vitro* Ergebnisse zur dermalen Absorption vor. *In vitro* Absorptionsversuche bestätigen die dermale Aufnahme von 4,4'-Diaminodiphenylmethan, zeugen jedoch eher von geringer bis mittlerer Absorption (d.h. Aufnahme einer Substanz in ein biologisches System). Zudem wurde deutlich, dass wesentliche Mengen des Inhaltsstoffes zusätzlich in der Haut verblieben. Der Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ), sowie der Permeabilitätskoeffizient ( $\log K_P$ ) deuten auf eine insgesamt „gute Bioverfügbarkeit“ hin (Definition siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1). Aufgrund der unterschiedlichen Definitionen einer guten bzw. geringen Absorption/Bioverfügbarkeit, wie sie beispielsweise von den Autoren unterschiedlicher Studien bzw. im vorliegenden Projekt auf Basis der Bewertung des  $\log K_{OW}$  und des  $K_P$  vorgenommen wurden, kann es teilweise zu scheinbar widersprüchlichen Einschätzungen der Bioverfügbarkeit kommen. Eine Quantifizierung der Wirkstärke ist anhand aller verfügbaren Daten zur dermalen

Absorption nicht möglich. Im Vergleich mit den anderen Härtern liegen die Werte des log  $K_{OW}$  und des log  $K_P$  jeweils im Mittelfeld.

In TOXTREE wird dem Inhaltsstoff keine Proteinreaktivität vorhergesagt. Die in der QSAR Toolbox implementierten Proteinbindungsmodelle finden, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich bei 4,4'-Diaminodiphenylmethan um ein Pro-Hapten handelt.

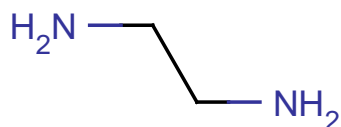
**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie GMS.**

**Anmerkung:** Trotz der eventuellen Unsicherheit der Zuordnung aufgrund nur weniger vorhandener Daten wird von einer Empfehlung für weitere Tests für die Substanz abgesehen, da sie aufgrund ihrer kanzerogenen Wirkung auf der Kandidatenliste der „substances of very high concern“ (SVHC) aufgeführt wird. Die Stoffe dieser Liste gehen schrittweise in den Anhang XIV, dem Verzeichnis der zulassungspflichtigen Stoffe, gemäß der europäischen Chemikaliengesetzgebung über. Eine weitere Verwendung des Inhaltsstoffes ist dann nur mit einer Zulassung möglich (REACH; EC, 2006). Aus diesem Grund wird die Substanz in Zukunft als wenig relevant erachtet.

**1.3.4 Härter, aliphatische Amine:**

**1.3.4.1 Ethylendiamin 000107-15-3**

→ ausreichend Tierdaten → mehrere <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	Ja	Nein
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Ja (ARE)
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Nein
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die vorliegende Literaturstudie zu allergologischen Humanbefunden erlaubt bisher keine Zuordnung zu einer Wirkstärkenkategorie. Es wurde aber deutlich, dass durch die zusätzliche Verwendung von Ethylendiamin (EDA) als Hilfsstoff in Schmierstoffen oder Medikamenten, eine Substanzexposition eher hiervon herrührt als durch Exposition gegenüber Epoxidharzsystemen. Die Verwendung ist in den USA weiter verbreitet als beispielsweise in Deutschland (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Zu Ethylendiamin (EDA; freie Base) sowie Ethylendiamin-dihydrochlorid liegt eine Vielzahl an Versuchen mit Meerschweinchen und Mäusen vor. Diese sind in Tabelle 6 aufgelistet.

Tabelle 6. *In vivo* Ergebnisse zu Ethylendiamin

Quelle	Test	Testmaterial	Ergebniskategorie	Kommentar
Eriksen, 1979	GPMT (A)	EDA	HS	Id I: 0,5 %; V: Wasser; E: 70 % positiv
Thorgeirsson, 1978b	GPMT (A)	EDA	HS	Id I: 0,5 %; V: Wasser; E: 60 % positiv
Goodwin et al., 1981	GPMT (A)	EDA	HS	Id I: 0,3 %; V: physiol. NaCl-Lösung; E: 90 % positiv
Leung und Auletta, 1997	GPMT (A)	EDA	GMS*	Id I: 5 %; V: Dowanol DPM + Tween® 80; E: 45 % positiv
Henck et al., 1980	RIPT Maguire (A)	EDA	GMS*	Id I: 10 %; V: Wasser; E: 100 % positiv
Modjtahedi et al., 2011	GPMT (A)	EDA-dihydrochlorid	NEG	Id I: 25 %; V: nicht bekannt; E: 20 % positiv
Modjtahedi et al., 2011	Buehler (NA)	EDA-dihydrochlorid	NEG	I: 30 %; V: nicht bekannt; E: 6 % positiv
Modjtahedi et al., 2011	GP-NS (NA)	EDA-dihydrochlorid	GMS	I: 3 %; V: nicht bekannt; E: 27 % positiv
Kimber et al., 1998	LLNA	EDA-dihydrochlorid	NEG	V: Aceton/Wasser (3:1); EC3 > 2,5 %**
Kimber et al., 1998	LLNA	EDA-dihydrochlorid	NEG	V: Aceton/Olivenöl (4:1); EC3 > 2,5 %**
Kimber et al., 1998	LLNA	EDA	NEG	V: Aceton/Wasser (3:1); EC3 > 2,5 %**
Kimber et al., 1998	LLNA	EDA	HS	V: Aceton/Olivenöl (4:1); EC3 = 2,2 %
Cornacoff et al., 1988	M-NS	EDA	NEG***	Id I: 5 %; V: Aceton

\* Erklärung: Es handelt sich um eine formale Einordnung in die Kategorie GMS. Diese ist formal richtig, da die im Test verwendete Induktionskonzentration > 1 % ist und somit zu hoch gewählt wurde, um bei einem entsprechendem Ergebnis eine Einordnung in die Kategorie HS vorzunehmen. Im vorliegenden Fall wurde ein stark positives Ergebnis, ausgelöst durch eine Induktionsdosis > 1 %, formal richtig in die Kategorie GMS eingetragen. Aus Sicht der Autoren kann es jedoch sein, dass die reale Sensibilisierungsstärke des geprüften Inhaltsstoffes unterschätzt wird.

\*\* Wert entspricht der maximal getesteten Konzentration.

\*\*\*Quantitativ nicht auswertbar, da keine Cut-off Werte für den durchgeführten Test erhältlich sind.

A: Adjuvans Test; NA: Nicht-Adjuvans Test, GPMT: Guinea Pig maximization test; RIPT: Repeated Insult Patch Test; EDA: Ethylendiamin; GMS: geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke; HS: hohe Sensibilisierungsstärke; NEG: nicht sensibilisierend; GP: Meerschweinchen; M: Maus; NS: Nicht-Standardtest; I: Induktionsbehandlung, id: intradermal; V: Vehikel, E: Ergebnis

Die Ergebnisse aus drei GMP Tests weisen auf eine Zuordnung in die Kategorie „hohe Sensibilisierungsstärke“ (HS) hin. In einem Fall erfolgte aus formalen Gründen eine Einordnung der erzielten Ergebnisse eines GPM Tests in die Kategorie GMS.

Die Einstufung beruht auf dem gewählten Studiendesign. Durch die Verwendung einer intradermalen Induktionsdosis von > 1 % kann formal keine Einstufung in die Kategorie HS erfolgen. Im Test zeigten 45 % der verwendeten Tiere eine positive Hautreaktion. Und auch die Ergebnisse eines weiteren Adjuvans Tests (RIPT nach Maguire) ließen aufgrund des Studiendesigns (intradermale Induktion mit 10 %EDA) nur eine Einstufung in die Kategorie GMS zu, obwohl 100 % der Tiere als positiv bewertet wurden.

Wurde als Testmaterial jedoch das Salz verwendet, so zeigte sich durchweg eine geringere Anzahl an positiven Tieren in den verschiedenen Versuchen (GPMT, Buehler, LLNA etc.). Dies führte entweder nur zu einer Einstufung in die Kategorie GMS oder sogar zu einer negativen Testbewertung. Der Effekt lässt sich sehr wahrscheinlich durch die fehlende Umsetzung des EDA-dihydrochlorid in die reaktiven EDA-Metabolite erklären. EDA ist ein bekanntes Pro-Hapten (Kimber et al., 1998), d.h. um sensibilisierend wirken zu können, bedarf es einer enzymatischen Umsetzung des aliphatischen Amins zu dessen reaktiven Metaboliten. Diese Umsetzung wird durch die Monoaminoxidasen katalysiert (oxidative Desaminierung; Griem et al., 2002). Das Enzym kann gut auf die freie Base (d.h. EDA) zugreifen, während es beim Salz sehr wahrscheinlich zu einer verringerten Umsetzung kommt. Folglich liegt weniger proteinreaktiver Metabolit vor und dementsprechend fällt die Sensibilisierungsreaktion geringer aus.

Im LLNA mit EDA im Standardvehikel (AOO) zeigte sich wiederum ein stark positives Testergebnis. Im Gegensatz dazu wurde bei Tieren, die maximal mit einer Konzentration von 2,5 % EDA in Aceton/Wasserbehandelt keine Steigerung der Lymphozytenproliferation beobachtet (d.h. EC3 > 2,5 %). Das Studienergebnis wurde in Tabelle 6 zunächst als negatives Ergebnis festgehalten, ist jedoch nicht aussagekräftig, da kein EC3 Wert bestimmt wurde und auch die getroffene Einordnung durch das Studiendesign bestimmt ist.

Für EDA liegen fast alle Schritte der geforderten *in vitro* Testbatterie vor. Auf Basis der Informationen zum Verteilungskoeffizient ( $\log K_{OW}$ ), sowie zum Permeabilitätskoeffizient ( $K_P$ ) wird für den Inhaltsstoff eine noch gute, jedoch grenzwertige Bioverfügbarkeit vorhergesagt (während die  $\log K_{OW}$  Daten bereits den Grenzwert für die geringe Bioverfügbarkeit (Bereich -2 bis 5; Wert: -2,04) überschreiten, liegen sie im Fall vom  $\log K_P$  mit -4,53 noch deutlich im Bereich der „guten Bioverfügbarkeit“). Im Vergleich zu den anderen Härtern liegen beide Werte am unteren Ende der Skala.

Bei Prüfung der Proteinreaktivität im DPRA (drei unabhängige Testungen Cystein- und/oder Lysin-haltiges Substrat; einmal mit anschließender LC-MS Analyse) wurde für EDA eine geringe Aktivität gemessen (Peptidrückgang > 6,4 % bis maximal 15 %) und es konnte kein Metabolit nachgewiesen werden. Diese eher geringe Reaktivität wird von den Autoren einer der Studien darauf zurückgeführt, dass im *in chemico* Test keine metabolische Aktivierung stattfindet (Emter et al., 2010). Aus den erzielten Zahlenwerten ergäbe sich zunächst eine Einordnung in die Kategorie GMS.

Die Keratinozytenreaktion wurde in drei unterschiedlichen Laboratorien und Tests untersucht. Im ursprünglichen ARE-Luciferasetest erzielte der Inhaltsstoff nur eine Einstufung in die Kategorie GMS ( $I_{max} < 3$ ;  $EC_{1,5} > 1000 \mu M$ ). Weiterhin liegen die Ergebnisse aus zwei KeratinoSens™ Versuchen vor. Hier kann keine quantitative

Auswertung erfolgen, da validierte Cut-Off Werte zur Wirkstärkenbewertung des neu entwickelten Tests fehlen (erzieltes Ergebnis Test 1: EC<sub>1,5</sub> = 549 µM; Test 2: EC<sub>1,5</sub> = 99,9 µM). Eine Übertragung der Cut-off Werte des Vorgängertests ist nicht zulässig. Die Unterschiede vom ARE-Test zum KeratinoSens™ lassen sich auf Basis der unterschiedlichen Zellhintergründe erklären. Die metabolische Kapazität der humanen Keratinozyten scheint demnach für Amine, wie EDA, besser geeignet zu sein als die ursprünglich verwendete humane Brustkrebszelllinie (Emter et al., 2010). Die Studienautoren folgern bezüglich der Wirkstärke von Ethylendiamin weiterhin: EDA zeigt eine ähnliche Konzentrations-Wirkungsbeziehung, wie das wahrscheinlich entstehende Glyoxal. Ethylendiamin (als starkes Allergen) würde wahrscheinlich im KeratinoSens™ Assay allein unterschätzt, da nicht allein die Aktivierung des Signalweges zur Wirkstärke beiträgt, sondern eventuell auch dessen potentielle Eigenschaft Proteine mit einander zu vernetzen („cross-linking“). Dies stellt laut Enoch et al. (2009; zitiert aus Emter et al., 2010) ein wesentliches Charakteristikum starker Allergene dar.

In verschiedenen Tests wurde die Reifung dendritischen Zellen untersucht. Sowohl im MUSST (humanen Monozyten U937), als auch im h-CLAT (THP-1) wurde der Inhaltsstoff von den Studienautoren als sensibilisierend eingestuft (Einstufung MUSST: CD86 Expression ≥ 1,2fach; h-CLAT: 1,5facher Induktion der Expression von CD86; wobei die Versuchsdurchführung leicht von der Originaltestbeschreibung abwich). Die Testentwickler h-CLAT unterzogen EDA ebenfalls einer Prüfung. Eine 1,5fache Induktion von CD86 war bereits ab einer Substanzkonzentration von ~142 µg/ml zu sehen. Eine mindestens zweifach Induktion der Expression von CD54 war jedoch hier und auch im späteren Ringversuch nie zu beobachten. Eine quantitative Aussage bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke ist nicht möglich, da keine validen Cut-Off Werte bestehen, um eine Einteilung in unterschiedliche Wirkstärkekategorien vorzunehmen.

Es liegen verschiedene *in silico* Befunde für EDA vor. Aus einer Sekundärquelle wurde entnommen, dass EDA von TIMES-SS als hautsensibilisierend eingestuft wird. Eine Wirkstärkenbeurteilung ist jedoch nicht durchführbar. Ebenfalls sekundär zitiert sind Ergebnisse aus TOPKAT, DEREK und einer logistischen Regressionsanalyse. Letztere weist auf ein stark positives Ergebnis im GPM Test hin, jedoch auf ein negatives Ergebnis im LLNA. DEREK bezeichnet ein positives Ergebnis im GPMT als „certain“ und auch im LLNA zumindest als „probable“ (das ist die zweit höchste Kategorie von acht möglichen). TOPKAT sagt ein positives Ergebnis im GPMT vorher. Von Golla et al. wurden die vorhandenen LLNA Daten verwendet und EDA zunächst als „moderat“ sensibilisierend eingestuft. Die vorausgesagte Wirkstärkekategorie war „stark“. Die Mehrzahl der *in silico* Systeme bezeichnet EDA als mindestens moderat bis stark sensibilisierend. In TOXTREE wird dem Inhaltsstoff die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die QSAR Toolbox findet, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und somit wurde die oben mehrfach erwähnte Tatsache, dass es sich bei EDA um ein Pro-Hapten handelt, bestätigt.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS.**

**Anmerkung:** Eine Kreuzreaktivität zwischen Ethylendiamin, Diethylentriamin und/oder Triethylentetramin wird vermutet (siehe z.B. Leung und Auletta, 1997).

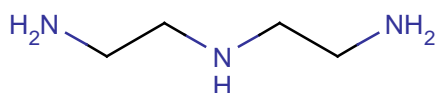
Die hier getroffene Einstufung wird gestützt durch die Einschätzung der amerikanischen Kommission für Produktsicherheit ("US Consumer Product Safety Commission"). Der Inhaltsstoff wird als „stark sensibilisierend“ bezeichnet (ICCVAM, 2011). Die Bewertung beruht auf einer „weight-of-evidence“ Betrachtung, die die Häufigkeit der Exposition, den Schweregrad der Reaktion, sowie die benötigte Dosis, welche für das Auslösen der Reaktion verantwortlich ist, miteinbezieht (USA Federal hazardous substance act 15 U.S.C.1261).

**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R42: Atemwegssensibilisierung).

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratioSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auch Ethylendiamin umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Amine zu gewährleisten.

### 1.3.4.2 Diethylentriamin 000111-40-0

→ ausreichend Tierdaten → <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (Biov. gering)
	2. Haptenisierung	Ja	Nein
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Nein
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Im Human-Maximierungstest wurde Diethylentriamin (DETA) als starkes Allergen bezeichnet. Aufgrund der geringen bis mäßigen Verwendung ist die absolute Zahl der Patienten mit einer Kontaktallergie gegenüber DETA relativ gering (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). DETA ist ein seltenes Allergen unter den Amin-Härtern, hat jedoch eine hohe expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

In Versuchen an Mäusen (zwei LLNA) und Meerschweinchen (ein GPMT) konnte die stark sensibilisierende Wirkung von DETA bestätigt werden. Nur in einem Fall erfolgte aus formalen Gründen eine Einordnung der erzielten Ergebnisse eines GPM Tests in die Kategorie GMS. Die Einstufung beruht auf dem gewählten Studiendesign. Durch die Verwendung einer intradermalen Induktionsdosis von



> 1 % kann formal keine Einstufung in die Kategorie HS erfolgen, obwohl 80 % der Tiere eine positive Hautreaktion zeigten.

Drei der fünf mechanistischen Schritte der *in vitro* Testbatterie wurden für DETA überprüft. Insgesamt wird dem Inhaltsstoff aus *in vitro* Tests eine eher geringe Bioverfügbarkeit vorhergesagt (während die  $\log K_{OW}$  Daten bereits den Grenzwert für die geringe Bioverfügbarkeit (Bereich -2 bis 5; Wert: -2,13) überschreiten, liegen sie im Fall vom  $\log K_P$  mit -4,86 noch knapp im Bereich der „guten Bioverfügbarkeit“). Bei Prüfung der Proteinreaktivität im DPRA mit anschließender LC-MS Analyse wurde für DETA eine geringe Aktivität gemessen und es konnte kein Metabolit nachgewiesen werden. Diese eher geringe Reaktivität wird von den Autoren der Studie darauf zurückgeführt, dass im *in chemico* Test keine metabolische Aktivierung stattfindet (Emter et al., 2010). Aus den erzielten Zahlenwerten ergäbe sich zunächst eine Einordnung in die Kategorie GMS. Im KeratinoSens™ wurde deutlich, dass der Inhaltsstoff in der Lage ist, eine Keratinozytenreaktion auszulösen. Eine quantitative Auswertung der Ergebnisse in Bezug auf die sensibilisierende Wirkstärke ist nicht möglich, da Bewertungsmaßstäbe für den Test fehlen.

Verschiedene *in silico* Systeme beschreiben eine mäßige bis zumeist starke Wirkstärke des Inhaltsstoffes. Und in TOXTREE und der QSAR-Toolbox wird der Verdacht, dass es sich bei DETA um ein Pro-Hapten handelt, bestätigt. Der Inhaltsstoff wird als Pro-Schiffbasenbildner beschrieben.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS. Die Daten deuten tendenziell bei Diethylentriamin auf eine etwas geringere Wirkstärke als die von Ethylendiamin hin, obwohl beide Inhaltsstoffe in die Kategorie HS eingeordnet wurden.**

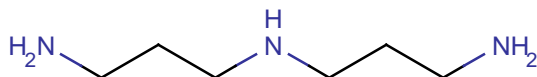
**Anmerkung:** Eine Kreuzreaktivität zwischen Ethylendiamin, Diethylentriamin und/oder Triethylentetramin wird vermutet (siehe z.B. Leung und Auletta, 1997).

Die hier getroffene Einstufung wird gestützt durch die Einschätzung der amerikanischen Kommission für Produktsicherheit ("US Consumer Product Safety Commission"). Der Inhaltsstoff wird als „stark sensibilisierend“ bezeichnet (ICCVAM, 2011). Die Bewertung beruht auf einer „weight-of-evidence“ Betrachtung, die die Häufigkeit der Exposition, den Schweregrad der Reaktion, sowie die benötigte Dosis, welche für das Auslösen der Reaktion verantwortlich ist, miteinbezieht (USA Federal hazardous substance act 15 U.S.C.1261).

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratinoSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auch Diethylentriamin umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Amine zu gewährleisten.

### 1.3.4.3 Dipropylentriamin 000056-18-8

→ nur 2 <i>in vivo</i> Tests → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Wenig	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 2 Tests)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	-	-
	3. Keratinozytenreaktion	-	-
	4. Migration&Reifung DCs	-	-
	5. T-Zellreaktion	-	-
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	-	-



Für den Inhaltsstoff liegen kaum Humanbefunde vor und es kann keine Beurteilung der Sensibilisierungsstärke

durchgeführt werden. Die Verbreitung von Dipropylentriamin scheint relativ gering (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es liegen nur zwei *in vivo* Versuche an Tieren vor. Im Test mit Meerschweinchen erzielt die Substanz eine Einstufung in die Kategorie GMS. Im LLNA hingegen ergibt sich anhand des gefundenen Ergebnisses eine Einstufung in die Kategorie HS. Im Test wurde als Vehikel Aceton verwendet, dadurch kann es eventuell zu einer Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke von Dipropylentriamin kommen (formale SHS Prüfung; Begründung der Autoren siehe auch 1.3.5.6 und 1.3.11.8).

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass für Dipropylentriamin eine noch gute Bioverfügbarkeit vorhergesagt werden kann, die aber im Vergleich mit den anderen Härten eher mittelmäßig erscheint. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

Auf Basis der nicht-vorhandenen Humanbefunde und widersprüchlichen *in vivo* Versuchen wurde der Inhaltsstoff im *in silico* System nach Golla als „unbedeutendes Allergen“ charakterisiert bzw. nur mit einem „Hinweis auf Kontaktallergen“ versehen. In TOXTREE wird für den Inhaltsstoff, genau wie für Ethylendiamin (EDA) und Diethylentriamin (DETA), die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die QSAR-Toolbox findet, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich somit auch im Fall von Dipropylentriamin um ein Pro-Hapten handelt.

**Fazit: Auf Basis der widersprüchlichen Tierdaten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Als Default-Vorgehen wird für den so zu bewertenden Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

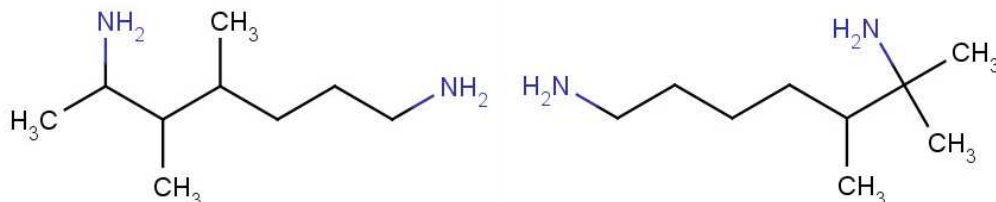
**Testvorschlag:** LLNA nach OECD Richtlinie 429 mit dem Vehikel Aceton/Olivenöl.

In einer *in vitro* Reihentestung sollten die aliphatischen Amine Dipropylentriamin, Triethyltetramin, N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan sowie Tetra- oder Pentaethylenhexamin relativ verglichen werden. Die Inhaltsstoffe Ethylendiamin, Diethylentriamin

und Trimethylhexamethyldiamin sollten ebenfalls in die Reihe eingeschlossen werden, da auf Basis der verfügbaren Wirkstärkenbewertung dieser Inhaltsstoffe auch die Wirkstärke der noch fraglichen Amine besser bewertet werden kann. Es wird empfohlen für die Amine den KeratinoSens™ sowie den h-CLAT durchzuführen. Die Eignung dieser Testsysteme für die Amine wurde bereits bei deren Anwendung auf das Ethylendiamin gezeigt.

#### 1.3.4.4 Trimethylhexamethyldiamin (TMD) 025620-58-0

→ ausreichend <i>in vivo</i> Tests → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	
	Molcode (LLNA)	–	–



Das Isomerengemisch Trimethylhexamethyldiamin (TMD) stellt auf Basis des Vorkommens in den von der GISBAU ausgewerteten Sicherheitsdatenblättern einen häufig eingesetzten Härter dar. Wahrscheinlich aufgrund der erst kurzen Verwendungsdauer, sind Berichte über humansensibilisierende Eigenschaften noch selten. Eine Einschätzung der Wirkstärke kann auf Basis der wenigen Humanbefunde nicht stattfinden (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). Obwohl TMD in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe weit verbreitet ist stellt es ein selteneres Allergen unter den Amin-Härtern dar, daraus lässt sich eine mittlere expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit ableiten (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Zu TMD liegen drei *in vivo* Versuche vor. In zwei Tests mit Meerschweinchen (GPMT, Adjuvans Test) erzielt die Substanz jeweils eine Einordnung in die Kategorie HS. Im LLNA mit Mäusen wurde diese Zuordnung bestätigt. Im letztgenannten Test wurde als Vehikel Aceton verwendet, dadurch kann es eventuell zu einer Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke von TMD kommen (formale SHS Prüfung; Begründung der Autoren siehe auch 1.3.5.6 und 1.3.11.8). Anhand des gefundenen Ergebnisses ergibt sich eine Einstufung in die Kategorie HS.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit, abgeschätzt auf den Informationen zum log  $K_{OW}$  und dem log  $K_P$ , von Trimethylhexamethyldiamin als gut bewertet werden kann. Wir gehen von einer mittelmäßigen Hautdurchlässigkeit aus. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

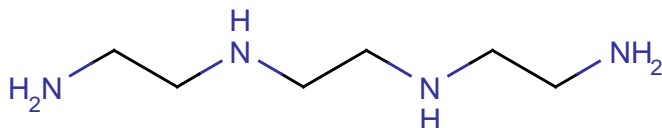
In TOXTREE wird für den Inhaltsstoff, genau wie für Ethylendiamin (EDA) und Diethylentriamin (DETA), die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die QSAR-Toolbox findet, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich somit auch im Fall von Trimethylhexamethyldiamin um ein Pro-Hapten handelt.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS. Diese Einordnung stimmt gut mit der von der herstellenden Industrie mitgeteilten Einstufung gemäß den Anforderungen der Verordnung (EG) 1272/2008 in die Kategorie 1A, überein.**

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratiSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auch TMD umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Amine zu gewährleisten.

#### 1.3.4.5 Triethylentetramin 000112-24-3

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (Biov. gering)
	2. Haptensierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Triethylentetramin (TETA) wird auf Basis des Vorkommens, in den von der GISBAU ausgewerteten Sicherheitsdatenblättern, in etwas weniger Epoxidharzsystemen als

TMD verwendet. Eine quantitative Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke kann auf Basis der vorliegenden Humanbefunde nicht durchgeführt werden (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). Obwohl TETA in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe weit verbreitet ist stellt es ein selteneres Allergen unter den Amin-Härtern dar, daraus lässt sich eine geringe expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit ableiten (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Für TETA liegen hauptsächlich Untersuchungen an Meerschweinchen vor. Dabei kann anhand der Ergebnisse in zwei GPM Tests eine Einstufung in die Kategorie HS vorgenommen werden. Bei zwei weiteren GPMTs erfolgt nur eine Einstufung in die Kategorie GMS. Dies ist auf das gewählte Studiendesign zurückzuführen. Die verwendete intradermale Induktionskonzentration war > 1 % und so kann, trotz stark positiver Testergebnisse, formal keine Einordnung in die Kategorie HS mehr stattfinden. In einem Nicht-Adjuvans Test (nicht standardisiert) erfolgte die Einstufung ebenfalls in die Kategorie HS. Ergebnisse von Tiere, die nach dem Buehler-Protokoll behandelt wurden, deuten auf die Einordnung der Substanz in die Kategorie GMS hin. Aufgrund formaler Kriterien (Studiendesign mit Induktionskonzentration > 20 %) wäre auch hier keine Einstufung in die Kategorie HS mehr möglich, selbst bei der beobachteten Häufung positiver Hautreaktionen (d.h. 95 %). In einem weiteren nicht standardisierten Nicht-Adjuvans Test an Mäusen konnte TETA als Kontaktallergen identifiziert werden. Eine quantitative Auswertung des Versuchs bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke ist aber aufgrund des gewählten Ausleseparameters (Ohrdickenbestimmung) im vorliegenden Projekt nicht durchführbar.

Aus *in vitro* Befunden wird deutlich, dass für TETA von einer geringen Bioverfügbarkeit auszugehen ist (Basis:  $K_{OW} < -2$  und  $\log K_P < -5$ ). Im Vergleich mit den anderen Härtern liegen diese Werte jeweils im letzten Drittel dieser speziellen Komponente. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

Auf Basis der BgVV Datenbank wurde der Inhaltsstoff im *in silico* System nach Golla als „bedeutendes Allergen“ charakterisiert bzw. nur mit einem „Hinweis auf Kontaktallergen“ versehen. In TOXTREE wird für den Inhaltsstoff, genau wie für Ethylendiamin (EDA) und Diethylentriamin (DETA), die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die QSAR-Toolbox findet, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich somit auch im Fall von TETA um ein Pro-Hapten handelt.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS. Die Versuche, in denen nur eine Wirkstärke im Bereich der Kategorie GMS identifiziert wurden, sprechen dieser Einstufung nicht entgegen, da die Möglichkeit einer generell höheren Wirkstärke besteht und eine niedrige Einstufung aus formalen Bedingungen resultierte.**

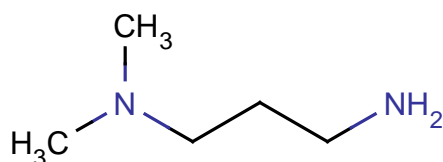
**Anmerkung:** Eine Kreuzreaktivität zwischen Ethylendiamin, Diethylentriamin und/oder Triethylentetramin wird vermutet (siehe z.B. Leung und Auletta, 1997).

**Hinweis:** Die Substanz ist 2013 für die Registrierung innerhalb von REACH vorgesehen. Eventuell sind zusätzliche Informationen aus dem Registrierungsdossier zu erwarten.

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratinoSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auch Triethylentetramin umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Amine zu gewährleisten.

**1.3.4.6 N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan 000109-55-7**

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	Ja	Nein
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Nein
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	Ja	Ja (moderat)



Die wenigen Humandaten lassen eine Einschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke nicht zu (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Untersuchungen an Tieren wurden hauptsächlich an Meerschweinchen, aber auch an Mäusen durchgeführt. In einem GPM Test wurde unter den getesteten Bedingungen (Induktionskonzentration 0,25 %) keine sensibilisierende Wirkung des Inhaltsstoffes gefunden. In einem weiteren GPMT muss allerdings anhand der erzielten Ergebnisse mindestens eine Einstufung in die Kategorie GMS vorgenommen werden (formal; Induktionskonzentration 1-5 %). Allerdings zeigte sich in diesem Versuch, trotz des durchgeführten Vorversuchs, um die maximal nicht reizend wirkende Konzentration zu finden, bei einem der 3 Kontrolltiere eine positive Hautreaktion. In einem Nicht-Adjuvans Test nach Buehler ergibt sich für N,N-Diemthyl-1,3-diaminopropan eine Einstufung in die Kategorie GMS ausgehend von den Ergebnissen der zweiten Auslösebehandlung (Re-Challenge). Der Inhaltsstoff war weiterhin Testmaterial in einer Untersuchung, die den Einfluss des Vehikels auf die im LLNA erzielten Testergebnisse beobachtete. Bei Verwendung der 7 unterschiedlichen Vehikel wurden für die Testsubstanz EC3 Werte zwischen 1,7 bis >10 % ermittelt. In sechs Fällen resultiert daraus eine Einstufung in die Kategorie HS und im Fall von Propylenglykol als Vehikel wird der Inhaltsstoff als zugehörig zur Kategorie GMS beurteilt. Im Standardvehikel Aceton/Olivenöl ergibt sich ein EC3 Wert von 2,2 % und somit eine Einstufung in die Kategorie HS.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass für N,N-Diemthyl-1,3-diaminopropan eine noch gute Bioverfügbarkeit vorhergesagt werden kann, die aber im Vergleich mit den anderen Härten eher mittelmäßig erscheint. Bei Prüfung der Proteinreaktivität im DPRA wurde für den geprüften Inhaltsstoff bei Verwendung von Cystein-haltigem Polypeptid bzw. GSH als Substrat eine geringe Aktivität gemessen (10,2 % bzw. 2,8 % Depletion). Bei Verwendung eines Lysin-haltigen Polypeptids konnte kein Peptidrückgang nachgewiesen werden. Dies zeigt eine gewisse Spezifität bei der Proteinreaktion. Die eher geringe Reaktivität könnte eventuell auf die Tatsache zurückgeführt werden, dass im *in chemico* Test keine metabolische Aktivierung stattfindet und das bekannte Pro-Hapten folglich nicht in vollem Umfang aktiv ist.

Zunächst ergibt sich aus den Ergebnissen eine Einstufung in die Kategorie GMS. Im h-CLAT wurde deutlich, dass der Inhaltsstoff in der Lage ist, die Reifung der untersuchten Monozyten auszulösen. Eine quantitative Auswertung der Ergebnisse in Bezug auf die sensibilisierende Wirkstärke ist nicht möglich. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

Verschiedene *in silico* Systeme beschreiben zumeist eine moderate Wirkstärke des Inhaltsstoffes, so auch im Fall des durchgeführten Screenings der Firma MOLCODE. In TOXTREE und der QSAR-Toolbox wird der Verdacht, dass es sich bei DETA um ein Pro-Hapten handelt, bestätigt. Der Inhaltsstoff wird als Pro-Schiffbasenbildner beschrieben.

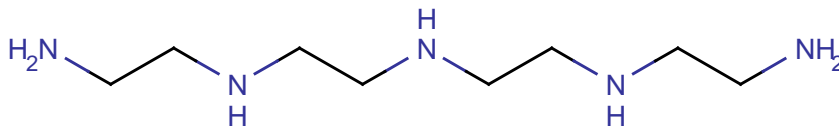
**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Als Default-Vorgehen wird für den so zu bewertenden Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt. Obwohl eine Tendenz in Richtung der Kategorie GMS zu sehen ist, sind die vorhandenen Daten zu widersprüchlich, um eine eindeutige Zuordnung zuzulassen.**

**Anmerkung:** der Inhaltsstoff wird von Experten als moderat humansensibilisierend angesehen (Basketter und Kimber, 2006).

**Testvorschlag:** In einer *in vitro* Reihentestung sollten die aliphatischen Amine Dipropylentriamin, Triethylentetramin, N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan sowie Tetra- oder Pentaethylenhexamin relativ verglichen werden. Die Inhaltsstoffe Ethylendiamin, Diethylentriamin und Trimethylhexamethylendiamin sollten ebenfalls in die Reihe eingeschlossen werden, da auf Basis der verfügbaren Wirkstärkenbewertung dieser Inhaltsstoffe auch die Wirkstärke der noch fraglichen Amine besser bewertet werden kann. Es wird empfohlen für die Amine den KeratinoSens™ sowie den h-CLAT durchzuführen. Die Eignung dieser Testsysteme für die Amine wurde bereits bei deren Anwendung auf das Ethylendiamin gezeigt.

**1.3.4.7 Tetraethylenpentamin 000112-57-2**

→ nur 2 <i>in vivo</i> Tests → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Wenig	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 2 Tests)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (Biov. gering)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die Humandaten lassen eine Einschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke von

Tetraethylenpentamin nicht zu (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es liegen zwei Versuche an Meerschweinchen vor, die widersprüchliche Ergebnisse liefern. Die Ergebnisse aus einem GPMT aus dem Jahre 1978 zielen auf eine Einstufung in die Kategorie HS (73 % Positive bei intradermaler Induktion mit 0,5 %), wohingegen ein GPMT von 1997 keine Einstufung zulässt (5 % Positive bei intradermaler Induktion mit 5 %). Vehikel war in beiden Fällen Wasser.

Insgesamt wird dem Inhaltsstoff aus *in vitro* Tests eine geringe Bioverfügbarkeit vorhergesagt ( $\log K_{OW}$  -3,16;  $\log K_P$  mit -6,12). Diese Annahme wird bestätigt durch die allgemeine Aussage zu primären Aminen, dass deren dermale Absorption mit zunehmender Kettenlänge abnimmt (Greim et al., 1998).

Auf Basis der BgVV Datenbank wurde der Inhaltsstoff im *in silico* System nach Golla als "bedeutendes Allergen" charakterisiert, tatsächlich liegt in der BgVV Datenbank jedoch nur ein „Hinweis auf Kontaktallergen“ vor. *In silico* Ergebnisse liegen auch in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird für den Inhaltsstoff der bekannte Mechanismus der Schiffbasenbildung vorhergesagt. Wohingegen in der QSAR Toolbox keine Reaktivität des Amins gefunden wurde. Es wurde zudem keine Entstehung von reaktiven Metaboliten, wie Sie beispielsweise bei Triethyltetramin beschrieben sind, dokumentiert. Die Umsetzung der aliphatischen Amine zu den proteinreaktiven Aldehyden erfolgt durch oxidative Desaminierung katalysiert durch Monoaminoxidasen (MAO). Die selektive Bindung des Enzyms an das Substrat nimmt mit dessen zunehmender Kettenlänge ab (Greim et al., 1998). Dies ist ein möglicher Grund, warum von der QSAR Toolbox ab dem Tetraethylenpentamin keine Proteinreaktivität mehr vorhergesagt wird.

**Fazit:** Auf Basis der Daten von Leung und Auletta (1997), der Information bezüglich der eher geringen Bioverfügbarkeit und der Tatsache, dass in der QSAR Toolbox keine reaktiven Metabolite des Pro-Haptens ausfindig gemacht werden konnten, liegen für TEPA genügend Hinweise vor, um eine Einordnung in die Kategorie GMS vorzunehmen.

**Anmerkung:** Eine Kreuzreaktivität zwischen Ethylendiamin und Tetraethylenpentamin wird berichtet (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

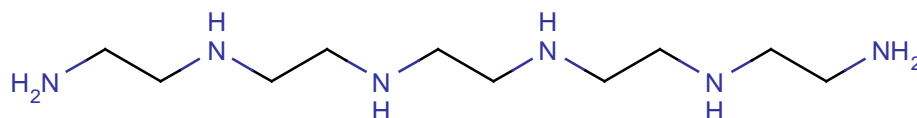
**Hinweis:** Die Substanz ist 2013 für die Registrierung innerhalb von REACH vorgesehen. Eventuell sind zusätzliche Informationen aus dem Registrierungsdossier zu erwarten.

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratinoSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auch Tetraethylenpentamin umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Amine zu gewährleisten.



### 1.3.4.8 Pentaethylenhexamin 004067-16-7

→ nur 1 <i>in vivo</i> Test → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 1 Test)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (Biov. gering)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für das Pentaethylenhexamin liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Die Ergebnisse aus einem Adjuvans Test in Meerschweinchen (GPMT) aus dem Jahr 1997 deuten auf eine Einstufung in die Kategorie GMS (100 % Positive bei intradermaler Induktion mit 5 %). Obwohl also eine stark positive Antwort gesehen wurde, kann aufgrund des gewählten Studiendesigns (Induktionskonzentration > 1 %) formal keine Einstufung in die Kategorie HS getroffen werden. Vehikel war Wasser.

Insgesamt wird dem Inhaltsstoff aus *in vitro* Tests eine geringe Bioverfügbarkeit vorhergesagt (log  $K_{OW}$  -3,67; log  $K_P$  mit -6,74). Diese Annahme wird bestätigt durch die allgemeine Aussage zu primären Aminen, dass deren dermale Absorption mit zunehmender Kettenlänge abnimmt (Greim et al., 1998).

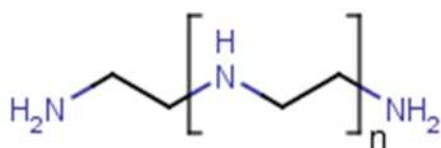
*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird für den Inhaltsstoff der bekannte Mechanismus der Schiffbasenbildung vorhergesagt. Wohingegen in der OECD Toolbox keine Reaktivität des Amins gefunden und zudem keine Entstehung von reaktiven Metaboliten dokumentiert wurde. Die Erklärung dieses „Widerspruchs“ ist das für Tetraethylenpentamin beschriebene Phänomen der abnehmenden Selektivität der MAO bei steigender Kettenlänge der Amine (siehe 1.3.4.7).

**Fazit: Auf Basis der Daten von Leung und Auletta (1997), der Information bezüglich der eher geringen Bioverfügbarkeit und der Tatsache, dass in der QSAR Toolbox keine reaktiven Metabolite des Pro-Haptens ausfindig gemacht werden konnten, liegen für PEHA genügend Hinweise vor, um eine Einordnung in die Kategorie GMS vorzunehmen.**

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratinoSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auch Pentaethylenhexamin umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Amine zu gewährleisten.

### 1.3.4.9 Polyethylenpolyamin 068131-73-7

→ kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Nein	-
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (Biov. gering)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für das Polyethylenpolyamin liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Und auch aus *in vivo* Tierversuchen liegen keine Untersuchungen bezüglich der sensibilisierenden Inhaltsstoffeigenschaften vor. Es gibt jedoch wenig qualifizierte Aussagen über die dermale Absorption bei Kaninchen. Die Studienautoren bezeichnen die dermale Aufnahme als gering.

Die *in vitro* Daten stützen diese Annahme, denn auch für Polyethylenpolyamin wird gemäß dem geschätzten log  $K_{OW}$  (-3,67) und dem log  $K_P$  (-6,74) eine geringe Bioverfügbarkeit erwartet.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird für den Inhaltsstoff der bekannte Mechanismus der Schiffbasenbildung vorhergesagt. Wohingegen in der OECD Toolbox keine Reaktivität des Amins gefunden und zudem keine Entstehung von reaktiven Metaboliten dokumentiert wurde. Die Erklärung dieses „Widerspruchs“ ist das für Tetraethylenpentamin beschriebene Phänomen der abnehmenden Selektivität der MAO bei steigender Kettenlänge der Amine (siehe 1.3.4.7).

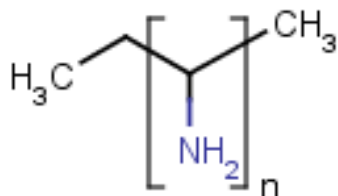
**Fazit:** Auf Basis der wenigen verfügbaren Daten würde eine Zuordnung in die Kategorie U erfolgen. Unter Einbezug der vergleichenden Ergebnisse aus dem Meerschweinchen Maximierungstest von Leung und Auletta (1997) wird deutlich, dass die sensibilisierende Wirkstärke der Amine mit zunehmender Kettenlänge abnimmt. Dies ist zudem mechanistisch erklärbar, denn die Aktivierung der Pro-Haptene durch die Monoaminoxidasen nimmt ebenfalls mit zunehmender Kettenlänge ab. Aus diesen Gründen wird trotz der wenigen

**Daten davon ausgegangen, dass Polyethylenpolyamin nur eine geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke besitzt.**

**Anmerkung:** Die Zuordnung in die Kategorie GMS hat nur Bestand unter der Voraussetzung, dass der Konzentrationswert der Monomere insgesamt die allgemeine Grenze von 0,1 % nicht erreicht bzw. überschreitet. Falls dies doch der Fall sein sollte, ist die Bewertung des Monomers heranzuziehen.

### 1.3.4.10 Polyethylenamin 026336-38-9

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	–	–
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Metabolit	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für das Polyethylenamin liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es wurden ebenfalls keine Tierversuche oder *in vitro* Versuche mit dem Inhaltsstoff Polyethylenamin durchgeführt.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität des Monomers (CAS Nr. 593-67-9) vor. Die gefundene Proteinreaktivität scheint nach Betrachtung des Polymers als unwahrscheinlich für den zu bewertenden Inhaltsstoff, sodass die Ergebnisse nicht herangezogen werden können.

**Fazit:** Auf Basis der wenigen verfügbaren Daten würde eine Zuordnung in die Kategorie U erfolgen. Unter Einbezug der vergleichenden Ergebnisse aus dem Meerschweinchen Maximierungstest von Leung und Auletta (1997) wird deutlich, dass die sensibilisierende Wirkstärke der Amine mit zunehmender Kettenlänge abnimmt. Dies ist zudem mechanistisch erklärbar, denn die Aktivierung der Pro-Haptene durch die Monoaminoxidasen nimmt ebenfalls mit zunehmender Kettenlänge ab. Aus diesen Gründen wird trotz der wenigen Daten davon ausgegangen, dass Polyethylenamin nur eine geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke besitzt.

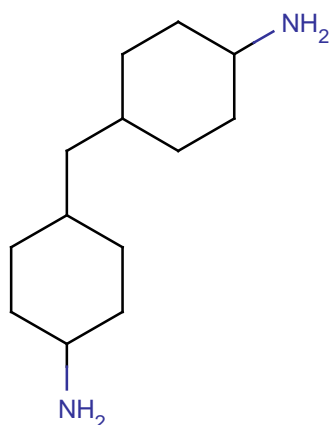
**Anmerkung:** Die Zuordnung in die Kategorie GMS hat nur Bestand unter der Voraussetzung, dass der Konzentrationswert der Monomere insgesamt die

allgemeine Grenze von 0,1 % nicht erreicht bzw. überschreitet. Falls dies doch der Fall sein sollte, ist die Bewertung des Monomers heranzuziehen.

### 1.3.5 Härter, cycloaliphatische Polyamine:

#### 1.3.5.1 4,4'-Diaminocyclohexylmethan 001761-71-3

→ <i>in vivo</i> Tests → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (teilweise)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Ja (gute Blov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	–	–
	Molcode (LLNA)	–	–



Beim Menschen wurden nur vereinzelt Sensibilisierungen gegen 4,4'-Diaminocyclohexylmethan gefunden. Für den Inhaltsstoff liegen aber keine Humanbefunde vor, die eine Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke erlauben (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es liegen drei Versuche an Meerschweinchen vor. Zwei dieser Versuche sind aus Gründen mangelhafter Dokumentation in den Studienberichten bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke von 4,4'-Diaminocyclohexylmethan nicht auswertbar. In einem nicht-standardisierten Meerschweinchentest, bei dem die Tiere entweder topisch oder intradermal gegenüber dem Inhaltsstoff sensibilisiert wurden, zeigten sich Ergebnisse, die eine Einstufung in die Kategorie GMS erlauben. Die als Vehikel verwendete Creme enthielt SDS (keine Konzentrationsangabe).

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit, abgeschätzt auf den Informationen zum log  $K_{OW}$  und dem log  $K_P$ , von 4,4'-Diaminocyclohexylmethan als gut bewertet werden kann. Der log  $K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption (d.h. bei einem log  $K_{OW}$  von 2), der log  $K_P$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Härtern im ersten Drittel. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. Weder in TOXTREE, noch in der OECD Toolbox wird eine Proteinbindung vorhergesagt, und auch die gefundenen Metabolite sind nicht proteinreaktiv.

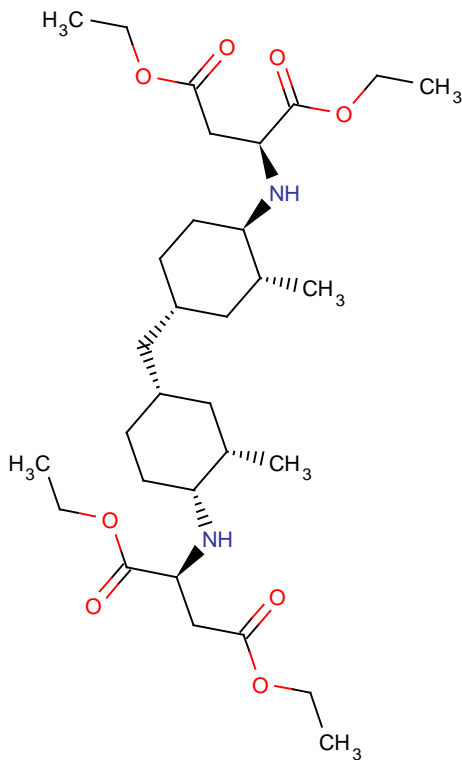
**Fazit:** Auf Basis der wenigen verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Somit wird dem Inhaltsstoff defaultmäßig eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt, obwohl Tendenzen in Richtung GMS zu sehen waren (einerseits wegen des Befunds im Tierversuch und andererseits, weil keine Proteinreaktivität vorhergesagt wird).

**Vorschlag:** Originalstudien, deren Ergebnisse nicht berichtet wurden, sollten ausfindig gemacht werden und bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke ausgewertet werden.

Anmerkung: Mit Hilfe eines Registranten des Inhaltsstoffes unter REACH konnte der fehlende Originalbericht beschafft werden. Der Detaillierungsgrad des Berichts erlaubt es jedoch nicht eindeutige Schlüsse bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke zu ziehen. Die Bewertung bleibt weiterhin unklar.

**1.3.5.2 Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclohexyl)-methane 136210-32-7**

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b> 1. Bioverfügbarkeit 2. Haptenisierung 3. Keratinozytenreaktion 4. Migration&Reifung DCs 5. T-Zellreaktion	Ja – – – –	Nein (Biov. gering) – – – –
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Metabolit	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für den Inhaltsstoff liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es konnten auch keine Daten aus Tierversuchen mit dem Inhaltsstoff gefunden werden.

Ergebnisse für den Inhaltsstoff aus *in vitro* Tests sind widersprüchlich. Ausgehend vom log  $K_{OW}$  Wert mit 5,99 wird eine geringe Bioverfügbarkeit vorhergesagt, würde man jedoch nur den log  $K_P$  Wert mit -2,02 heranziehen, wäre Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methan verglichen mit den anderen Härtern sogar im ersten Drittel der besten Bioverfügbarkeit enthalten.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. Weder in TOXTREE noch in der OECD Toolbox wird eine Proteinbindung vorhergesagt. Jedoch liegen nach Anwendung des Metabolismussimulators Hinweise auf mehrere proteinreaktive Metabolite vor.

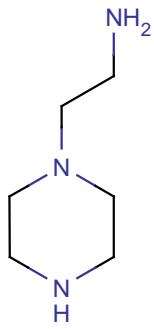
**Fazit: Die Datenlage ist dürftig und auf dieser Basis erfolgte eine Zuordnung in die Kategorie U.**

**Hinweis:** Die Substanz ist 2013 für die Registrierung innerhalb von REACH vorgesehen. Eventuell sind zusätzliche Informationen aus dem Registrierungsdossier zu erwarten.

### 1.3.5.3 N-Aminoethylpiperazin, 2-Piperazin-1-ylamin

000140-31-8

→ nur 2 <i>in vivo</i> Tests → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Wenig	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 2 Tests)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Es liegen kaum allergologische Untersuchungen zu N-Aminoethylpiperazin (AEP) vor. Die Humanbefunde reichen nicht aus, um eine Wirkstärkenbewertung durchzuführen (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es liegen zwei Versuche an Meerschweinchen vor, die widersprüchliche Ergebnisse liefern. Die Ergebnisse aus einem GPMT aus dem Jahre 1978 zielen auf eine Einstufung in die Kategorie HS (100 % Positive bei intradermaler Induktion mit 0,5 %), wohingegen ein GPMT von 1997 zu einer Einstufung in die Kategorie GMS führt (40 % Positive bei intradermaler Induktion mit 5 %, formale Zuordnung). Es ist anzumerken, dass durch das gewählte Studiendesign (Verwendung einer intradermalen Induktionsdosis von > 1 %) formal keine Einstufung in die Kategorie HS erfolgen kann. Vehikel war in beiden Fällen Wasser.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit, abgeschätzt auf den Informationen zum log  $K_{OW}$  und dem log  $K_P$ , von N-Aminoethylpiperazin noch als gut bewertet werden kann. Der log  $K_{OW}$  liegt im Vergleich mit anderen Härtern am unteren Ende der Skala, ebenso wie der log  $K_P$  Wert. Im Vergleich mit den anderen cycloaliphatischen Härtern ist dies in Bezug auf die untersuchten Parameter die schlechteste Bewertung. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

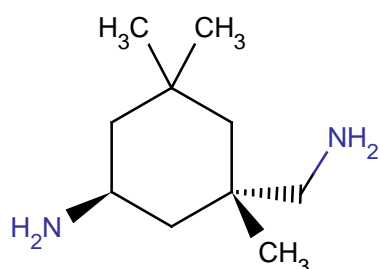
In TOXTREE wird dem Inhaltsstoff, wie z.B. auch Diethylentriamin (DETA), die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die QSAR Toolbox findet, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich somit auch im Fall von N-Aminoethylpiperazin eher um ein Pro-Hapten handelt.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt zunächst eine Zuordnung in die Kategorie U. Als Default-Vorgehen wird für den so zu bewertenden Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratinoSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auf den cycloaliphatischen Härter AEP ausgeweitet werden, um die relative Wirkstärkenbewertung aus Leung und Auletta (1997) zu bestätigen, und um für AEP zu einer endgültigen Bewertung der Wirkstärke zu finden.

### 1.3.5.4 Isophorondiamin (IPD), 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamin 002855-13-2

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
5. T-Zellreaktion	–	–	
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Isophorondiamin (IPD) ist ein relevanter Epoxidharzinhaltsstoff und beim Menschen als wichtiges Allergen bekannt (Geier, 2010). Eine Bewertung der Wirkstärke war durch die Humanbefunde zu IPD nicht möglich (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). IPD ist sehr weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe. Es ist das zweithäufigste Allergen unter den Amin-Härtern, jedoch hat es die niedrigste expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit. Immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen Isophorondiisocyanat sind möglich (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

In Versuchen an Mäusen (ein LLNA) und Meerschweinchen (drei GPMT) konnte die stark sensibilisierende Wirkung von IPD bestätigt werden. Im ersten GPMT, in dem die Tiere zunächst mit 0,5 % IPD in Aceton intradermal behandelt wurden, zeigten am Versuchsende 100 % der Tiere ein positives Testergebnis. Wurde anstatt dessen intradermal 0,1 % IPD in Ethanol injiziert, so konnten je nach weiterer Behandlung zwischen 25 und 90 % positiver Tiere beobachtet werden. Bei Verwendung von Wasser als Vehikel und einer intradermalen Induktion mit 1 % IPD waren 60 % Positive vorhanden. Im LLNA mit Aceton als Vehikel lag der bestimmte EC3 Wert bei 1 %. Die Experimentatoren vermuten, dass das erzielte Ergebnis aus dem LLNA mit Aceton eine Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke von Isophorondiamin darstellen könnte. Sie stützen Ihre Aussage mit Ergebnissen aus vergleichenden Versuchen an anderen Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen, die in verschiedenen Vehikeln getestet wurden (siehe z.B. 1.3.5.6 und 1.3.11.8; (Gamer et al., 2008)). Die Gesamtheit der Ergebnisse erlaubt eine Einstufung in die Kategorie HS. Anhand der Humanerfahrungen und der erzielten Ergebnisse im LLNA wäre formal die Notwendigkeit einer Einstufung in die Kategorie SHS zu prüfen (dies würde aber auf Basis der Verwendung von Aceton als Vehikel im LLNA eine Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke darstellen; formale SHS Prüfung).

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von IPD, abgeschätzt auf den Informationen zum  $\log K_{OW}$  (0,99) und dem  $\log K_P$  (-3,05), als gut bewertet



werden kann. Der  $\log K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption, der  $\log K_P$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Härten im oberen Mittelfeld. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

In TOXTREE wird dem Inhaltsstoff, wie z.B. auch Diethylentriamin (DETA) und N-Aminoethylpiperazin, die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die QSAR Toolbox findet, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich somit auch im Fall von IPD eher um ein Pro-Hapten handelt.

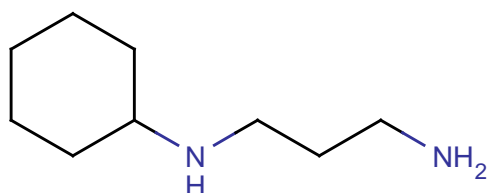
**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS. Diese Einordnung stimmt gut mit der von der herstellenden Industrie mitgeteilten Einstufung gemäß den Anforderungen der Verordnung (EG) 1272/2008 in die Kategorie 1A, überein.**

**Anmerkung:** Innerhalb der zweiten Begleitkreissitzung wurde von Expertenseite auf verschiedene Punkte bei der Bewertung des IPD aufmerksam gemacht. Beim Ranking werden die Harze und Isophorondiamin in dieselbe Kategorie (hohe Sensibilisierungsstärke) eingeordnet. In Bezug auf EPOX 2002 scheint dies zunächst nicht nachvollziehbar. Die Prozent Positiven bei Patchtestung waren hier bei den Harzen 55,2% für DGEBA und 43,7% für DGEBA. Für das IPDA lagen hier nur 5,7% Positive vor (Geier et al., 2004). Es liegt also ein Faktor 7 bis ~10 zwischen den Harzen und dem Härter. Bei der Annahme einer ähnlich weiten Verbreitung müsste sich demnach dieser Unterschied in der Wirkstärkenbetrachtung widerspiegeln. Ein anderer Punkt ist die Tetrafunktionalität des IPD. Der Inhaltsstoff reagiert in Epoxidharzsystemen schneller ab, als das bifunktionelle Harz und deswegen müsste der Faktor Zeit bei der Bewertung mitberücksichtigt werden.

Die Autoren weisen die Kritik unter Anführung folgender Argumente zurück: IPD ist in Epoxidharz-Systemen in wesentlich geringerer Konzentration enthalten als die Harze; daher ist die Exposition quantitativ deutlich geringer, was sich dann auch in geringeren Sensibilisierungsquoten niederschlägt. Außerdem enthält (fast) JEDES Epoxidharz-System DGEBA-Oligomere, aber zumindest im Bau-Bereich nur jedes dritte Produkt auch IPDA (laut SiDaBs von GISBAU). Also ist die Exposition auch unter diesem Aspekt geringer. Unter den HÄRTERN ist IPD aber das zweithäufigste Allergen nach MXDA. Nimmt man an, dass die Exposition besonders beim Anmischen ein Problem ist, dann spielt die kurze Zeit bis zum Abreagieren keine Rolle, denn in dieser Phase besteht auch Hautkontakt mit dem Härter allein, also ohne das Harz. Die Reaktionsfreudigkeit und die irritierende Wirkung des IPD fördern in dieser Situation eher die Sensibilisierungsfähigkeit.

### 1.3.5.5 3-Cyclohexylaminopropylamin 003312-60-5

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für den Inhaltsstoff liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es konnten auch keine Daten aus Tierversuchen mit dem Inhaltsstoff gefunden werden.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von 3-Cyclohexylaminopropylamin, abgeschätzt auf den Informationen zum  $\log K_{OW}$  (1,6) und dem  $\log K_P$  (-2,53), als gut bewertet werden kann. Der  $\log K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption, der  $\log K_P$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Härten im oberen Mittelfeld. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

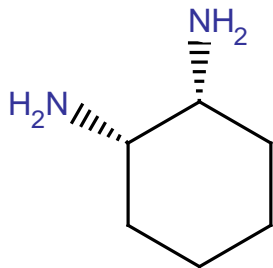
In TOXTREE wird dem Inhaltsstoff, wie z.B. auch Diethylentriamin (DETA) und N-Aminoethylpiperazin, die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die QSAR Toolbox findet, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich somit auch im Fall von 3-Cyclohexylaminopropylamin eher um ein Pro-Hapten handelt.

**Fazit: Auf Basis der dürftigen Datenverfügbarkeit erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U.**

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratiSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auf 3-Cyclohexylaminopropylamin ausgeweitet werden, um den relativen Vergleich zu dem cycloaliphatischen Härter AEP herstellen zu können und auf Basis dieses Vergleichs möglicherweise zu einer endgültigen Wirkstärkenbewertung zu gelangen.

### 1.3.5.6 1,2-Diaminocyclohexan (DCH) 000694-83-7

→ nur 2 <i>in vivo</i> Test → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Wenig	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 2 Tests)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Metabolit	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für den Inhaltsstoff liegen keine Humanbefunde vor, die eine Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke erlauben (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Die aus Tierversuchen gewonnenen Ergebnisse sind teilweise widersprüchlich. In einem nicht-standardisierten Nicht-Adjuvans Test wurden Meerschweinchen epikutan und anschließend intradermal sensibilisiert. Bei der ersten Ablesung kam es auch bei den Kontrolltieren zu Hautreizungen, sodass die Bewertung einer allergischen Hautreaktion erst nach einer wiederholten Hautbehandlung stattfand. Hier zeigten sich Befunde, die eine Zuordnung zur Kategorie HS zulassen. Im LLNA (Vehikel: Aceton) wurde dies Einordnung zunächst bestätigt. Die Experimentatoren vermuten jedoch, dass das erzielte Ergebnis aus dem LLNA mit Aceton eine Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke darstellt (formale SHS Prüfung). In einem unabhängigen Wiederholungsversuch und in einem weiteren Test mit dem Standardvehikel Aceton/ Olivenöl konnte die hohe Sensibilisierungsstärke nicht bestätigt werden. Eine Einschränkung des Tests mit Aceton/Olivenöl ist die Tatsache, dass der Versuch im selben Konzentrationsbereich wie der Versuch mit Aceton durchgeführt wurde, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Die standardmäßige Testdurchführung würde jedoch die Exposition der maximal möglichen Substanzkonzentration, die keine starke lokale Reizwirkung oder systemische Toxizität auslöst, verlangen. Würde ein Test unter diesen Bedingungen mit AOO als Vehikel durchgeführt, würde die sensibilisierende Wirkung von DCH mit erkannt und möglicherweise ein höherer EC3 Wert bestimmt werden (Gamer et al., 2008).

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von DCH, abgeschätzt auf den Informationen zum  $\log K_{OW}$  (0,09) und dem  $\log K_P$  (-3,35), als gut bewertet werden kann. Der  $\log K_{OW}$ , sowie der  $\log K_P$  sind verglichen mit den anderen Härten mittelmäßig. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. Weder in TOXTREE, noch in der OECD Toolbox wird eine Proteinbindung vorhergesagt.

Jedoch liegen nach Anwendung des Metabolismussimulators Hinweise auf zwei proteinreaktive Metabolite vor.

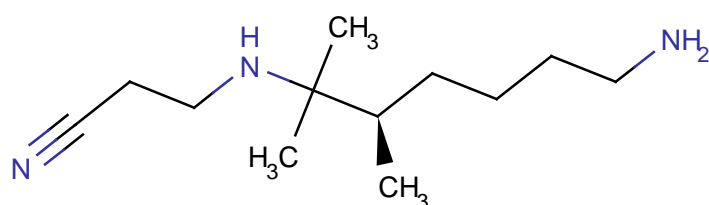
**Fazit: Auf Basis der widersprüchlichen Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U.**

**Hinweis:** Die Substanz ist 2013 für die Registrierung innerhalb von REACH vorgesehen. Eventuell sind zusätzliche Informationen aus dem Registrierungsdossier zu erwarten.

### 1.3.6 Härter, sonstige

#### 1.3.6.1 N-cyanethyliertes Trimethylhexamethyldiamin 093941-62-9

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	–	–
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für den Inhaltsstoff liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es konnten auch keine Daten aus Tierversuchen mit dem Inhaltsstoff gefunden werden.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von N-cyanethyliertem Trimethylhexamethyldiamin (TMD), abgeschätzt auf den Informationen zum log  $K_{OW}$  (1,6) und dem log  $K_P$  (-2,86), als gut bewertet werden kann. Der log  $K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption, der log  $K_P$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Härtern im Mittelfeld. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

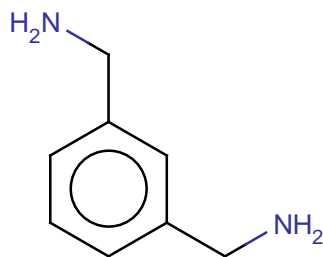
In TOXTREE wird dem Inhaltsstoff, wie auch anderen Härtern, die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die in der QSAR Toolbox implementierten Proteinbindungsmodelle finden, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich somit auch im Fall von N-cyanethyliertem Trimethylhexamethyldiamin um ein Pro-Hapten handelt.

**Fazit: Auf Basis der dürftigen Datenverfügbarkeit erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U.**

**Testvorschlag:** Die Prüfung des N-cyanethylierten TMDs innerhalb der Reihentestung der Härter (KeratinoSens™ und h-CLAT) wäre zu begrüßen. Nach Ermittlung weiterer Daten zum nahe verwandten Trimethylhexamethyldiamin (siehe Testvorschlag unter 1.3.4.4) und Vorhandenseins der vergleichenden *in vitro* Daten ist davon auszugehen, dass eine Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke von N-cyanethyliertem TMD möglich sein könnte.

**1.3.6.2 m-Xylidendiamin (MXDA) 001477-55-0**

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
5. T-Zellreaktion	–	–	
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



m-Xylidendiamin (MXDA) ist ein relevanter Epoxidharz-inhaltsstoff und beim Menschen als wichtiges Allergen bekannt (Geier, 2010). Eine Bewertung der Wirkstärke war durch die Humanbefunde zu MXDA allerdings nicht möglich. Es wurde in EPOX 2002 als das häufigste Allergen unter den getesteten Härtern identifiziert (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). MXDA ist sehr weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe. Es ist das häufigste

Allergen unter den Amin-Härtern und hat eine hohe expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

In Versuchen an Mäusen (zwei LLNA) und Meerschweinchen (zwei GPMT, ein Nicht-Adjuvans Test) konnte die stark sensibilisierende Wirkung von MXDA meist bestätigt werden. Die Ergebnisse des ersten GPM Tests (50-70 % Positive bei intradermaler Induktion mit 0,1 % in Wasser) erlauben die Einstufung von MXDA in die Kategorie HS. In den Versuchen mit Mäusen wurde die Kategorie HS bestätigt (1. Versuch mit dem Vehikel Aceton; 2. Versuch mit Vehikel Dimethylformamid). Die Experimentatoren vermuten, dass das erzielte Ergebnis aus dem LLNA mit Aceton eine Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke von MXDA darstellen könnte. Sie stützen Ihre Aussage mit Ergebnissen aus vergleichenden Versuchen an anderen Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen, die in verschiedenen Vehikeln getestet wurden (formale SHS Prüfung; siehe z.B. 1.3.5.6 und 1.3.11.8; Gamer et al., 2008). Quantitativ nicht verwertet werden konnte der zweite, verfügbare GPMT. Im

Studienbericht wurde die angewandte intradermale Induktionskonzentration nicht genau spezifiziert. Im Test reagieren 100 % der Versuchstiere aus der Testgruppe positiv.

Diesen stark positiven Ergebnissen widersprechen die Ergebnisse aus einem Nicht-Adjuvans Test (ähnlich dem Buehler Protokoll). Hier reagiert nach topischer Induktion mit 5 % MXDA in Wasser nur eines der 10 untersuchten Tiere nach der Auslösebehandlung positiv. Die Grenze für eine Einstufung von mindestens 15 % positiven Tieren wird nicht überschritten, der Inhaltsstoff kann keiner Wirkstärkeklasse zugeordnet werden.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von MXDA, abgeschätzt auf den Informationen zum  $\log K_{OW}$  (0,15) und dem  $\log K_P$  (-3,5), als gut bewertet werden kann. Der  $\log K_{OW}$ , sowie der  $\log K_P$  sind verglichen mit den anderen Härten mittelmäßig. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

In TOXTREE wird dem Inhaltsstoff, wie auch anderen Härtern, die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die QSAR Toolbox findet, weder für den Inhaltsstoff selbst noch für die 12 identifizierten Metabolite, eine Proteinreaktivität. Nach Betrachtung der potentiell möglichen Metabolite kommen die Autoren zu dem Schluss, dass nach der gesehenen Bildung von Aldehyden die nachfolgende Schiffbasenbildung potentiell möglich ist. Im Fall von MXDA handelt es sich also um ein Pro-Hapten. Der Widerspruch zwischen TOXTREE und der QSAR Toolbox konnte nicht geklärt werden.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS. In der „weight-of-evidence“ Bewertung wurden die gesehenen Widersprüche der Mehrheit der Ergebnisse untergeordnet.**

### 1.3.6.3 m-Xylylendiamin/Acrylonitril Adduct 73050-11-0

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	–	–
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	–	–
	Molcode (LLNA)	–	–

Für den Inhaltsstoff liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es konnten auch keine Daten aus Tierversuchen oder *in vitro* Daten für den Inhaltsstoff gefunden werden.

Auch *in silico* Befunde fehlen weil, keine eindeutige chemischen Struktur vorliegt (kein SMILES verfügbar).

**Fazit: Auf Basis der nicht verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U.**

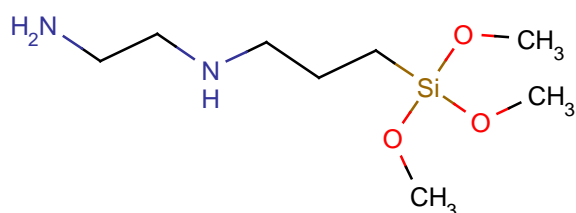
**Hinweis:** Die Bedeutung dieses Inhaltsstoffes wurde innerhalb der Expertenbefragung unterschiedlich bewertet. Einmal wurde das Addukt als sehr relevant angesehen, in einem weiteren Fall als mäßig relevant und zwei weitere Bewertungen besagen, dass der Inhaltsstoff nicht verwendet würde. Zunächst sollte ein Beschluss über die Relevanz des Inhaltsstoffes gefällt werden. Zudem wird darauf verwiesen, dass sich bei einer Adduktbewertung mit *in silico* Systemen Schwierigkeiten durch das Fehlen von SMILES Codes für die nicht eindeutig definierbare Struktur ergeben.

**Testvorschlag:** Die Prüfung des m-Xylylendiamin/Acrylonitril Adduktes innerhalb der Reihentestung der Härter (KeratinSens™ und h-CLAT) wäre zu begrüßen.

**Testvorschlag optional:** LLNA nach OECD Richtlinie 429 mit dem Vehikel Aceton/Olivenöl. Zusammen mit der relativen Bewertungen, die nach Vorlage der verschiedenen *in vitro* Prüfungen möglich ist, wären die Ergebnisse dieses Test sehr hilfreich, den Inhaltsstoff mit den anderen Härter und vor allem mit dem reinen MXDA zu vergleichen.

#### 1.3.6.4 N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan 001760-24-3

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (Biov. gering)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für den Inhaltsstoff liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es konnten auch keine Tierdaten für den Inhaltsstoff gefunden werden.

Insgesamt wird dem Inhaltsstoff aus *in vitro* Tests eine eher geringe Bioverfügbarkeit vorhergesagt (während der log  $K_{OW}$

Wert noch knapp im Bereich der „guten Bioverfügbarkeit“ liegt (Bereich -2 bis 5; Wert: -1,67), überschreitet der Wert des  $\log K_P$  mit -5,3 den Bereich, in dem Substanzen als gut bioverfügbar gelten). Der  $\log K_{OW}$  und der  $\log K_P$  Wert befinden sich am unteren Ende der Skala beim Vergleich mit den anderen Härten. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

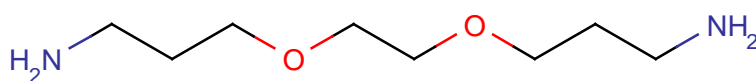
In TOXTREE wird dem Inhaltsstoff, wie auch anderen Härtern, die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die in der QSAR Toolbox implementierten Proteinbindungsmodelle finden, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich somit auch im Fall von N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan eher um ein Pro-Hapten handelt.

**Fazit: Auf Basis der dürftigen Datenlage erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U.**

**Hinweis:** Die Substanz ist 2013 für die Registrierung innerhalb von REACH vorgesehen. Eventuell sind zusätzliche Informationen aus dem Registrierungsdossier zu erwarten.

### 1.3.6.5 Polyoxyalkylenamin, 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan 002997-01-5

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>-In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für den Inhaltsstoff liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt

5.4.3) und es konnten keine Tierdaten für den Inhaltsstoff gefunden werden.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass für 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan eine noch gute Bioverfügbarkeit vorhergesagt werden kann ( $\log K_{OW} = -1,18$ ;  $\log K_P = -4,63$ ), die aber im Vergleich mit den anderen Härten am unteren Ende der Skala angesiedelt ist.

In TOXTREE wird dem Inhaltsstoff, wie auch anderen Härtern, die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die in der QSAR Toolbox implementierten Proteinbindungsmodelle finden, dass wiederum nicht der



Inhaltsstoff selbst, sondern dessen Metabolite proteinreaktiv sind und es sich somit auch im Fall von 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan eher um ein Pro-Hapten handelt.

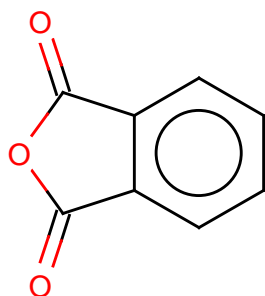
**Fazit: Auf Basis der dürftigen Datenlage erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U.**

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratinoSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auf 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan ausgeweitet werden, um den relativen Vergleich zu den aliphatischen Polyaminen herstellen zu können und auf Basis dieses Vergleichs möglicherweise zu einer endgültigen Wirkstärkenbewertung für den Inhaltsstoff zu gelangen.

### 1.3.7 Säureanhydride

#### 1.3.7.1 Phthalsäureanhydrid 000085-44-9

→ ausreichend Tierdaten → mehrere <i>in vitro</i> Tests		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b> 1. Bioverfügbarkeit 2. Haptenisierung 3. Keratinozytenreaktion 4. Migration&Reifung DCs 5. T-Zellreaktion	Ja Ja Ja Ja –	Nein (gute Biov.) Nein Ja (ARE) Nein –
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Acylierung	Nein
	Molcode (LLNA)	Ja	Ja (schwach)



Es liegen keine Humanbefunde vor, die eine Einschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke zulassen (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

An Mäusen und Meerschweinchen (zwei GPMT, ein Nicht-Adjuvans Test) wurden verschiedene Versuche durchgeführt. Im LLNA mit vorbehandelten Tieren (SDS), wurde eine EC3 Wert ermittelt, der eine Einstufung in die Kategorie HS rechtfertigt.

Die Notwendigkeit einer Einstufung in die Kategorie SHS ist zu prüfen. Die Ergebnisse eines weiteren Standard LLNAs führen zur selben Einstufung. In zwei weiteren LLNAs, die nach dem Standardprotokoll und mit dem Standardvehikel Aceton/Olivenöl durchgeführt wurden, wurde jeweils bereits in der niedrigsten Testkonzentration der SI von 3 überschritten. Es zeigte sich in beiden Versuchen keine Konzentrationsabhängigkeit des Effekts. Die EC3 Werte wurden aus diesem Grund nicht extrapoliert, liegen aber unter der niedrigsten Prüfkonzentration von 2,5 %. Somit würde eine Einordnung in die Kategorie HS erfolgen. Die Autoren einer dieser Publikationen (Basketter und Scholes, 1992), beschreiben das Phthalsäureanhydrid als extrem sensibilisierend (formale SHS Prüfung). Die letztgenannten Autoren führten vergleichend Versuche an

Meerschweinchen durch. Das Ergebnis aus dem Standard GPMT führt zu einer Einordnung in die Kategorie HS (90 % Positive bei intradermaler Induktion mit 0,1 % in Aceton/Polyethylenglykol). In einem Meerschweinchentest nach Buehler bzw. in einem nicht-standardisierten Nicht-Adjuvans Test wurde die hohe Sensibilisierungsstärke des Phthalsäureanhydrids ebenfalls bestätigt (Buehler: 85 % Positive bei Patchinduktion mit 20 % in Aceton; Nicht-Standardtest: 65 % Positive bei Patchinduktion mit 20 oder 10 %). In den Kontrolltieren war eine leichte Reizwirkung zu sehen, der genügend große Abstand (prozentualer Anteil, sowie Stärke der Ausprägung) deuten jedoch auf eine eindeutig sensibilisierende Wirkung des Inhaltsstoffes hin. Es sind weitere Testergebnisse aus Nicht-Standardtests an Mäusen und Meerschweinchen vorhanden, die aufgrund mangelnder Tiefe der Studienberichterstattung oder fehlender Bewertungsmaßstäbe (z.B. im Fall, in dem Mäuse gemäß dem Buehler Schema behandelt wurden) nicht quantitativ auswertbar sind. In allen Berichten wurde für das Phthalsäureanhydrid eine sensibilisierende Wirkung gefunden.

Für das Phthalsäureanhydrid liegen fast alle Schritte der geforderten *in vitro* Testbatterie vor. Anhand der Informationen zum  $\log K_{OW}$  (1,6) und dem  $\log K_P$  (-2,48) kann die Bioverfügbarkeit von Phthalsäureanhydrid abgeschätzt werden. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Der  $\log K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption, der  $\log K_P$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Härten im Mittelfeld. Im Vergleich zu den anderen Härtern aus heißhärtenden Systemen steht der geschätzte  $\log K_P$  Wert für die geringste Hautdurchlässigkeit.

Bei Prüfung der Proteinreaktivität im DPRA konnte für Phthalsäureanhydrid ein starker Peptidrückgang bei Verwendung eines Lysin-haltigem Substrates oder mit GSH als Substrat beobachtet werden (75 bzw. 100 % Depletion). Wurde ein Cystein-haltiges Substrat verwendet, zeigte sich nur eine geringe Aktivität. Diese Beobachtung wurde von den Studienautoren als interessant eingestuft, jedoch keine mechanistische Erklärung gegeben. Andere Autoren stufen den Inhaltsstoff auf den erzielten Ergebnissen generell als sensibilisierend ein (Peptidrückgang Lysin-Cystein kombiniert 24 %). Aus den erzielten Zahlenwerten lässt sich keine eindeutige Zuordnung in eine Wirkstärkekategorie treffen.

Die Keratinozytenreaktion wurde in drei unterschiedlichen Laboratorien und Tests untersucht. Im ursprünglichen ARE-Luciferasetest erzielte der Inhaltsstoff nur eine Einstufung in die Kategorie GMS ( $I_{max} < 3$ ;  $EC_{1,5} > 1000 \mu M$ ). Weiterhin liegen die Ergebnisse aus einem KeratinoSens™ Versuch vor. Die Studienautoren bewerten den Inhaltsstoff im Test als negativ (erzieltes Ergebnis:  $I_{max} < 1,5$ ). Genaue Testergebnisse wurden nicht berichtet und zudem ist eine Übertragung der Cut-off Werte des Vorgängertests auf den KeratinoSens™ nicht zulässig.

In weiteren Test wurde die Reifung dendritischen Zellen untersucht. Im MUSST (humanen Monozyten U937) wurde die Substanz als nicht sensibilisierend bewertet, wohingegen im h-CLAT (THP-1) ein positives Testergebnis für den Inhaltsstoff erzielt wurde (Einstufung MUSST: CD86 Expression  $\geq 1,2$ fach; h-CLAT: 1,5facher Induktion der Expression von CD86; wobei die Versuchsdurchführung leicht von der Originaltestbeschreibung abwich). Eine quantitative bzw. relative Aussage bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke ist nicht möglich, da die genauen Ergebnisse nicht berichtet werden und zudem keine validen Cut-Off Werte bestehen, um eine Einteilung in unterschiedliche Wirkstärkekategorien vorzunehmen.

Verschiedene *in silico* Systeme beschreiben eine mäßige bis zumeist starke Wirkstärke des Inhaltsstoffes (TIMES-SS, TOPKAT, DfW, logistische Regressionsanalyse, Golla et al). Im Screening der Firma MOLCODE wurde das Phthalsäureanhydrid in die schwächste Wirkstärkenkategorie eingeordnet, obwohl aus *in vivo* Daten eine starke Sensibilisierungsreaktion im LLNA bekannt war. Bezüglich der Proteinreaktivität wird der Inhaltsstoff in die Gruppe der „Acylating Agents“ eingeordnet. Die QSAR Toolbox bestätigt, dass der Inhaltsstoff selbst proteinreaktiv ist. Es wurden keine Metabolite identifiziert.

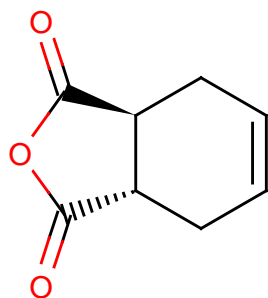
**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS. Die Ergebnisse im LLNA deuten sogar in Richtung SHS, diese Zuordnung kann aber aufgrund bestehender Unsicherheiten bisher nicht getroffen werden.**

**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R42: Atemwegssensibilisierung). Die Atemwegssensibilisierung ausgelöst durch zyklische Anhydride ist eine IgE vermittelte Immunantwort (Reaktion vom Sofort Typ oder Typ I, allergische Rhinitis; HCN, 2010).

**Testvorschlag:** Für eine verbesserte Relativbewertung *in vitro* Reihentestung aller Säureanhydride im optimierten DPRA und im h-CLAT. Eventuell zusätzlich Durchführung des NCTC2544 IL-18 Tests.

**1.3.7.2 Tetrahydrophthalsäureanhydrid 000085-43-8**

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 1 Test)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Acylierung	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für den Inhaltsstoff liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Zu Tetrahydrophthalsäureanhydrid liegt nur ein *in vivo* Versuch vor. Im Test mit Meerschweinchen (GPMT, Adjuvans Test) erzielt die Substanz eine Einstufung in die Kategorie HS.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von Tetrahydrophthalsäureanhydrid, abgeschätzt anhand der Informationen zum log  $K_{OW}$  (1,96) und dem log  $K_P$  (-2,26), als gut bewertet werden kann. Der log  $K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption,

der log  $K_p$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Härten im oberen Drittel. Im Vergleich zu den anderen Härtern aus heißhärtenden Systemen stellt der geschätzte log  $K_p$  Wert, jedoch die zweitschlechteste Bewertung dar. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. Wie zuvor das Phthalsäureanhydrid wird auch das Tetrahydrophthalsäureanhydrid von TOXTREE in die Gruppe der „Acylyating Agents“ eingeordnet. Anders als beim Phthalsäureanhydrid wird in der QSAR Toolbox aber zusätzlich ein weiterer proteinreaktiver Metabolit identifiziert (gleicher Mechanismus).

**Fazit:** Auf Basis der nur spärlich verfügbaren Daten war zunächst nur eine Zuordnung in die Kategorie U vorgesehen. Nach weiteren Überlegungen und gängiger Praxis (z.B. REACH) ist das Tetrahydrophthalsäure-anhydrid dem Phthalsäureanhydrid so ähnlich (strukturell und in den vorhandenen *in vivo* Versuchen), dass eine Übertragung der Daten (Read-across) anwendbar erscheint. Dementsprechend wird das Tetrahydrophthalsäureanhydrid der Kategorie hohe Sensibilisierungsstärke (HS) zugeordnet.

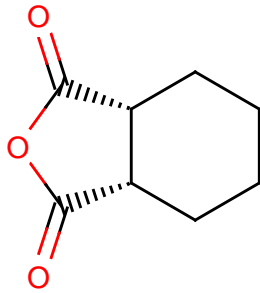
**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R42: Atemwegssensibilisierung). Die Atemwegssensibilisierung ausgelöst durch zyklische Anhydride ist eine IgE vermittelte Immunantwort (Reaktion vom Sofort Typ oder Typ I, allergische Rhinitis; HCN, 2010).

**Anmerkung:** Die Bewertung des Tetrahydrophthalsäure-anhydrids war nur möglich durch die Verwendung der Daten des strukturell sehr ähnlichen Phthalsäureanhydrids. Sollte für diese Substanz eine Veränderung der Zuordnung vorgenommen werden, ist es vernünftig, dies für Tetrahydrophthal-säureanhydrid ebenfalls in Betracht zu ziehen.

**Testvorschlag:** Für eine verbesserte Relativbewertung *in vitro* Reihentestung aller Säureanhydride im optimierten DPRA und im h-CLAT. Eventuell zusätzlich Durchführung des NCTC2544 IL-18 Tests.

### 1.3.7.3 Hexahydrophthalsäureanhydrid 000085-42-7

→ nur 2 <i>in vivo</i> Tests → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 2 Tests)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Acylierung	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die verfügbaren Humandaten lassen eine Einschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke von Hexahydrophthalsäureanhydrid nicht zu (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Zu Hexahydrophthalsäureanhydrid liegen zwei *in vivo* Versuche vor. Im Test mit Meerschweinchen (GPMT, Adjuvans Test) erzielt die Substanz eine Einstufung in die Kategorie HS. Im Standard-LLNA wurde diese Einstufung bestätigt. Anhand des gefundenen Ergebnisses bei Mäusen ergibt sich eine Einstufung in die Kategorie HS, wobei eine Einstufung in die Kategorie SHS zu prüfen ist (formale SHS Prüfung).

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von Hexahydrophthalsäureanhydrid, abgeschätzt anhand der Informationen zum  $\log K_{OW}$  (2,17) und dem  $\log K_P$  (-2,12), als gut bewertet werden kann. Der  $\log K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption, der  $\log K_P$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Härten im oberen Drittel. Im Vergleich zu den anderen Härtern aus heißhärtenden Systemen stellt der geschätzte  $\log K_P$  Wert den Mittelwert dar. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. Wie zuvor das Phthalsäureanhydrid wird auch das Hexahydrophthalsäureanhydrid von TOXTREE in die Gruppe der „Acylation Agents“ eingeordnet. Anders als beim Phthalsäureanhydrid wird in der QSAR Toolbox aber zusätzlich ein weiterer proteinreaktiver Metabolit identifiziert (gleicher Mechanismus).

**Fazit:** Auf Basis der nur spärlich verfügbaren Daten war zunächst nur eine Zuordnung in die Kategorie U vorgesehen. Nach weiteren Überlegungen und gängiger Praxis (z.B. REACH) ist das Hexahydrophthalsäureanhydrid dem Phthalsäureanhydrid so ähnlich (strukturell und in den vorhandenen *in vivo* Versuchen), dass eine Übertragung der Daten (Read-across) anwendbar erscheint. Dem-entsprechend wird das Hexahydrophthalsäureanhydrid in die Kategorie hohe Sensibilisierungsstärke (HS).

**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R42: Atemwegssensibilisierung). Die Atemwegssensibilisierung ausgelöst durch zyklische Anhydride ist eine IgE vermittelte Immunantwort (Reaktion vom Sofort Typ oder Typ I, allergische Rhinitis; HCN, 2010).

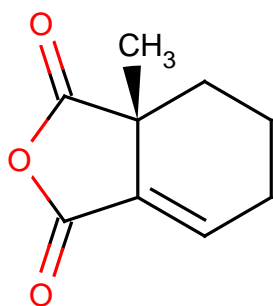
**Anmerkung:** Die Bewertung des Hexahydrophthalsäureanhydrids war nur möglich durch die Verwendung der Daten des strukturell sehr ähnlichen Phthalsäureanhydrids. Sollte für diese Substanz eine Veränderung der Zuordnung vorgenommen werden, ist es vernünftig, dies für Hexahydrophthalsäureanhydrid ebenfalls in Betracht zu ziehen.

**Testvorschlag:** Für eine verbesserte Relativbewertung *in vitro* Reihentestung aller Säureanhydride im optimierten DPRA und im h-CLAT. Eventuell zusätzlich Durchführung des NCTC2544 IL-18 Tests.

### 1.3.7.4 Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid

011070-44-3

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>-In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptensierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Acylierung	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Es liegen keine Humanbefunde vor, die eine Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke von Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid ermöglichen (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es konnten keine Tierdaten für den Inhaltsstoff gefunden werden.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid, abgeschätzt anhand der Informationen zum  $\log K_{OW}$  (2,64) und dem  $\log K_P$  (-1,86), als gut bewertet werden kann. Der  $\log K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption, der  $\log K_P$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Härten im oberen Drittel. Im Vergleich zu den anderen Härtern aus heißhärtenden Systemen stellt der geschätzte  $\log K_P$  Wert sogar die beste Bewertung dar. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf den Mechanismus der Proteinreaktivität vor. Wie zuvor das Phthalsäureanhydrid wird auch das Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid von TOXTREE in die Gruppe der „Acyating Agents“ eingeordnet. Anders als beim Phthalsäureanhydrid wird in der QSAR Toolbox aber zusätzlich ein weiterer proteinreaktiver Metabolit identifiziert.

**Fazit: Auf Basis der nur wenigen Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Als Default wird dem Inhaltsstoff eine hohe Sensibilisierungsstärke zugeordnet.**

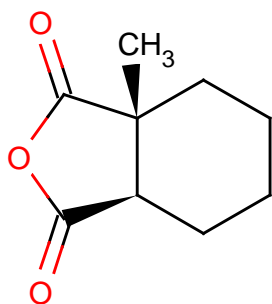
**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R42: Atemwegssensibilisierung). Die Atemwegssensibilisierung ausgelöst durch zyklische Anhydride ist eine IgE vermittelte Immunantwort (Reaktion vom Sofort Typ oder Typ I, allergische Rhinitis HCN, 2010).

**Testvorschlag:** Für eine verbesserte Relativbewertung *in vitro* Reihentestung aller Säureanhydride im optimierten DPRA und im h-CLAT. Eventuell zusätzlich Durchführung des NCTC2544 IL-18 Tests.

### 1.3.7.5 Methylhexahydrophthalsäureanhydrid

025550-51-0

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptensierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Acylierung	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die verfügbaren Humandaten lassen eine Einschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke von Methylhexahydrophthalsäureanhydrid nicht zu (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es konnten keine Tierdaten für den Inhaltsstoff gefunden werden.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von Methylhexahydrophthalsäureanhydrid, abgeschätzt anhand der Informationen zum  $\log K_{OW}$  (2,59) und dem  $\log K_P$  (-1,9), als gut bewertet werden kann. Der  $\log K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption, der  $\log K_P$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Härten im oberen Drittel. Im Vergleich zu den anderen Härtern aus heißhärtenden Systemen stellt der geschätzte  $\log K_P$  Wert sogar die zweitbeste Bewertung dar. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf den Mechanismus der Proteinreaktivität vor. Wie die anderen Säureanhydride wird auch das Methylhexahydrophthalsäureanhydrid von TOXTREE in die Gruppe der „Acyllating Agents“ eingeordnet. In der QSAR Toolbox wurden zusätzlich zwei weitere proteinreaktive Metabolite identifiziert.

**Fazit: Auf Basis der nur spärlich verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Als Default-Vorgehen wird für den so zu bewertenden Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R42: Atemwegssensibilisierung). Die Atemwegssensibilisierung ausgelöst durch zyklische Anhydride ist eine IgE vermittelte Immunantwort (Reaktion vom Sofort Typ oder Typ I, allergische Rhinitis; HCN, 2010).

**Testvorschlag:** Für eine verbesserte Relativbewertung *in vitro* Reihentestung aller Säureanhydride im optimierten DPRA und im h-CLAT. Eventuell zusätzlich Durchführung des NCTC2544 IL-18 Tests.

### 1.3.8 tertiäre Amine

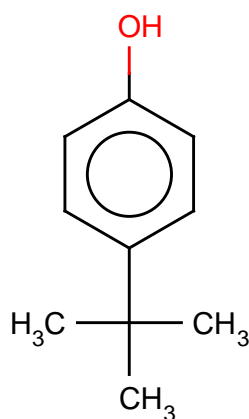
#### 1.3.8.1 3-((6-Aminotrimethylhexyl)amino)propionitril 093941-62-9

Siehe Bewertung unter 1.3.6.1.

### 1.3.9 Phenole

#### 1.3.9.1 tert-Butylphenol 000098-54-4

→ nur 1 <i>in vivo</i> Test → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Wenig	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 1 Test)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b> 1. Bioverfügbarkeit 2. Haptensierung 3. Keratinozytenreaktion 4. Migration&Reifung DCs 5. T-Zellreaktion	– – – – –	Nein (gute Biov.) – – – –
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	–	–
	Molcode (LLNA)	–	–



Die Humanbefunde erlauben keine Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke von tert-Butylphenol, deuten darauf hin, dass der Inhaltsstoff eher ein seltenes Allergen ist (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es liegt nur ein Versuch an Tieren vor. Im GPM Test zeigte keines der Meerschweinchen eine positive Hautreaktion (intradermale Induktion mit 0,5 % in Maisöl). Eine Einordnung in die von uns getroffenen Wirkstärkekategorien ist zunächst nicht möglich.

Anhand der Informationen zum  $\log K_{OW}$  (3,31) und dem  $\log K_P$  (-1,28) kann eine Aussage über die wahrscheinliche Bioverfügbarkeit des Inhaltsstoffes getroffen werden. Die Daten weisen auf eine gute Bioverfügbarkeit hin. Im Vergleich mit den anderen Härtern liegt der Wert des  $\log K_{OW}$  im oberen Drittel und der  $\log K_P$  stellt sogar den Spitzenwert dieses Vergleichs dar. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

*In silico* Systeme sagen für tert-Butylphenol keine Proteinreaktivität vorher und es wurden keine proteinreaktiven Metabolite identifiziert.

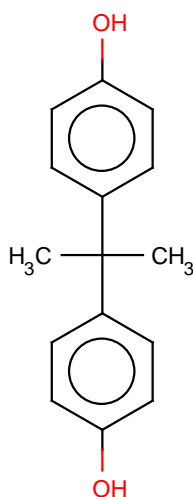
**Fazit:** Auf Basis der zwar nur spärlichen Datenverfügbarkeit, der Übertragung der Daten von Bisphenol A, der Häufigkeit einer Sensibilisierungsreaktion im Menschen und der Tendenz aller *in vivo* und *in silico* Daten in Richtung einer geringen Sensibilisierungsstärke erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie GMS



**(human seltenes Allergen, keine Sensibilisierung im Tierversuch und keine Proteinreaktivität vorhergesagt).**

**1.3.9.2 Bisphenol A 000080-05-7**

→ nur 2 <i>in vivo</i> Tests → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 2 Tests)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b> 1. Bioverfügbarkeit 2. Haptensierung 3. Keratinozytenreaktion 4. Migration&Reifung DCs 5. T-Zellreaktion	Ja – – – –	Nein (gute Biov.) – – – –
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	–	–
	Molcode (LLNA)	–	–



Die vorhandenen Humanbefunde reichen nicht aus, um die sensibilisierende Wirkstärke von Bisphenol A zu bewerten. In Reihentestungen erwies sich Bisphenol A als seltenes Allergen (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es liegen zwei Untersuchungen an Tieren vor. Im LLNA konnte weder im Standardtest, noch mit einer UV-A Zusatzbehandlung, der SI von 3 überschritten werden. Das Testergebnis ist negativ. Und auch im GPMT wurde keine Bisphenol A vermittelte Sensibilisierung gefunden. Die Einordnung in eine Wirkstärkekategorie ist nicht möglich.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von Bisphenol A, abgeschätzt anhand der Informationen zum log  $K_{OW}$  (3,32) und dem log  $K_P$  (-1,75), als gut bewertet werden kann. Im Vergleich mit den anderen Härtern liegt der log  $K_{OW}$  im oberen Drittel und der log  $K_P$  Wert stellt die drittbeste Bewertung dar. Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

*In silico* Systeme sagen für Bisphenol A keine Proteinreaktivität vorher und es konnten keine proteinreaktiven Metabolite identifiziert werden.

**Fazit: Auf Basis der zwar spärlich verfügbaren Daten, der Übertragung von tert-Butylphenol, der Häufigkeit und der Tendenz aller Daten in Richtung einer eher geringen Wirkstärke erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie GMS (human seltenes Allergen, keine Sensibilisierung im Tierversuch und keine Proteinreaktivität vorhergesagt). Der nachfolgende Hinweis ist zu beachten.**

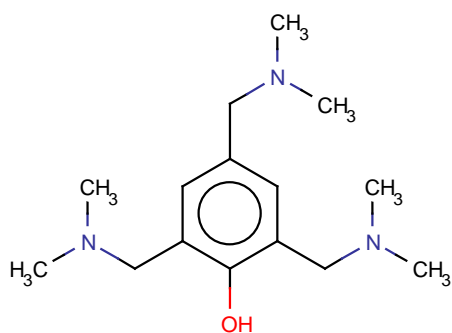
**Anmerkung:** Es besteht eine Kreuzreaktivität zwischen dem chemisch eng verwandten Diethylstilbestrol und Bisphenol A.

**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R62: Fortpflanzungsfähigkeit möglicherweise beeinflusst).

Der Inhaltsstoff kommt in Härtern vor, könnte aber auch als Restmonomer in den Harzen enthalten sein. Dazu liegen aber keine Informationen vor (persönliche Kommunikation mit Dr. Kersting, BG Bau). Die Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke rückt auf dem Hintergrund der bekannten endokrinen Wirkung von Bisphenol A in den Hintergrund, eine Testung dieser Eigenschaft dementsprechend ebenfalls. Bei der Verwendung von DGEBA Harzen ist die Verunreinigung durch größere Mengen an Bisphenol A auszuschließen.

### 1.3.9.3 2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol 000090-72-2

→ nur 1 <i>in vivo</i> Test → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 1 Test)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptensierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	SB	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die vorliegenden Humandaten reichen nicht aus, um die sensibilisierende Wirkstärke von tris-DMP zu beurteilen (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Für den Inhaltsstoff ist nur ein Versuch an Meerschweinchen berichtet. Das erzielte Ergebnis (bei intradermaler Induktionsbehandlung mit 0,05 % nur 10,5 % positive Hautreaktionen) reicht nicht aus, um eine Einstufung in eine Wirkstärkekategorie auszulösen. Für eine

Einordnung muss in einem Adjuvans Test mindestens eine positive Reaktion von 30 % erreicht werden.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass die Bioverfügbarkeit von tris-DMP, abgeschätzt anhand der Informationen zum log  $K_{OW}$  (0,77) und dem log  $K_P$  (-3,8), als gut bewertet werden kann. Im Vergleich mit den anderen Härtern ist der log  $K_{OW}$  mittelmäßig und der log  $K_P$  befindet sich im unteren Bereich des mittleren Drittels.

In TOXTREE wird für den Inhaltsstoff, genau wie für andere Härter, die Schiffbasenbildung als Proteinreaktionsmechanismus vorhergesagt. Die QSAR Toolbox findet, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern nur ein Metabolit

proteinreaktiv ist und es sich somit auch im Fall von tris-DMP um ein Pro-Hapten handelt.

**Fazit: Auf Basis der nur wenigen verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U.**

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (KeratinoSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auch tri-DMP umfassen.

**Anmerkung:** Der zu bewertende Inhaltsstoff 2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol (tris-DMP) wird im Vergleich zu den vorherigen Dokumenten nicht mehr an letzter Stelle aufgeführt. In diesem Bewertungsdokument wird er unter der entsprechenden Untergruppierung der Phenole genannt. Diese sind wiederum der Gruppe der Härter zugehörig.

Die Neueinstufung der Substanz im Registrierungsdossier als hautsensibilisierend, beruht eher auf der Tatsache, dass der Inhaltsstoff auch als korrosiv eingestuft wurde, als auf Basis verfügbarer Daten (nur der oben beschriebenen Test an Meerschweinchen). Diese lassen keine eindeutige Bewertung der sensibilisierenden Eigenschaften von tris-DMP zu.

### 1.3.10 Zusammenfassung und relative Bewertung Härter

Insgesamt wurden 30 der zu bewertenden Inhaltsstoffe als Härter in Epoxidharzsystemen klassifiziert (n = 30). Innerhalb der Härter waren wiederum verschiedene Untergruppen zu finden. Beispielsweise die Gruppe der aromatischen, aliphatischen oder cycloaliphatischen Amine (mit je 1 bzw. 10 bzw. 6 Inhaltsstoffen), die Härter aus heißhärtenden Epoxidharzsystemen (die Phthalsäureanhydride, 5 Vertreter), Phenole (3 Inhaltsstoffe) und weitere 5 Inhaltsstoffe, die sich keiner der genannten Gruppen zuordnen ließen.

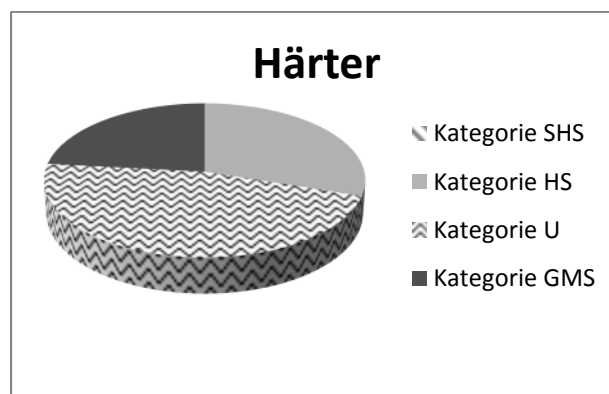


Abbildung 3. Zuordnung der Kategorien sensibilisierender Wirkstärken für die Gruppe der Härter aus Epoxidharzsystemen (n = 30)

Im ersten Zwischenbericht wurde die Datenlage gesichtet (Screening der Verfügbarkeit, beinhaltete noch keine Detailprüfung der Eignung der Tests) und anhand dieses Ergebnisses eine erste Einschätzung zur Machbarkeit der Einordnung der Inhaltsstoffe bezüglich ihrer sensibilisierenden Wirkstärke getroffen (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.2, Abschnitt „Diskussion“, „Datenlage – Allgemein“ →

Ampelsystem, Vergabe der farblichen Markierung pro Substanz in der Datentabelle). Für 7 Härter wurde davon ausgegangen, dass eine Bewertung der Wirkstärke auf Basis der verfügbaren Daten möglich ist. In der Tat wurden 6 der Härter in eine entsprechende Wirkstärkenkategorie eingeordnet und nur bei N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan konnte aufgrund der widersprüchlichen Daten bisher kein Fazit in der Bewertung gezogen werden. Erfreulich ist, dass (obwohl vormals davon ausgegangen wurde, dass 23 Inhaltsstoffe aufgrund mangelnder Daten nicht bewertet werden können) bereits 9 dieser Inhaltsstoffe auf Basis von Datenübertragung strukturverwandter Substanzen und Plausibilitätsbetrachtung (z.B. Mechanismus der Aktivierung, Einstufung bezüglich anderer Eigenschaften) einer Wirkstärkekategorie zugeordnet werden konnten. Bei einem Inhaltsstoff (dem TMD siehe 1.3.4.4) wurden von der herstellenden Industrie zudem Daten zur Verfügung gestellt, die die Wirkstärkenbewertung ermöglichten

Wie in Abbildung 3 zu sehen ist, konnte bisher für etwas weniger als die Hälfte der Inhaltsstoffe keine Zuordnung zu einer definitiven Wirkstärkekategorie getroffen werden. In bisher 14 der 30 Fälle wurde deswegen die Kategorie U vergeben (d.h. 46,7 %). Gemäß dem Standardvorgehen wird für die so bewerteten Inhaltsstoffe eine hohe Sensibilisierungsstärke angenommen (Kategorie HS). In 3 der 14 Fälle wurde keine Zuordnung getroffen, da aus den widersprüchlichen Daten kein klares Bild der zu bewertenden Eigenschaften entstand. In 11 der 14 Fälle waren zu wenige Daten vorhanden (d.h. maximal ein Ergebnis aus dem Tierversuch plus ungenügende Daten aus *in vitro* und *in silico* Ansätzen). Für 9 Inhaltsstoffe konnte eine Zuordnung in die Kategorie HS durchgeführt werden und 7 Inhaltsstoffe wurden der Kategorie geringer bis mittlerer Wirkstärke zugeordnet (d.h. 30 bzw. 23 % der zu bewertenden Härter).

In einigen Fällen könnte es möglicherweise mit wenig Aufwand (Abwarten der zweiten Registrierungsdeadline unter REACH im Juni 2013 im Fall von Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)-ethylamino)-3-methylcyclo-hexyl)methan; 1,2-Diaminocyclohexan oder N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan) zu einer Umkategorisierung der Inhaltsstoffe kommen. Bei 3 Inhaltsstoffen der Kategorie U liegen Hinweise auf eine mögliche Kategoriezuordnung vor. In den 3 Fällen würden verschiedene aliphatische und cycloaliphatische Amine in die Kategorie GMS eingestuft werden. Dies ist jedoch meist von Ergebnissen aus zusätzlichen Tests abhängig (Testvorschläge siehe Beschreibung im Text unten).

Unterstützend für die Bewertung der aliphatischen und cycloaliphatische Amine können aber auch die Daten von Leung und Auletta (1997) herangezogen werden. Die genannten Autoren führten eine relative Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke unterschiedlicher Alkylamine im GPMT aus. Die Ergebnisse sind tabellarisch zusammengefasst.

Tabelle 7. Ergebnisse aus dem GPMT für verschiedene Alkylamine

Substanz (CAS Nr.)	Epikutane Ind. [%].	Auslösedosis [%]	% positiver Tiere	Normalisierte Antwort
EDA (107-15-3)	10	5	45	0,9
DETA (111-40-0)	50	25	80	0,064
AEP (140-31-8)	50	25	25	0,02
TETA (112-24-3)	95	50	74	0,016
PEHA (4067-16-7)	100	100	100	0,01
TEPA (112-57-2)	60	50	5	0,002

Intradermale Induktionsdosis jeweils 5 % in Wasser; Ind.: Induktionsdosis; Normalisierung erfolgt über: Normalisierte Antwort = % Antwort / (epikutane Induktionsdosis)\*(Auslösedosis); Maximum liegt bei 2

Basierend auf den normalisierten Ergebnissen ist Ethylendiamin in der Gruppe der aliphatischen Amine der Härter mit der stärksten sensibilisierenden Wirkstärke. In unserer Bewertung wurde der Inhaltsstoff ebenfalls der Kategorie HS zugeordnet.

Innerhalb dieser Gruppe ist die sensibilisierende Wirkstärke invers korreliert mit der Anzahl der Amingruppen. Zyklische Amine haben dabei eine geringe Wirkstärke als die korrespondierenden linearen Alkylamine. Die Studienautoren bezeichnen ab dem AEP (N-Aminoethylpiperazin) die getesteten Härter nur noch als „moderat“ sensibilisierend.

Nicht gezeigt sind die Versuche der Autoren zur Kreuzreaktivität mit den aufgeführten Alkylaminen. Diese fanden, dass tendenziell die Wirkstärke des zur Induktion verwendeten Inhaltsstoffes die Stärke der Hautreaktion nach Auslösebehandlung bestimmt. Dementsprechend waren die Reaktionen, in denen Ethylendiamin als sensibilisierendes Agens verwendet wurde, nach der Normalisierung am stärksten ausgeprägt (Leung und Auletta, 1997). Insgesamt kann anhand der Daten folgende Aussage gemacht werden: bei den getesteten Alkylaminen besteht eine positive Korrelation zwischen Reizstärke, Sensibilisierungsstärke und Stärke der Kreuzreaktivität. Das heißt: je stärker eine Substanz reizend wirkt (zu sehen an der Höhe der epikutanen Induktionsdosis, denn umso niedriger diese ist, desto reizenderer Stoff), desto stärker ist ihre sensibilisierende Wirkung. *Eine Anmerkung der Autoren dieses Berichts: dies ist keine allgemeingültige Annahme und gilt zunächst nur für die oben geprüften Inhaltsstoffe.*

Auf Basis der Daten von Leung und Auletta und der zusätzlichen Information bezüglich der eher geringen Bioverfügbarkeit und der Tatsache, dass in der QSAR Toolbox keine reaktiven Metabolite der Pro-Haptene mehr ausfindig gemacht werden konnten, liegen für die Inhaltsstoffe TEPA und PEHA genügend Hinweise vor, um sie in die Kategorie GMS anstelle der Kategorie Unbestimmt einzuordnen. Trotzdem sollten die Inhaltsstoffe, ähnlich wie Ethylendiamin oder Diethylentriamin, in eine *in vitro* Reihenuntersuchung (KeratinSens™ und h-CLAT) eingeschlossen werden. Zum einen, um die Ergebnisse aus Leung und Auletta zu verifizieren und zum anderen, um die relative Wirkstärke der noch ausstehenden Aminbewertungen mit genügender Sicherheit einschätzen zu können.

Es wird vorgeschlagen, eine *in vitro* Reihentestung an den aliphatischen Amine Dipropylentriamin, Trimethylhexamethylendiamin, Triethylentetramin, N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan sowie Tetra- oder Pentaethylenhexamin durchzuführen. Die

Inhaltsstoffe Ethylendiamin und Diethylentriamin sollten ebenfalls in die Reihe eingeschlossen werden, da auf Basis der verfügbaren Wirkstärkenbewertung dieser Inhaltsstoffe auch die Wirkstärke der noch fraglichen Amine besser bewertet werden kann. Es wird empfohlen, für die Amine den KeratinoSens™ sowie den h-CLAT durchzuführen. Die Eignung dieser Testsysteme für die Amine wurde bereits bei deren Anwendung auf das Ethylendiamin gezeigt. Für einzelne Amine sind bereits Daten aus dem KeratinoSens™ (siehe EDA) oder dem h-CLAT vorhanden, trotzdem sollte die Reihentestung alle genannten Amine umfassen, da ein Vergleich der Ergebnisse aus unterschiedlichen Laboren schwierig ist und leicht veränderte Versuchsbedingungen bereits einen großen Einfluss auf die Versuchsergebnisse haben können. Für die Aussagekraft eines relativen Vergleichs ist eine einheitliche Versuchsdurchführung zielführend.

Für Dipropylentriamin wird zusätzlich ein *in vivo* Test vorgeschlagen (LLNA mit Vehikel Aceton/Olivenöl). Dieser soll die Unsicherheit der Bewertung, die sich aus den vorhandenen Ergebnissen aus Lymphknotentests mit Aceton ergeben, ausräumen. Auf dem Hintergrund der großen Bedenken gegenüber Tierversuchen, sollten der *in vivo* Versuch den vorgeschlagenen *in vitro* Tests zeitlich nachgestellt werden und eine Durchführung nur dann in Betracht kommen, wenn aus der relativen Wirkstärkenbewertung keine Schlussfolgerungen für Dipropylentriamin gezogen werden konnte.

Die *in vitro* Reihentestung (KeratinoSens™ und h-CLAT) der aliphatischen Amine sollte auf die cycloaliphatischen Härter AEP und 3-Cyclohexylaminopropylamin ausgeweitet werden. AEP war bereits bei Leung und Auletta (1997) im Testumfang enthalten. Die Ergebnisse aus den *in vitro* Tests könnten dazu dienen, die damals ermittelte relative Wirkstärkenbewertung zu bestätigen, und um für AEP und 3-Cyclohexylaminopropylamin zu einer endgültigen Bewertung der Wirkstärke zu finden. Auch 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan (siehe 1.3.6.5) sollte in diese Reihentestung aufgenommen werden, um den relativen Vergleich zu den aliphatischen Polyaminen herstellen zu können und auf Basis dieses Vergleichs möglicherweise zu einer Wirkstärkenbewertung für den Inhaltsstoff zu gelangen. Für die Bewertung von tris-DMP würden diese Tests wahrscheinlich ebenfalls hilfreich sein. Aus diesem Grund schlagen wir vor, tris-DMP ebenfalls in die Reihentestung einzuschließen.

Für das Phthalsäureanhydrid liegt eine Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke vor. Auf Basis der strukturellen Ähnlichkeit, sowie vergleichbare Ergebnisse in den vorhandenen Einzeltests (*in vivo*) wurde die Einordnung in die HS-Kategorie vom Phthalsäureanhydrid auf das Tetra- und Hexa-hydrophthalsäureanhydrid übertragen. Es wird vorgeschlagen, die fünf zu bewertenden Säureanhydride einer Testung im optimierten DPRA, sowie einer Prüfung im h-CLAT Test zu unterziehen. Die Tests wurden ausgewählt, weil bereits erste Ergebnisse für das Phthalsäureanhydrid vorliegen. Zudem könnte anhand der Ergebnisse des DPRA vielleicht sogar eine Zuordnung der Wirkstärkekategorie stattfinden, da geeignete Bewertungsmaßstäbe vorliegen. Eventuell sollte zusätzlich eine Prüfung der Keratinozytenreaktion in Betracht gezogen werden. Hier wird als zu verwendender Test der noch wenig verwendete NCTC2544 IL-18 Test vorgeschlagen. Dieser Test wird dem KeratinoSens™ in diesem Fall vorgezogen, da im NCTC2544 IL-18 Test erste Ansätze für eine Unterscheidung der Wirkstärke getroffen wurden. Würden alle drei vorgeschlagenen Testverfahren durchgeführt, wäre die *in vitro* Testbatterie für die

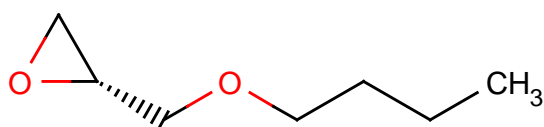
Härter der heißhärtenden Epoxidharzsysteme fast vollständig. Insgesamt kann durch einen bzw. mehrere vergleichende Tests zumindest eine verbesserte Relativbewertung durchgeführt werden. Die Alternative, alle der Säureanhydride aufgrund struktureller Verwandtschaft in die Kategorie HS einzuordnen, stellt im vorliegenden Projekt keine Option dar. Die Identifikation von Wirkstärkeunterschieden in Gruppen von technisch möglichen Ersatzstoffen ist das erklärte Hauptziel dieser Studie.

**Anmerkung:** Viele der Härter sind als hautreizend (R37/H315) oder sogar ätzend (R34/H314) eingestuft. Diesem Umstand wurde bereits bei der Auswertung der zu den jeweiligen Inhaltsstoffen vorhandenen Tierdaten Rechnung getragen und soll nochmals zu einem späteren Zeitpunkt im Projektverlauf (Abschätzung der Auswirkung der Applikationsmenge auf die Sensibilisierungswirkung) thematisiert werden.

### 1.3.11 Reaktivverdünner

#### 1.3.11.1 Butyl-glycidylether 002426-08-6

→ Tierdaten → vergleichende <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	Ja	Ja (relativ)
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Ja (ARE, relativ)
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Nein
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	Ja	Ja (schwach)



Im Human-Maximierungstest wird Butylglycidylether (BGE) als starkes Allergen bewertet. Generell finden sich in Reihenuntersuchungen nur selten positive Testergebnisse für BGE.

Es wird vermutet, dass dies nicht auf eine geringe sensibilisierende Wirkstärke zurückzuführen ist, sondern auf die angenommen geringe Verbreitung der Substanz in Epoxidharzsystem (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). BGE ist fast nicht verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe. Möglicherweise kann es immunologische Kreuzreaktionen (via Metabolisierung) bei primärer Sensibilisierung gegen 1,4-BDDGE geben (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Ergebnisse aus Tierversuchen (2 LLNA, 1 GPMT) führen zu einer Einordnung von BGE in die Kategorie GMS. Im GPMT kann ausgehend vom Studiendesign (intradermale Induktion mit > 1 %) und unabhängig vom erzielten Ergebnis nie eine Einstufung in die Kategorie HS erfolgen (GMS Zuordnung formal). Das erzielte

Ergebnis (50 % positive Tiere) deutet nicht auf eine Unterschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke von BGE im Tierversuch hin. Ein zusätzlich vorhandener Draizetest kann aufgrund der fehlenden Informationstiefe im Studienbericht nicht für die quantitative Wirkstärkenbewertung herangezogen werden.

Für BGE liegen fast alle Schritte der geforderten *in vitro* Testbatterie vor. Anhand der Informationen zum  $\log K_{O/W}$  (0,63) und dem  $\log K_P$  (-3,07) kann die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern liegt der  $\log K_{O/W}$  Wert im Mittelfeld und der  $\log K_P$  befindet sich im letzten Drittel.

Bei Prüfung der Proteinreaktivität im DPRA (drei unabhängige Testungen Cystein- und/oder Lysin-haltiges Substrat; einmal mit anschließender LC-MS Analyse) wurde für BGE eine ausgeprägte Aktivität gemessen (gemessener Peptidrückgang: 32,5 %, 46 % oder 84 %) und eine Adduktbildung konnte nachgewiesen werden. In zwei Fällen führen die erzielten Zahlenwerte zu einer Einstufung in die Kategorie HS und in einem Fall zur Einordnung in die Kategorie GMS. Bei einer Reihenuntersuchung mit Phenylglycidylethern war BGE (46 %) die am wenigsten aktive Substanz.

Die Keratinozytenreaktion wurde in unterschiedlichen Laboratorien und Tests untersucht. Im ursprünglichen ARE-Luciferasetest erzielte der Inhaltsstoff eine Einordnung in die Kategorie HS ( $I_{max} > 3$ ;  $EC_{1,5} < 1000 \mu M$ ). Weiterhin liegen die Ergebnisse aus einem KeratinoSens™ Versuch vor ( $I_{max} = 340$ ;  $EC_{1,5} = 218 \mu M$ ). Eine Kategoriezuordnung ist nicht möglich, da keine validen Cut-off Werte für den Test bestehen und eine Übertragung der Cut-off Werte des Vorgängertests auf den KeratinoSens™ nicht zulässig ist. Zusätzlich kann ein relativer Vergleich angestellt werden, da in einer Publikation z.B. auch Phenyl-glycidylether getestet wurde. PGE ist gemäß den erzielten Ergebnissen im KeratinoSens™ stärker wirksam als BGE (Basis Vergleich der erzielten  $EC_{1,5}$  Werte).

Im h-CLAT wurde die Reifung dendritischen Zellen untersucht (THP-1). Das Testergebnis für BGE war negativ (Kriterium: 1,5facher Induktion der Expression von CD86 bzw. 2fache Induktion von CD54). Eine quantitative bzw. relative Aussage bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke ist nicht möglich, da die genauen Ergebnisse nicht berichtet werden und zudem keine validen Cut-Off Werte bestehen, um eine Einteilung in unterschiedliche Wirkstärkekategorien vorzunehmen.

Verschiedene *in silico* Systeme beschreiben grundsätzlich eine sensibilisierende Wirkung von BGE (TIMES-SS, TOPKAT, DfW, logistische Regressionsanalyse) bzw. belegen eine mäßig ausgeprägte Wirkstärke des Inhaltsstoffes (Golla et al). Im Screening der Firma MOLCODE wurde BGE in die schwächste Wirkstärkenkategorie eingeordnet. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff der  $S_N2$  Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie GMS. Diese Einschätzung beruht auf Basis der vorhandenen Tierdaten, den *in silico* Einschätzungen und auch der Einschätzung von BGE anderer Experten als schwach humansensibilisierend (Basketter und Kimber, 2006).**



**Anmerkung:** Eine Kreuzreaktivität zwischen BGE und den chemisch verwandten C12/C14-Monoglycidylethern (d.h. Epoxid Nr.8) und Kresylglycidylethern wurde beobachtet.

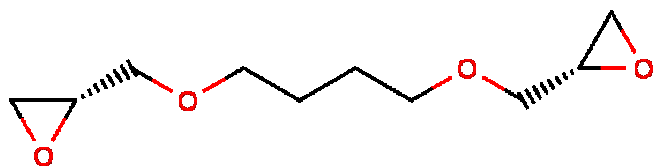
**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R40: Verdacht krebserzeugende Wirkung; R68: Irreversible Schäden möglich).

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (DPRA und KeratinoSens™) der verschiedenen Glycidylether sollte auch BGE umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Reaktivverdünner zu gewährleisten.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** BGE wurde als Referenzsubstanz in die Testreihe (h-CLAT) aufgenommen. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

### 1.3.11.2 1,4-Butandiol-diglycidylether 002425-79-8

→ ausreichend Tierdaten → <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Ja (relativ)
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Ja (relativ)
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	Ja	Ja (schwach)



1,4-Butandiol-diglycidylether (BDDGE) ist ein wichtiges Humanallergen (Geier, 2010). Die durchgeführte Literaturstudie bestätigt dies und findet ein gehäuftes Auftreten von Kontaktallergien gegen BDDGE, deren Ausprägungsgrad beispielsweise als „stark positiv“ beschrieben war (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). BDDGE ist kaum verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; dennoch ist es das zweithäufigste Allergen unter den Reaktivverdünnern. Immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen 1,6-HDDGE wurden berichtet (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Für BDDGE liegen bisher nur Versuche mit Meerschweinchen vor. Die erzielten Ergebnisse sind teilweise widersprüchlich. Während in einem GPM Test auf Basis der Daten eine Einordnung in die Kategorie HS eindeutig ist (75-85 % Positive bei intradermaler Induktion mit 1%), kann in einem anderen GPMT keine

Kategoriezuordnung stattfinden (3-25 % Positive bei intradermaler Induktion mit 1 %). Vehikel war in beiden Fällen destilliertes Wasser. In einem weiteren GPMT kommt es zu einer Einstufung in die Kategorie GMS (60 % Positive bei intradermaler Induktion mit 5 % in Aceton). In diesem Test kann aus formalen Gründen (Wahl der intradermalen Induktionsdosis von > 1 %) nie eine Einstufung in die Kategorie HS erfolgen, unabhängig vom erzielten Ergebnis. In zwei Nicht-Adjuvans Tests erfolgte die Induktion durch intradermale Applikationen. Die Einstufungskriterien der Standard Nicht-Adjuvans Tests beziehen sich allerdings auf topisch applizierte Substanzmengen. In unserem Test kommt es, ausgelöst durch die intradermale Substanzapplikation, somit zu einer höheren Sensitivität im Gegensatz zum Standard Nicht-Adjuvans Test. Im Gegensatz zum Adjuvans Test mit intradermaler Injektion liegt durch die fehlende Gabe des Adjuvans eine geringere Sensitivität vor. Es kann zu einer Unterschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke anhand der erzielten Ergebnisse kommen. Weder die Bewertungsmaßstäbe der Adjuvans Tests noch der Nicht-Adjuvans Tests sind somit passend, um die sensibilisierende Wirkstärke von BDDGE in den Untersuchungen zu bewerten (Test 1: 15 % Positive; Test 2: 85-100 % Positive; jeweils mit 0,1 % BDDGE in Kochsalzlösung).

Anhand der Informationen zum  $\log K_{OW}$  (0,15) und dem  $\log K_P$  (-4,06) kann die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern liegt der  $\log K_{OW}$  Wert im letzten Drittel und der  $\log K_P$  Wert stellt sogar die zweitschlechteste Bewertung dar, d.h. der Inhaltsstoff durchdringt die Hautbarriere weniger gut als andere Reaktivverdünner.

Im Screening der Firma MOLCODE wurde BDDGE von deren QSAR Modell in die schwächste Wirkstärkenkategorie eingeordnet. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff der  $S_N2$  Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten (Humandaten und Tierdaten) erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS. Der Versuch, in dem nur eine Wirkstärke im Bereich der Kategorie GMS identifiziert wurde, spricht dieser Einstufung insofern nicht entgegen, da die Möglichkeit einer generell höheren Wirkstärke besteht und eine niedrige Einstufung aus den formalen Bedingungen resultierte.**

**Anmerkung:** Eine Kreuzreaktivität zwischen BDDGE und dem chemisch eng verwandten 1,6-Hexandiol-diglycidylether ist beschrieben.

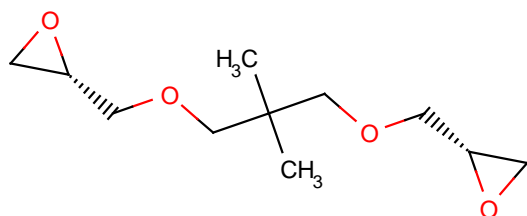
**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (DPRA und KeratinoSens™) der verschiedenen Glycidylether sollte auch BDDGE umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Reaktivverdünner zu gewährleisten.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** BDDGE wurde als Referenzsubstanz in die Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT) aufgenommen. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

### 1.3.11.3 Neopentylglykol-diglycidylether

017557-23-2

→ nur 1 <i>in vivo</i> Test → <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 1 Test)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Ja (relativ)
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Ja (relativ)
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die vorhandenen Humanbefunde zu Neopentylglykol-diglycidylether erlauben keine Beurteilung der sensibilisierenden Wirkstärke (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Anhand der erzielten Ergebnisse aus einem Test an Meerschweinchen (GPMT) kommt es zu einer Einstufung in die Kategorie GMS (87 % Positive bei intradermaler Induktion mit 5 % in Aceton). In diesem Test kann aus formalen Gründen (Wahl der intradermalen Induktionsdosis von > 1 %) nie eine Einstufung in die Kategorie HS erfolgen, unabhängig vom erzielten Ergebnis.

Anhand der Informationen zum log K<sub>OW</sub> (0,23) und dem log K<sub>P</sub> (-3,87) kann die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern liegt der log K<sub>OW</sub> Wert im Mittelfeld und der log K<sub>P</sub> Wert im unteren Drittel.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff eine Wirkung über der S<sub>N</sub>2 Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Auf Basis der dürftigen Datenverfügbarkeit erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Als Default-Vorgehen wird für den so zu bewertenden Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

**Testvorschlag:** Durchführung einer *in vitro* Reihentestung gemeinsam mit anderen Mono-, Di- und Triglycidylethern im optimierten DPRA (Peptidreaktivität/Haptenisierung) und dem KeratinoSens™. Die Eignung dieser Testsysteme für die Glycidylether wurde bereits bei deren Anwendung auf Butyl-glycidylether und Phenyl-glycidylether bewiesen. Auf Basis der verfügbaren Zuordnung der Sensibilisierungsstärke von Butyl-glycidylether, Phenyl-glycidylether sowie 1,4-Butandiol-diglycidylether scheint eine Einordnung für Neopentylglykol-DGE sehr wahrscheinlich. Zudem kann dadurch ein aussagekräftiger Vergleich der relativen Sensibilisierungsstärke angestellt werden.

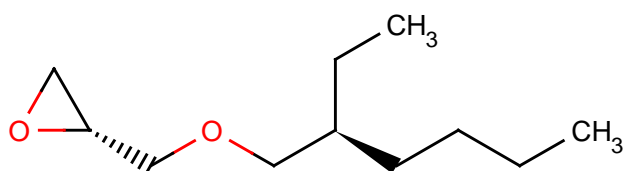
**Projektbezogene *in vitro* Testung:** Neopentylglykol-diglycidylether wurde in die Testreihe (KeratiSens™ und h-CLAT) aufgenommen. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

**Anmerkung:** Neopentylglykol-DGE ist strukturell mit Butandiol- und Hexandiol-DGE verwandt. Sollte für diese Substanzen eine Veränderung der Einstufung vorgenommen werden, ist es vernünftig, dies für Neopentyl-DGE ebenfalls in Betracht zu ziehen.

#### 1.3.11.4 2-Ethylhexylglycidylether

002461-15-6

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
5. T-Zellreaktion	–	–	
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Für den Inhaltsstoff liegen keine Humanbefunde vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3) und es konnten auch keine Tierdaten bezüglich der sensibilisierenden Eigenschaften von

2-Ethylhexylglycidylether gefunden werden.

Anhand der Informationen zum log K<sub>OW</sub> (2,97) und dem log K<sub>P</sub> (-1,74) kann die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Der log K<sub>OW</sub> liegt im Bereich der maximalen Absorption (2) und der log K<sub>P</sub> befindet sich im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern oberen Drittel, d.h. der Inhaltsstoff durchdringt die Hautbarriere besser als zwei Drittel der anderen Reaktivverdünner.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff eine Wirkung über der S<sub>N</sub>2 Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Auf Basis der dürftigen Datenverfügbarkeit erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Als Default-Vorgehen wird für den so zu bewertenden Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

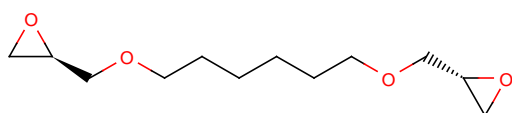
**Hinweis:** Die Substanz ist 2013 für die Registrierung innerhalb von REACH vorgesehen. Eventuell sind zusätzliche Informationen aus dem Registrierungsdossier zu erwarten.

**Anmerkung:** Es wird davon ausgegangen, dass es aufgrund der zu erwartenden Zusatzinformation aus REACH und außerdem durch die relativen Vergleichsdaten von DGE und C12/C14-GE möglich ist, mittels Datenübertrag von den strukturverwandten Substanzen eine Einordnung in die Wirkstärkekategorien zu treffen.

**Testvorschlag optional:** Die Prüfung des 2-Ethylhexylglycidylethers innerhalb der Reihentestung der Reaktivverdünner (DPRA und KeratinoSens™) wäre zu begrüßen, ist jedoch aus oben genannten Gründen nicht ausdrücklich erforderlich.

### 1.3.11.5 1,6-Hexandiol-diglycidylether 016096-31-4

→ nur 2 <i>in vivo</i> Tests → <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		ja	Ja (nur 2 Tests)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b> 1. Bioverfügbarkeit 2. Haptenisierung 3. Keratinozytenreaktion 4. Migration&Reifung DCs 5. T-Zellreaktion	Ja – Ja Ja –	Nein (gute Biov.) – Ja (relativ) Ja (relativ) –
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



1,6-Hexandiol-diglycidylether (HDDGE) ist ein wichtiges Humanallergen (Geier, 2010). Die durchgeführte Literaturstudie bestätigt dies und findet beispielsweise, dass HDDGE in der

EPOX 2002 Studie das häufigste Allergen unter den Reaktivverdünnern ist (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). HDDGE ist weit verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe. Es ist das häufigste Allergen unter den Reaktivverdünnern und weist immunologische Kreuzreaktionen mit 1,4-BDDGE auf (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Für HDDGE liegen die Ergebnisse zweier Tierversuche vor. Im Standard LLNA wird eine sensibilisierende Wirkstärke der Kategorie HS beschrieben. Die Experimentatoren schätzen, dass das erzielte Ergebnis aus dem LLNA mit Aceton eine Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke darstellen könnte. Sie stützen Ihre Aussage mit Ergebnissen aus vergleichenden Versuchen an anderen Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen, die in verschiedenen Vehikeln getestet wurden (formale SHS Prüfung; siehe Z.B. 1.3.5.6 und 1.3.11.8; Gamer et al., 2008). Andererseits wird in einem Adjuvans Test („Maurer Optimisation Test“) die Einschätzung der hohen Sensibilisierungsstärke bestätigt (100 % Positive bei intradermaler Induktion mit 0,1 % in Propylenglykol/physiologische Kochsalzlösung (1:1)).

Es liegen nur *in vitro* Ergebnisse zur dermalen Absorption vor. *In vitro* Absorptionsversuche bestätigen die dermale Aufnahme von HDDGE. Für die

menschlichen Hautproben wird ein Permeabilitätskoeffizient ( $K_P$ ) von 0,000136 cm/h gefunden. Die Substanzabsorption durch die menschliche Hautprobe ist ca. 2-4fach geringer als in die Nagerhaut. Der erzielte  $K_P$  Wert stimmt in der Größenordnung mit dem aus der EPI Suite™ (0,000295 cm/h) überein. Die Bioverfügbarkeit wird anhand der Informationen zum  $\log K_{OW}$  (0,84) und dem  $\log K_P$  (-3,51) abgeschätzt. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern liegt der  $\log K_{OW}$  Wert im oberen Drittel, der  $\log K_P$  allerdings im letzten Drittel.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff, wie auch für die anderen Mono- und Diglycidylether, eine Wirkung über der  $S_N2$  Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit:** Zunächst konnte HDDGE auf Basis der Unsicherheit aus dem LLNA und der insgesamt eher spärlichen Datenlage nur der Kategorie U zugeordnet werden, obwohl deutlich Tendenzen in Richtung der Kategorie HS vorlagen. Nach der Durchführung weiterer *in vitro* Testungen innerhalb dieses Projekts, konnte HDDGE auf Basis der vergleichbaren Ergebnisse mit dem BDDGE in die Kategorie HS eingeordnet werden (siehe auch 1.3.12).

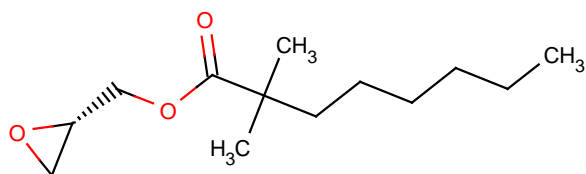
**Anmerkung:** Eine Kreuzreaktivität zwischen HDDGE und dem chemisch eng verwandten 1,4-Butandiol-diglycidylether ist beschrieben.

**Testvorschlag:** Durchführung einer *in vitro* Reihentestung gemeinsam mit anderen Mono-, Di- und Triglycidylethern im optimierten DPRA (Peptidreaktivität/Haptensierung) und dem KeratinoSens™. Die Eignung dieser Testsysteme für die Glycidylether wurde bereits bei deren Anwendung auf Butyl-glycidylether und Phenyl-glycidylether bewiesen. Auf Basis der verfügbaren Zuordnung der Sensibilisierungsstärke von Butyl-glycidylether, Phenyl-glycidylether sowie 1,4-Butandiol-diglycidylether scheint eine Einordnung für HDDGE sehr wahrscheinlich. Zudem kann dadurch ein aussagekräftiger Vergleich der relativen Sensibilisierungsstärke angestellt werden.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** HDDGE wurde in die Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT) aufgenommen. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

### 1.3.11.6 Versaticsäureglycidylester (z.B. Cadura E 10) 2,3-epoxypropyl neodecanoate 026761-45-5

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Wenig	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
5. T-Zellreaktion	–	–	
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die vorliegenden Humanbefunde erlauben keine Beurteilung der sensibilisierenden Wirkstärke von Versaticsäureglycidylester (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Die Ergebnisse aus drei Adjuvans Tests an Meerschweinchen liegen vor. In allen Fällen resultiert eine Einstufung in die Wirkstärkenkategorie GMS (Test 1: 20-45 % Positive bei intradermaler Induktion mit 50 %, der Ausprägungsgrad der Reaktionen wurden von den Autoren als „leicht bis mittelgradig“ beschrieben; Test 2: 95 % Positive bei id. I. mit 50 %; Test 3: 85 % Positive bei id. I. mit 5 % in Aceton). Es ist anzumerken, dass aus formalen Gründen (Wahl der intradermalen Induktionsdosis von > 1 %) nie eine Einstufung in die Kategorie HS erfolgen kann, unabhängig vom erzielten Ergebnis.

Es liegen nur *in vitro* Ergebnisse zur dermalen Absorption vor. *In vitro* Absorptionsversuche bestätigen die dermale Aufnahme von Versaticsäureglycidylester. Die Ergebnisse sind wenig detailliert beschrieben, sodass eine quantitative Bewertung nicht möglich ist. Die Substanzabsorption durch die menschliche Hautprobe ist jedoch ca. 10fach geringer als durch die Nagerhaut. Die Bioverfügbarkeit wird anhand der Informationen zum log K<sub>OW</sub> (3,73) und dem log K<sub>P</sub> (-1,64) abgeschätzt. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern liegt der log K<sub>OW</sub> Wert im Mittelfeld, der log K<sub>P</sub> stellt die zweitbeste Bewertung dar, d.h. der Inhaltsstoff durchdringt die Hautbarriere besser als mindestens die Hälfte der zu bewertenden Reaktivverdünner.

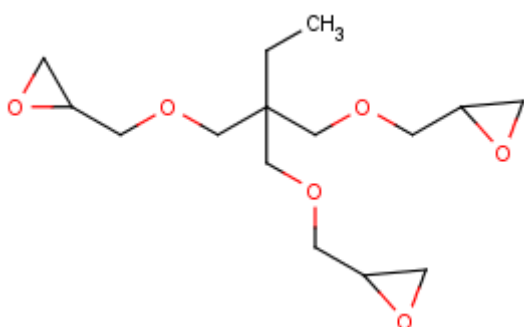
*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff, wie auch für die anderen Mono- und Diglycidylether, eine Wirkung über der S<sub>N</sub>2 Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie GMS. Diese Einordnung wurde getroffen, obwohl die Humanbefunde nicht quantitativ verwertbar sind, nur eine Spezies im Tierversuch untersucht wurde**

und nur einige *in vitro* Untersuchungen der Testbatterie vorliegen. Gestützt wird die Einordnung in die Wirkstärkekategorie GMS durch das Wissen, dass im GPMT erzielte Ergebnisse, die Wirkstärke der geprüften Substanz eher über- als unterschätzen und durch den relativen Vergleich mit anderen Monoglycidylethern (siehe 1.3.12).

### 1.3.11.7 Trimethylolpropan-triglycidylether 030499-70-8

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Wenig	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Ja (relativ)
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Ja (relativ)
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die vorliegenden Humanbefunde erlauben keine Beurteilung der sensibilisierenden Wirkstärke von Trimethylolpropan-triglycidylether (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). Der Inhaltsstoff ist kaum verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe und insgesamt ein seltenes Allergen unter den Reaktivverdünnern (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Es konnten keine Untersuchungen an Tieren gefunden werden, die in Bezug auf die sensibilisierende Wirkstärke des Inhaltsstoffes durchgeführt worden sind.

Anhand der Informationen zum log  $K_{OW}$  (-0,5) und dem log  $K_P$  (-4,9) kann die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern liegt der log  $K_{OW}$  am unteren Ende der Skala und der log  $K_P$  stellt sogar die schlechteste Bewertung dar.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff, wie auch für die anderen Mono- und Diglycidylether, eine Wirkung über der S<sub>N</sub>2 Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit:** Auf Basis der Testergebnisse der *in vitro* Testung im Projekt (KeratinoSens und h-CLAT) ergeben sich Hinweise auf eine Zuordnung in die Kategorie HS. Insgesamt sind jedoch zu wenige Daten vorhanden und so erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Gemäß dem Default-Vorgehen wird



**für den so zu bewertenden Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

**Testvorschlag:** Durchführung einer *in vitro* Reihentestung gemeinsam mit anderen Mono-, Di- und Triglycidylethern im optimierten DPRA (Peptidreaktivität/Haptensierung) und dem KeratinoSens™. Die Eignung dieser Testsysteme für die Glycidylether wurde bereits bei deren Anwendung auf Butyl-glycidylether und Phenyl-glycidylether bewiesen. Auf Basis der verfügbaren Zuordnung der Sensibilisierungsstärke von Butyl-glycidylether, Phenyl-glycidylether sowie 1,4-Butandiol-diglycidylether scheint eine Einordnung für Trimethylolpropan-triglycidylether sehr wahrscheinlich. Zudem kann dadurch ein aussagekräftiger Vergleich der relativen Sensibilisierungsstärke angestellt werden.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** Trimethylolpropan-triglycidylether wurde in die Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT) aufgenommen. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

### 1.3.11.8 C12/C14-Monoglycidylether 068609-97-2

→ Tierdaten → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (Biov. gering)
	2. Haptensierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Ja (relativ)
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Nein
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Mit R = C12/C14 Aliphaten

C12/C14-Monoglycidylether ist ein weit verbreiteter Reaktivverdünner. Die vorhandenen Humanbefunde lassen jedoch keine Beurteilung der sensibilisierenden Wirkstärke zu (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Die Untersuchungen zum Inhaltsstoff sowie chemisch ähnlichen Substanzen wurden hauptsächlich mit Meerschweinchen durchgeführt. Vereinzelt gibt es Versuche mit Mäusen (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8. *In vivo* Ergebnisse zu C12/C14-Monoglycidylether und verwandten Substanzen

Quelle	Test	Testmaterial	Ergebniskategorie	Kommentar
Thorgeirsson, 1975	GPMT (A)	Epoxid Nr. 8	GMS*	Id I: 10 %; V: PG; E: 100 % positiv
Thorgeirsson, 1978a	GPMT (A)	1,2-Epoxydodecan	GMS*	Id I: 5 %; V: Ethanol; E: 40 % positiv
Unbekannt (ESR.003)	GPMT (A)	C13/C15-Monoglycidylether	GMS*	Id I: 5 %; V: Erdnussöl; E: 55-85 % positiv
Unbekannt (ESR.001)	Buehler (NA)	Epoxid Nr. 8	HS	I: 5 %; V: Ethanol; E: 100 % positiv**
Unbekannt (ESR.002)	Buehler (NA)	Epoxid Nr. 8	NEG	I: 0,5 %; V: Dowanol DPM + Tween <sup>®</sup> 80; E: 0 % positiv
Gamer et al., 2008	LLNA	C12/C14-Monoglycidylether	HS	V: Aceton; EC3 = 0,6 %
Gamer et al., 2008	LLNA	C12/C14-Monoglycidylether	NEG	V: Aceton/Olivenöl

\* Es handelt sich um eine formale Einordnung in die Kategorie GMS. Diese ist formal richtig, da die im Test verwendete Induktionskonzentration > 1 % liegt und somit zu hoch gewählt wurde, um bei einem entsprechendem Ergebnis eine Einordnung in die Kategorie HS vorzunehmen. Im vorliegenden Fall wurde ein stark positives Ergebnis (ausgelöst durch eine Induktionsdosis >1 %) formal richtig in die Kategorie GMS eingetragen. Aus Sicht der Autoren kann es jedoch sein, dass die reale Sensibilisierungsstärke des geprüften Inhaltsstoffes unter Umständen unterschätzt wird.

\*\*Die Hautreaktionen der Testgruppe werden als „gering“ bis „deutlich ausgeprägt“ beschrieben. Ca. 60 % der Kontrolltiere zeigen „sehr leichte“ Hautreaktionen.

A: Adjuvans Test; NA: Nicht-Adjuvans Test, GPMT: Guinea Pig maximization test; GMS: geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke; HS: hohe Sensibilisierungsstärke; NEG: nicht sensibilisierend; GP: Meerschweinchen; M: Maus; I: Induktionsbehandlung, id: intradermal; V: Vehikel; E: Ergebnis; PG: Propylenglykol

Wie oben zu sehen ist, sind die erzielten Ergebnisse teilweise widersprüchlich. Während im LLNA mit dem Vehikel Aceton eine Einordnung in die Wirkstärkekategorie HS erfolgte, kann bei Verwendung des Standardvehikels nur ein negatives Testergebnis berichtet werden. Die Experimentatoren sagen jedoch, dass das erzielte Ergebnis aus dem LLNA mit Aceton eine Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke darstellt (formale SHS Prüfung). Sie führen auf, dass weder die Struktur-Aktivitätsbetrachtungen, noch dass aus Erfahrungen beim Menschen eine solch stark sensibilisierende Wirkung bestätigen. Eine weitere Einschränkung des Tests ist die Tatsache, dass der Versuch mit Aceton/Olivenöl im selben Konzentrationsbereich wie der Versuch mit Aceton durchgeführt wurde um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Die standardmäßige Testdurchführung würde jedoch die Exposition der maximal möglichen Substanzkonzentration, die keine starke lokale Reizwirkung oder systemische Toxizität auslöst, verlangen. Würde ein Test unter diesen Bedingungen mit AOO als Vehikel durchgeführt, würde die sensibilisierende Wirkung von C12/C14-Monoglycidylether erkannt und möglicherweise ein höherer EC3 Wert bestimmt. Eine Einordnung in die Kategorie GMS wäre wahrscheinlich (Gamer et al., 2008). Es gibt drei Studien, in denen Epoxid Nr. 8 als Testmaterial verwendet wurde. Epoxid Nr. 8 besteht hauptsächlich aus C12/C14-Monoglycidylether, Verunreinigungen können jedoch nicht ausgeschlossen werden. Für die Bewertung der Meerschweinchen

Adjuvans Tests bleibt anzumerken, dass aus formalen Gründen (Wahl der intradermalen Induktionsdosis von  $> 1\%$ ) nie eine Einstufung in die Kategorie HS erfolgen konnte, unabhängig vom erzielten Ergebnis.

Anhand der Informationen zum  $\log K_{OW}$  (7,25) und dem  $\log K_P$  (0,873) kann die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden. Der  $\log K_{OW}$  Wert deutet auf eine geringe Bioverfügbarkeit, während für den Permeabilitätskoeffizienten das beste Ergebnis aller Reaktivverdünner erzielt wurde (d.h. bessere Durchdringung der Hautbarriere). Die zunächst widersprüchlichen Ergebnisse lassen sich aber mathematisch erklären. Der in der EPI Suite™ abgeschätzte  $\log K_{OW}$  Wert stellt den insgesamt höchsten Wert eines Verteilungskoeffizienten dar, der für die hier zu bewertenden Inhaltsstoffe ermittelt wurde. Der  $\log K_{OW}$  fließt in die Berechnung des  $K_P$  Wertes mit ein und beeinflusst diesen positiv (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1, Abschnitt 1.3.1.2). Je höher also der  $K_{OW}$ , desto wahrscheinlicher ist ein hoher  $\log K_P$  Wert. Aber die maximale Absorption wird bei einem  $\log K_{OW}$  von 2 angenommen. Weicht ein gefundener Wert davon ab wie in unserem Beispiel, so sinkt die Bioverfügbarkeit entsprechend. Insgesamt wird die Bioverfügbarkeit der C12/C14-Monoglycidylether als gering bewertet.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff, wie auch für die anderen Mono- und Diglycidylether, eine Wirkung über der  $S_N2$  Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Auf Basis der widersprüchlichen Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Dem Default-Vorgehen entsprechend, wird dem so bewerteten Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

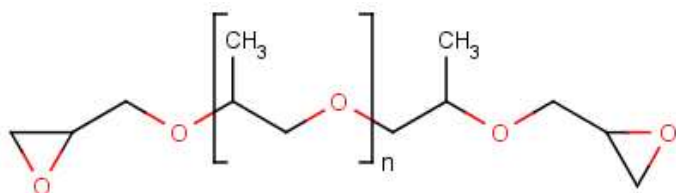
**Anmerkung:** In einem Versuch (GPMT) werden nach Induktion durch C12/C14-Monoglycidylether ebenfalls positive Reaktionen bei Verwendung von Butylglycidylether, Kresylglycidylether oder einem nicht näher spezifizierten Epoxidharz, als auslösendem Agens, beobachtet (Hinweis auf Kreuzreaktivität).

**Testvorschlag:** Zur Klärung der Widersprüche sollten C12/C14-Monoglycidylether in die *in vitro* Reihentestung anderen Mono-, Di- und Triglycidylethern im optimierten DPRA (Peptidreaktivität/ Haptenisierung) und dem KeratinoSens™ aufgenommen werden. Es ist davon auszugehen, dass durch den relativen Vergleich und auf Basis der verfügbaren Zuordnung der Sensibilisierungsstärke von Butyl-glycidylether und Phenyl-glycidylether eine Einordnung der C12/C14-Monoglycidylether möglich wird.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** C12/C14-Monoglycidylether wurde in die Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT) aufgenommen. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

### 1.3.11.9 Polypropylenglykoldiglycidylether/ Polyoxypropylen-diglycidylether 026142-30-3

→ kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	–	–
	2. Haptensierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Ja (relativ)
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Ja (relativ)
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	–	–
	Molcode (LLNA)	–	–



Es liegen keine Humandaten für den Inhaltsstoff vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Die Bewertung des Polypropylenglykoldiglycidylether erfolgt gemeinsam mit dem Dipropylenglykol-diglycidylether in Abschnitt 1.3.11.11.

**Hinweis:** Eventuell ergibt sich aus den neuen Testdaten zu Dipropylenglykol-DGE und dem Hinweis auf eine geringere Wirkstärke von Polymeren eine Zuordnung in die Kategorie GMS. Eine solche Zuordnung in die Kategorie GMS hätte nur Bestand unter der Voraussetzung, dass die Monomere im angewandten Epoxidharzsystem den allgemeinen Konzentrationsgrenzwert von 0,1 % nicht erreichen bzw. überschreiten. Falls dies doch der Fall sein sollte, ist die Bewertung des Monomers heranzuziehen.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** Polypropylenglykoldiglycidylether wurde in die Testreihe (KeratioSens™ und h-CLAT) aufgenommen, da keine Probe des Dipropylenglykol-DGEs (siehe unten) erhältlich war. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

### 1.3.11.10 Polypropylene glycol chloromethyloxirane polymer 009072-62-2

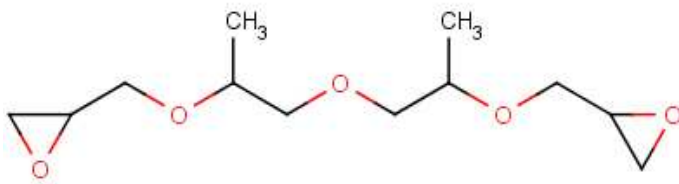
		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	-	-
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	-	–
	4. Migration&Reifung DCs	-	–
	5. T-Zellreaktion	-	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–

Es liegen keine Humandaten für den Inhaltsstoff vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). Die Bewertung dieses Inhaltsstoffes wird zusammen mit dem unter Abschnitt 1.3.11.11 besprochenen Dipropylenglykol-diglycidylether durchgeführt.

**Hinweis:** Eventuell ergibt sich aus den neuen Testdaten zu Dipropylenglykol-DGE und dem Hinweis auf eine geringere Wirkstärke von Polymeren eine Zuordnung in die Kategorie GMS. Eine solche Zuordnung in die Kategorie GMS hätte nur Bestand unter der Voraussetzung, dass die Monomere im angewandten Epoxidharzsystem den allgemeinen Konzentrationsgrenzwert von 0,1 % nicht erreichen bzw. überschreiten. Falls dies doch der Fall sein sollte, ist die Bewertung des Monomers heranzuziehen.

### 1.3.11.11 Dipropylenglycoldiglycidylether 041638-13-5

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Es liegen keine Humandaten für den Inhaltsstoff vor (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3) und es konnten keine Tierdaten für den Inhaltsstoff gefunden werden.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass für Dipropylenglykol-diglycidylether noch eine gute Bioverfügbarkeit vorhergesagt werden kann ( $\log K_{OW} = -0,57$ ;  $\log K_P = -4,63$ ). Im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern liegen beide Werte aber am unteren Ende der Skala.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff, wie auch für die anderen Mono- und Diglycidylether, eine Wirkung über der  $S_N2$  Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Auf Basis der nur spärlich verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Demzufolge wird dem Inhaltsstoff als Default in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

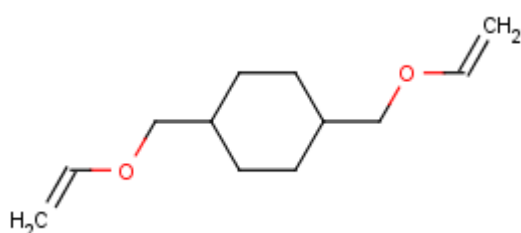
**Anmerkung:** Es gibt eine Reihe von Polypropylenglykol-diglycidylethern mit unterschiedlichen Molekulargewichten. Den Niedermolekularen wird dabei eine sensibilisierende Wirkung unterstellt, wohingegen den Höhermolekularen (Grenze liegt bei  $\sim 500$  Da, siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1, Abschnitt Bioverfügbarkeit/Hautdurchdringung) diese Eigenschaft eher fehlt (persönliche Kommunikation mit Dr. Rouw, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin).

**Testvorschlag:** Durchführung einer *in vitro* Reihentestung gemeinsam mit anderen Mono-, Di- und Triglycidylethern im optimierten DPRA (Peptidreaktivität/Haptensierung) und dem KeratinoSens™. Die Eignung dieser Testsysteme für die Glycidylether wurde bereits bei deren Anwendung auf Butyl-glycidylether und Phenyl-glycidylether bewiesen. Auf Basis der verfügbaren Zuordnung der Sensibilisierungsstärke von Butyl-glycidylether, Phenyl-glycidylether sowie 1,4-Butandiol-diglycidylether scheint eine Einordnung für Dipropylenglykol-diglycidylether sehr wahrscheinlich. Zudem kann dadurch ein aussagekräftiger Vergleich der relativen Sensibilisierungsstärke angestellt werden.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** Anstelle des Dipropylenglykol-DGE wurde der Polypropylenglykol (siehe oben) in die Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT) aufgenommen. Trotz der Hilfestellung von Herrn Geier (IVDK) und aus dem Begleitkreis (Frau Emminger, Huntsman) konnte das Testmaterial nicht beschafft werden.

### 1.3.11.12 Cyclohexandimethanol-diglycidyl(divinyl)ether 017351-75-6

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Nein	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Ja (relativ)
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Nein
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	Metabolit	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Es liegen keine Humandaten für Cyclohexandimethanol-divinylether vor. Der vorhandene Fallbericht bezieht sich auf Cyclohexandimethanol-diglycidylether und erlaubt keine Aussage über dessen sensibilisierende Wirkstärke (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3).

Es sind keine Tierdaten für Cyclohexandimethanol-divinylether bzw. –diglycidylether berichtet.

Anhand der Informationen zum  $\log K_{OW}$  (3,03) und dem  $\log K_P$  (-1,76) kann die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern liegt der  $\log K_{OW}$  und der  $\log K_P$  immer im oberen Drittel der Bewertungen.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wurde dem Inhaltsstoff keine Proteinreaktivität zugesprochen. Die in der QSAR Toolbox implementierten Proteinbindungsmodelle finden, dass wiederum nicht der Inhaltsstoff selbst, sondern einer der zwei identifizierten Metabolite proteinreaktiv ist. Der Metabolit wird bezüglich der Proteinreaktivität in die Gruppe der „Acylating Agents“ eingeordnet.

**Fazit: Auf Basis der spärlichen Datenverfügbarkeit erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Als Default-Vorgehen wird für den so zu bewertenden Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

**Anmerkung:** In TOXTREE wurde Cyclohexandimethanol-diglycidylether als proteinreaktiver Stoff identifiziert und, wie auch für die anderen Mono- und Diglycidylether, eine Wirkung über der  $S_{N2}$  Mechanismus vorhergesagt.

**Testvorschlag:** Durchführung einer *in vitro* Reihentestung gemeinsam mit anderen Mono-, Di- und Triglycidylethern im optimierten DPRA (Peptidreaktivität/Haptenisierung) und dem KeratinoSens™. Die Eignung dieser Testsysteme für die Glycidylether wurde bereits bei deren Anwendung auf Butyl-glycidylether und Phenyl-

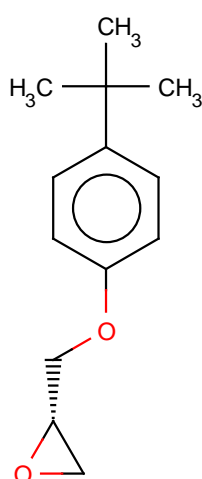
glycidylether bewiesen. Auf Basis der verfügbaren Zuordnung der Sensibilisierungsstärke von Butyl-glycidylether, Phenyl-glycidylether sowie 1,4-Butandiol-diglycidylether scheint eine Einordnung für Cyclohexandimethanol-divinylether möglich. Zudem kann dadurch ein aussagekräftiger Vergleich der relativen Sensibilisierungsstärke angestellt werden. Zusätzlich sollte der Cyclohexandimethanol-diglycidylether in die Testreihe mitaufgenommen werden.

**Projektbezogene in vitro Testung:** Cyclohexandimethanol-diglycidylether wurde in die Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT) aufgenommen. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

### 1.3.11.13 p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether

003101-60-8

→ nur 1 <i>in vivo</i> Test → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Wenig	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 1 Test)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Die vorliegenden Humanbefunde reichen nicht aus, um eine abschließende Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke von p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether durchzuführen. Die relativ hohe Sensibilisierungsquote, trotz einer eher geringen Verbreitung, spricht allerdings dafür, dass es sich bei dem Inhaltsstoff um ein starkes Allergen handeln könnte (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). P-tert.-Butylphenol-monoglycidylether ist kaum verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; dennoch ist es ein sehr häufiges Allergen unter den Reaktivverdünnern. Eine immunologische Kreuzreaktionen mit PGE und Kresyl-GE ist beschrieben (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Es liegt nur ein Ergebnis aus dem LLNA vor. Der in den Mäusen erzielte EC3 Wert lässt eine Zuordnung in die Kategorie HS zu. Eine Zuordnung in die Kategorie SHS wäre zu prüfen. Andererseits vermuten die Experimentatoren, dass das erzielte Ergebnis aus dem LLNA mit Aceton eine Überschätzung der sensibilisierenden Wirkstärke darstellen könnte. Sie stützen Ihre Aussage mit Ergebnissen aus vergleichenden Versuchen an anderen Inhaltsstoffen von Epoxidharzsystemen, die in verschiedenen Vehikeln getestet wurden (formale SHS Prüfung; siehe Z.B. 1.3.5.6 und 1.3.11.8).



Anhand der Informationen zum log  $K_{OW}$  (3,52) und dem log  $K_P$  (-1,47) kann die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern liegt der log  $K_{OW}$  und der log  $K_P$  immer im oberen Drittel der Bewertungen.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff, wie auch für die anderen Mono- und Diglycidylether, eine Wirkung über der  $S_{N2}$  Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Auf Basis der wenigen Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie U. Als Default-Vorgehen wird für den so zu bewertenden Inhaltsstoff in unserem Ansatz eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt.**

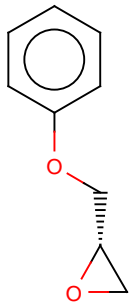
**Hinweis:** Die Substanz ist 2013 für die Registrierung innerhalb von REACH vorgesehen. Eventuell sind zusätzliche Informationen aus dem Registrierungsdossier zu erwarten.

**Anmerkung:** Die Einstufung als hautsensibilisierend beruht nur auf Herstellerangaben. Für den Inhaltsstoff liegt keine offizielle Einstufung vor.

**Testvorschlag:** Durchführung einer *in vitro* Reihentestung gemeinsam mit anderen Mono-, Di- und Triglycidylethern im optimierten DPRA (Peptidreaktivität/Haptensierung) und dem KeratinoSens™. Die Eignung dieser Testsysteme für die Glycidylether wurde bereits bei deren Anwendung auf Butyl-glycidylether und Phenyl-glycidylether bewiesen. Auf Basis der verfügbaren Zuordnung der Sensibilisierungsstärke von Butyl-glycidylether, Phenyl-glycidylether sowie 1,4-Butandiol-diglycidylether scheint eine Einordnung für p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether möglich. Zudem kann dadurch ein aussagekräftiger Vergleich der relativen Sensibilisierungsstärke angestellt werden.

#### 1.3.11.14 Phenylglycidylether 000122-60-1

→ ausreichend Tierdaten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptensierung	Ja	Ja (nur relativ)
	3. Keratinozytenreaktion	Ja	Ja (nur relativ)
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Nein
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	$S_{N2}$	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Auf Basis aller Befunde wird Phenylglycidylether in der Literaturstudie als starkes Humanallergen eingeordnet (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). PGE ist fast nicht verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe; dennoch aber ein sehr häufiges Allergen unter den Reaktivverdünnern. Immunologische Kreuzreaktionen bei primärer Sensibilisierung gegen DGEBA-Harz wurden berichtet (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

Für Phenylglycidylether liegt eine Vielzahl an Untersuchungen an Tieren vor. Das Ergebnis eines Versuchs an Mäusen (LLNA) führt zur Einstufung in die Kategorie HS. Eine Einordnung in die Kategorie SHS ist bei genügend Verdachtsmomenten zu prüfen (formale SHS Prüfung). Nur drei Tests an Meerschweinchen sind jedoch die sensibilisierende Wirkstärke betreffend quantitativ auswertbar. In zwei Adjuvans Tests, sowie in einem nicht standardisierten Nicht Adjuvans Test wurde festgestellt, dass Phenylglycidylether in die Wirkstärkekategorie HS einzuordnen ist. Bei weiteren Tests fehlten entweder Angaben über die verwendeten Konzentrationen oder sogar jegliche Darstellung der erzielten Ergebnisse. In einem Fall ließ das berichtete Ergebnis (ausgedrückt als „total erythema score“) aufgrund fehlender Zusatzinformation keine Interpretation zu und in einem anderen Fall fehlten die Bewertungsstandards für den nicht-standardisierten Test.

Aus *in vitro* Tests wird deutlich, dass für Phenylglycidylether eine gute Bioverfügbarkeit vorhergesagt werden kann. Die Bioverfügbarkeit wird anhand von Informationen zum  $\log K_{OW}$  und dem  $\log K_P$  abgeschätzt. Der  $\log K_{OW}$  liegt im Bereich der maximalen Absorption und der  $\log K_P$  befindet sich im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern im Mittelfeld. Die Prüfung der Proteinreaktivität fand im Rahmen einer Reihenuntersuchung verschiedener Phenylglycidylether statt. Im Peptiddepletionsversuch war PGE mit 88 % gemessenem Peptidschwund die aktivste Substanz im Test. Gemäß unseren Bewertungsmaßstäben führt der ermittelte Zahlenwert zur Einordnung von PGE in die Kategorie HS. Aus den Ergebnissen des KeratinoSens™ wurde deutlich, dass der Inhaltsstoff in der Lage ist, eine Keratinozytenreaktion auszulösen. Eine quantitative Auswertung der Ergebnisse in Bezug auf die sensibilisierende Wirkstärke ist nicht möglich, da Bewertungsmaßstäbe für den Test fehlen. Allerdings kann eine relative Betrachtung durchgeführt werden, da z.B. auch Butyl-glycidylether getestet wurde. PGE ist gemäß den erzielten Ergebnissen im KeratinoSens™ stärker wirksam als BGE (Basis Vergleich der erzielten EC<sub>1,5</sub> Werte). Es liegen keine weiteren *in vitro* Befunde vor.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff, wie auch für die anderen Mono- und Diglycidylether, eine Wirkung über der S<sub>N</sub>2 Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Auf Basis der verfügbaren Daten erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS. Eine Einordnung in die Kategorie SHS bei Vorlage neuer Daten bleibt zu prüfen.**

**Anmerkung:** Kreuzreaktionen mit verschiedenen Epoxidharzen auf Basis von Bisphenol A oder Bisphenol F, sowie anderen Phenylglycidylethern (z.B. p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether und Kresyl-GE) sind belegt.

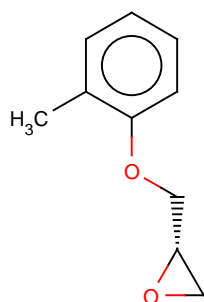
**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R45: Kann Krebs erzeugen; R68: Irreversible Schäden möglich).

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (DPRA und KeratinoSens™) der verschiedenen Glycidylether sollte auch PGE umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Reaktivverdünner zu gewährleisten.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** PGE wurde als Referenzsubstanz in die Testreihe (KeratinoSens™ und h-CLAT) aufgenommen. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

### 1.3.11.15 o-Kresylglycidylether 002210-79-9

		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		–	–
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptensierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	–	–
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–



Es liegen wenige Humandaten vor, die sich ausdrücklich auf den o-Kresylglycidylether beziehen. Eine Beurteilung der sensibilisierenden Wirkstärke ist anhand der Daten nicht möglich (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). Für das ortho-Isomer des Kresylglycidylethers liegen weder gesondert Tierdaten, noch *in vitro* oder *in silico* Befunde vor. Die Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke wird auf Basis der verfügbaren Daten zum Isomerenmischung getroffen (siehe 1.3.11.16). Eine Einzelsubstanzbewertung scheint an dieser Stelle nicht sinnvoll.

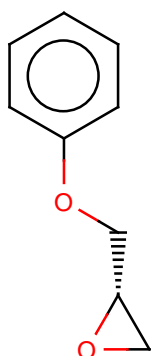
**Hinweis:** Die Substanz ist 2013 für die Registrierung innerhalb von REACH vorgesehen. Eventuell sind zusätzliche Informationen aus dem Registrierungsdossier zu erwarten.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** Der o-Kresylglycidylether wurde als Referenzsubstanz in die Testreihe (h-CLAT) aufgenommen, da keine Probe des Isomerenmischung (siehe unten) erhältlich war. Das Ergebnis wird in Zusammenhang mit den Ergebnissen für andere Inhaltsstoffe in Abschnitt 1.3.12 dargestellt und diskutiert.

## 1.3.11.16 Kresylglycidylether, Isomerengemisch

026447-14-3

→ nur 1 <i>in vivo</i> Test → kaum <i>in vitro</i> Daten		Vorhanden?	Quantifizierung möglich?
Humandaten (Schritt A)		Ja	Siehe IVDK Bericht
Tierdaten (Schritt B)		Ja	Ja (nur 1 Test)
<i>In vitro</i> (Schritt C)	<b>Testbatterie</b>		
	1. Bioverfügbarkeit	Ja	Nein (gute Biov.)
	2. Haptenisierung	–	–
	3. Keratinozytenreaktion	–	–
	4. Migration&Reifung DCs	Ja	Nein
	5. T-Zellreaktion	–	–
<i>In silico</i> (Schritt D)	Mechanistische Domäne	S <sub>N</sub> 2	Nein
	Molcode (LLNA)	–	–

A — CH<sub>3</sub>

Auf Basis der Humanbefunde kann keine Beurteilung der sensibilisierenden Wirkstärke durchgeführt werden (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.4.3). Die Kresylglycidylether sind kaum verbreitet in Epoxidharz-Systemen für das Baugewerbe. Selten kommt es zu einer isolierten Sensibilisierung gegenüber einem einzelnen Isomer. Immunologische Kreuzreaktionen mit PGE und p-tert-Butylphenol-monoglycidylether sind beschrieben (siehe Teilbericht 5.4.1, Tabelle 5.1).

In einem Nicht-Adjuvans Test an Meerschweinchen wird eine hohe Sensibilisierungsstärke (Kategorie HS) des nicht weiter spezifizierten Kresylglycidylethers gefunden. In einem ähnlichen Test ist keine Quantifizierung der sensibilisierenden Wirkstärke möglich, da die zur Induktion verwendete Konzentration nicht genannt war. Es wurde jedoch eine stark positive Reaktion (100 %) gefunden. In beiden Untersuchungen wurde ein Gemisch aus Dowanol DPM und Tween<sup>®</sup> 80 als Vehikel verwendet.

Anhand der Informationen zum log K<sub>OW</sub> (2,16) und dem log K<sub>P</sub> (-2,16) kann die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden. Insgesamt wird diese als gut bewertet. Der log K<sub>OW</sub> liegt im Bereich der maximalen Absorption und der log K<sub>P</sub> befindet sich im Vergleich mit den anderen Reaktivverdünnern im Mittelfeld.

*In silico* Ergebnisse liegen nur in Bezug auf die Proteinreaktivität vor. In TOXTREE wird dem proteinreaktiven Inhaltsstoff, wie auch für die anderen Mono- und Diglycidylether, eine Wirkung über der S<sub>N</sub>2 Mechanismus vorhergesagt.

**Fazit: Es erfolgt eine Zuordnung in die Kategorie HS. Die Zuordnung erfolgt, obwohl nur wenige Tierdaten und noch weniger *in vitro* Daten vorhanden sind auf Basis der sehr engen chemischen Verwandtschaft mit dem Phenylglycidylether.**

**Anmerkung:** Kreuzreaktionen mit dem chemisch eng verwandten Phenylglycidylether sind beschrieben.

**Hinweis:** Der Inhaltsstoff ist bezüglich anderer Eigenschaften eingestuft, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (R68: Irreversible Schäden möglich).

**Testvorschlag:** Die *in vitro* Reihentestung (DPRA und KeratinoSens™) der verschiedenen Glycidylether sollte auch Kresylglycidylether umfassen, um die getroffene Bewertung zu bestätigen und einen aussagekräftigen relativen Vergleich der Reaktivverdünner zu gewährleisten.

**Projektbezogene *in vitro* Testung:** Anstelle des Kresylglycidylether-Isomerengemisches wurde der o-Kresylglycidylether (siehe oben) in die Testreihe (h-CLAT) aufgenommen. Trotz der Hilfestellung von Herrn Geier (IVDK) und aus dem Begleitkreis konnte das Testmaterial nicht beschafft werden.

### 1.3.12 Zusammenfassung und relative Bewertung Reaktivverdünner

Von den ursprünglich 16 zu bewertenden Reaktivverdünnern wurden zunächst drei einzeln aufgeführte Inhaltsstoffe gemeinsam mit verwandten Inhaltsstoffen bewertet. Die drei Inhaltsstoffe waren:

- Polypropylenglykol-diglycidylether (CAS Nr.26142-30-3),
- Polypropylenglykol-chlormethyloxiranpolymer (CAS Nr. 9072-62-2) und
- o-Kresylglycidylether (CAS Nr. 2210-79-9).

Im Fall von o-Kresylether wurde auf Basis fehlender Einzelstoffdaten nur eine Bewertung des Isomerengemisches durchgeführt (siehe 1.3.11.16).

Bei Polypropylenglykol-diglycidylether und dem Polypropylenglykol-chlormethyloxiranpolymer handelt es sich, wie bei dem Dipropylenglykol-diglycidylether um ein Reaktionsprodukt aus Propylenglykol und Epichlorhydrin, allerdings mit höherem Molekulargewicht. Das Chlormethyloxiranpolymer beschreibt dabei eigentlich ein Nebenprodukt (persönliche Kommunikation mit Dr. Rouw, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin). Die verwendeten CAS Nummern werden z.B. den flüssigen Epoxidharzen DER™ 732 und DER™ 736 zugeordnet. Den genannten Polymeren konnte zudem keine eindeutige Struktur zugewiesen werden, da sie als Reaktionsgemische mit unterschiedlichen Kettenlängen und verschiedenartiger Monomerreihung vorliegen. Aus diesem Grund fehlen auch *in silico* Ergebnisse, wie sie für viele andere Inhaltsstoffe im vorliegenden Projekt generiert wurden.

Dementsprechend liegt nur für 13 Reaktivverdünner eine Bewertung vor.

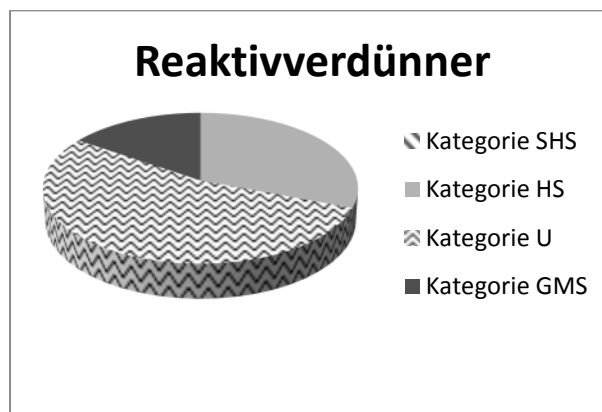


Abbildung 4. Zuordnung der Kategorien sensibilisierender Wirkstärken für die Gruppe der Reaktivverdünner aus Epoxidharzsystemen (n = 13)

Im ersten Zwischenbericht wurde die Datenlage gesichtet (Screening der Verfügbarkeit, beinhaltetete noch keine Detailprüfung der Eignung der Tests) und anhand dieses Ergebnisses eine erste Einschätzung zur Machbarkeit der Einordnung der Inhaltsstoffe bezüglich ihrer sensibilisierenden Wirkstärke getroffen (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.2, Abschnitt „Diskussion“, „Datenlage – Allgemein“ → Ampelsystem, Vergabe der farblichen Markierung pro Substanz in der Datentabelle). Für 4 der ursprünglich 16 zu bewertenden Reaktivverdünner wurde davon ausgegangen, dass eine Bewertung der Wirkstärke auf Basis der verfügbaren Daten möglich ist. In der Tat konnte für diese 4 Reaktivverdünner eine entsprechende Wirkstärkenbewertung durchgeführt werden. Für 12 der Inhaltsstoffe wurde vormals davon ausgegangen, dass aufgrund mangelnder Daten keine Bewertung möglich ist. Für einen dieser Inhaltsstoffe (Kresylglycidylether) konnte allerdings auf Basis von Datenübertragung strukturverwandter Substanzen und Plausibilitätsbetrachtung (z.B. Einstufung bezüglich anderer Eigenschaften) einer Wirkstärkekategorie zugeordnet werden. Für einen weiteren Inhaltsstoff (1,6-HDDGE) konnte auf Basis der vorliegenden Hinweise (Humanbefunde und Tierdaten) und der zusätzlichen Information aus den im Projekt durchgeführten *in vitro* Testungen eine Zuordnung in die Kategorie HS erfolgen.

In Abbildung 4 wird deutlich, dass die Mehrzahl der Reaktivverdünner in die Kategorie U eingeordnet worden ist (54 %). In unserem Ansatz bedeutet dies, dass den Inhaltsstoffen als Default-Vorgehen und solange bis neue, aussagekräftige Daten vorliegen, eine hohe Sensibilisierungsstärke unterstellt wird. In einem Fall wurde keine Zuordnung getroffen, da aus den widersprüchlichen Daten kein klares Bild der zu bewertenden Eigenschaften entstand (C12-C14-Monoglycidylether). In den anderen Fällen waren zu wenige Daten vorhanden (d.h. maximal ein Ergebnis aus dem Tierversuch plus ungenügende Daten aus *in vitro* und *in silico* Ansätzen).

Vier Inhaltsstoffe (31 %) wurden der Kategorie HS zugeordnet (Phenylglycidylether und die Kresylglycidylether, sowie 1,4-Butandiol-DGE und 1,6-Hexandiol-DGE). Die zwei Inhaltsstoffe, Butyl-glycidylether und Versaticsäureglycidylether, wurden in die Gruppe mit geringer bis mäßiger Sensibilisierungsstärke eingereiht (15 %).

In insgesamt vier Fällen liegen Hinweise vor, die auf eine mögliche Umkategorisierung der Inhaltsstoffe deuten. Bei Phenylglycidylether handelt es sich

dabei um einen Umstufung aus der Kategorie HS in die Kategorie SHS. Falls diese Umstufung stattfindet, müsste über mögliche Konsequenzen für die Inhaltsstoffe p-tert-Butylphenolglycidylether und die Kresylether nachgedacht werden, da diese Inhaltsstoffe in Analogie zu Phenylglycidylether bewertet wurden. Die Ergebnisse aus zusätzlichen Testungen wären für diese Bewertung hilfreich (Testvorschläge siehe Beschreibung im Text unten).

Bei drei Inhaltsstoffen der Kategorie U liegen verstärkt Hinweise auf eine mögliche Kategoriezuordnung vor. In diesen Fällen liegt eine Einordnung in die Kategorie GMS nahe (C12/C14-Monoglycidylether; Polypropylenglykol-diglycidylether; Polypropylenglykol chlormethyloxiran polymer). Die Einstufung hängt dabei meist von neu durchzuführenden Testungen ab (Testvorschläge siehe Beschreibung im Text unten).

Die durchgeführte Bewertung beruht größtenteils auf den vorliegenden Inhaltsstoffdaten. Aber auch Regeln, wie sie Niklasson und Kollegen aufstellten, wurden ggf. berücksichtigt (Regeln siehe FP-0324, Teilprojekt 5.2; Abschnitt Diskussion Datenlage). In der Arbeit von Niklasson und Mitarbeitern (2009) liegen Ergebnisse zu den Inhaltsstoffen

- Phenylglycidylether (CAS Nr. 122-60-1) und
- Butyl-glycidylether (CAS Nr. 2426-08-6)

vor.

Letztlich kann im vorliegenden Projekt nur auf die Regel bezüglich des Vorhandenseins eines aromatischen Rings versus azyklischer Epoxid zurückgegriffen werden (stark versus weniger stark sensibilisierend). Diese wird auf die beiden Modellsubstanzen Butyl-glycidylether und Phenyl-glycidylether angewandt. Anhand der verfügbaren Daten wurde für BGE eine Einstufung in die Kategorie GMS vorgenommen, wohingegen PGE mindestens in die Kategorie HS einzustufen ist.

Die Gruppe der bewerteten Reaktivverdünner lässt sich weiterhin in folgende Untergruppen aufteilen: die Gruppe der Monoglycidylether (GE) und die Gruppe der Diglycidylether (DGE). Die Gruppe der GE umfasst 8 Vertreter (MW: 130 bis ~260), die Gruppe der DGE 6 Inhaltsstoffe (MW: 202 bis ~300; Cyclohexandimethanol-DGE wurde mitgezählt, wohingegen die oben erwähnten Polymere aus Propylenglykol und Epichlorhydrin nicht berücksichtigt wurden).

Von der amerikanischen Kommission für Produktsicherheit ("US Consumer Product Safety Commission") werden Diglycidylether mit einem Molekulargewicht unter 200 M als „stark sensibilisierend“ eingeschätzt (ICCVAM, 2011). Die Bewertung beruht auf einer „weight-of-evidence“ Betrachtung, die die Häufigkeit der Exposition, den Schweregrad der Reaktion, sowie die benötigte Dosis, welche für das Auslösen der Reaktion verantwortlich ist, miteinbezieht (USA Federal hazardous substance act 15 U.S.C.1261). Im vorliegenden Bericht liegen allerdings keine Diglycidylether mit so geringen Molekulargewichten vor. Der Beschreibung am nächsten liegt der 1,4-Butandiol diglycidylether mit 202 g/mol. Ausgehend von dieser Bewertung wird auch die Einordnung des BDDGE in die Kategorie HS vorgeschlagen.

Für die Bewertung der noch nicht eingeordneten Reaktivverdünner wird die Durchführung einer *in vitro* Reihentestung verschiedener Mono-, Di- und Triglycidylethern im optimierten DPRA (Peptidreaktivität/ Haptenisierung) und dem

KeratinoSens™ vorgeschlagen. Die Eignung dieser Testsysteme für die Glycidylether konnte durch deren Anwendung auf Butyl-glycidylether und Phenyl-glycidylether bewiesen werden. Auf Basis der verfügbaren Zuordnung der Sensibilisierungsstärke einiger Glycidylether und eines Diglycidylethers scheint eine Einordnung der noch mit U bezeichneten Inhaltsstoffe als wahrscheinlich. Zudem kann durch eine Reihentestung ein aussagekräftiger Vergleich der relativen Sensibilisierungsstärke angestellt werden. Die Testreihe sollte folgende Substanzen umfassen:

- Butyl-Glycidylether (BGE → für Aussagekraft des relativen Vergleichs)
- 2-Ethylhexylglycidylether (optional; Bewertung kann evtl. über Read-across erfolgen)
- C12/C14-Monoglycidylether
- Phenyl-GE (PGE → für Aussagekraft des relativen Vergleichs)
- Kresyl-GE (→für Aussagekraft des relativen Vergleichs)
- p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether
- 1,4-Butandiol-diglycidylether (BDDGE → für Aussagekraft des relativen Vergleichs)
- Neopentyl-DGE
- 1,6-Hexandiol-DGE (HDDGE)
- Dipropylen-DGE
- Trimethylolpropan-triglycidylether
- Cyclohexandimethanol-divinylether
- Cyclohexandimethanol-diglycidylether

#### – **Ergebnisse der projektbezogenen *in vitro* Testung**

Wie oben und in Teilbericht 5.1a dargestellt, wurde im Zwischenbericht auf vorhandene Datenlücken hingewiesen. Es wurde versucht, diese teilweise durch *in vitro* Tests zu schließen. Für eine Auswahl der oben aufgeführten möglichen Testsubstanzen wurden die Keratinozytenreaktion im KeratinoSens™ und die Fähigkeit zur Aktivierung dendritischer Zellen im h-CLAT überprüft (Durchführung KeratinoSens: A. Natsch von Givaudan Schweiz AG, h-CLAT: H.-W. Vohr von Bayer HealthCare; allgemeine Beschreibung der Testmethoden siehe Teilbericht 5.1). Die Testprotokolle und Originalstudienberichte finden sich in den Anhängen 1 bis 3. Die für die Wirkstärkenbewertung relevanten Ergebnisse sind in Tabelle 9 (KeratinoSens™) und Tabelle 10 (h-CLAT) dargestellt.



Tabelle 9. Ergebnisse für die 8 im KeratinoSens™ überprüften Reaktivverdünner

Substanz	Geo Mean EC1.5 [µM]	Geo Mean EC4.5 [µM]	IC50 [µM]	Predicted LLNA EC3 [%] <sup>1</sup>	Geo Mean I <sub>max</sub> [µM]
Butyl-GE <sup>2</sup>	59	245	727		107
Neopentylglykol-DGE	50,31	113,29	258,23	1,87	339,55
Polypropylenglykol-DGE	50,07	195,99	693,69	20,41	147,34
1,4-Butanol-DGE	41,69	95,46	372,4	2,3	174,13
Phenyl-GE	21,34	64,14	196,12	0,6	52,64
Trimethylolpropan-TGE	19,89	32,95	93,89	0,58	64,68
Phenyl-GE <sup>2</sup>	18,05	63	174	0,6	53
1,6-Hexandiol-DGE	16,91	65,01	209,61	0,99	120,62
C12/C14-GE	10,6	Keine Induktion über 4.5 Threshold	51,5	0,4	2,98
Cyclohexandimethanol-DGE	9,12	35,95	150,59	0,64	258,36

1: Berechnet auf Basis der Gleichung 1 in Delaine et al (2011), wurde aufgrund von Unsicherheiten in der Anwendbarkeit der Gleichung auf die Prüfsubstanzen nicht zur Bewertung herangezogen

$$\log EC3 (LLNA) = -2,022 + 0,00451 * EC_{KS4,5} (KeratinoSens) + 0,00174 * IC50 (KeratinoSens)$$

2: historische Kontrolle, BGE: Nachtrag zum Originalstudienbericht aus Delaine et al. (2011)

Die Inhaltsstoffe sind in der Tabelle gemäß absteigender Reihenfolge ihrer EC1,5 Werte im KeratinoSens™ angeordnet. Dabei gilt: je kleiner der EC1,5 (bzw. EC3 oder EC4,5) Wert ist, desto größer die sensibilisierende Wirkstärke. Die relative Rangreihenfolge bezüglich der sensibilisierenden Wirkstärke kann demnach in Tabelle 9 ganz einfach abgelesen werden. Im KeratinoSens™ dementsprechend am wenigsten wirksam wäre der Butyl-GE, während Cyclohexandimethanol-DGE die am stärksten wirksame Substanz ist. Der EC1,5 Wert ist laut einem der Testentwickler (A. Natsch, mündliche Kommunikation) bezüglich der Wirkstärkenbewertung informativer als der I<sub>max</sub> Wert<sup>1</sup>. Bei Epoxiden scheint der EC3 bzw. EC4,5 Wert eventuell noch geeigneter. Aus diesem Grund wurde der EC4,5 Wert ebenfalls ausgewiesen, allerdings aufgrund von Unsicherheiten die Bewertung auf Basis des EC1,5 Wertes durchgeführt.

Wie man anhand der Übereinstimmung des erzielten Ergebnisses von PGE mit der historischen Kontrolle sehen kann, ist die Anwendung des „historischen“ Ergebnis von BGE aus demselben Labor (Delaine et al., 2011) zulässig. Insgesamt konnten somit 9 der zu bewertenden Reaktivverdünner anhand der Ergebnisse im KeratinoSens™ zueinander in Bezug gesetzt werden.

<sup>1</sup> Die I<sub>max</sub> ist stark von der Toxizität der untersuchten Substanz abhängig (siehe IC50, Konzentration bei der noch 50% der Zellen leben). Substanzen mit einer geringen Toxizität haben eine breite Konzentrations-Wirkungsbeziehung (bezogen auf die Luziferaseinduktion), die I<sub>max</sub> kann dann sehr hohe Werte annehmen. Ist eine Substanz allerdings bereits in niedrigen Konzentrationen toxisch (siehe z.B. der C12/C14-GE → kleiner IC50 Wert), werden die Zellen bald abgetötet und ein Anstieg des I<sub>max</sub> Wertes somit verhindert.

Für BGE und PGE bestätigt sich relativ die Regel von Niklasson (stark sensibilisierend mit aromatischem Ringe und schwach sensibilisierend mit azyklisches Epoxid; Details siehe oben) und die bisher getroffene Wirkstärkenbewertung (BGE: Kategorie GMS; PGE: Kategorie HS; BGE→ LLNA mit EC3 = 31% in AOO, PGE→ LLNA mit EC3 = 0,46% in AOO). Die anderen Reaktivverdünner können nicht in Bezug gesetzt werden, da es sich um Di- oder Tri-Glycidylether handelt. C12/C14-GE fällt wahrscheinlich aufgrund seines stark zytotoxischen Potentials aus der Reihe.

Tabelle 10. Ergebnisse für die 10 im h-CLAT überprüften Reaktivverdünner

Substanz	Sensibilisierend (CD86)	Sensibilisierend (CD86)	IC80 [µM] (Zytotoxizitäts-Gruppe)
Butyl-GE (BGE)	Nein	Nein	808 (schwach)
Neopentylglykol-DGE	(Ja)	Nein	364 (moderat)
C12/C14-GE	Nein <sup>1</sup>	Nein <sup>1</sup>	304 (moderat)
Polypropylenglykol-DGE	Nein (Ja) <sup>2</sup>	Nein	300 (moderat)
1,6-Hexandiol-DGE	Ja	Nein	234 (moderat)
1,4-Butanol-DGE	Ja	Nein	222 (moderat)
Phenyl-GE (PGE)	Nein <sup>1</sup>	Nein <sup>1</sup>	170 (stark)
Cyclohexandimethanol-DGE	Nein	Nein	153 (stark)
o-Kresylglycidylether	Nein	Nein	139 (stark)
Trimethylolpropan-TGE	Ja	Nein	75 (stark)

1: Im Experiment wurden nie weniger als 80% lebende Zellen bis zur höchsten getesteten Konzentration (525 µM für C12/C14-GE bzw. 300 µM für PGE) beobachtet.

2: In einem Zusatztest wurden die Ergebnisse für alle getesteten Reaktivverdünner wie berichtet bestätigt, außer bei Polypropylenglykol-DGE. Dieser Reaktivverdünner ist im zweiten Versuch positiv getestet worden (ab 300 µM mit 78% Viabilität, knapp über 1,5facher Expression von CD86).

Ein Ergebnis im h-CLAT gilt als positiv, wenn die Expression für CD86 mindestens um den Faktor 1,5 und/oder für CD54 mindestens um den Faktor 2 gegenüber der Mediumkontrolle erhöht ist. Wendet man dieses Kriterium an, so wären nach dem Ergebnis im h-CLAT nur maximal 5 der getesteten Reaktivverdünner sensibilisierend (HDDGE, BDDGE, Trimethylolpropan-TGE und knapp Neopentylglykol-DGE, sowie Polypropylenglykol-DGE). Die restlichen 5 getesteten Reaktivverdünner wären dementsprechend nicht sensibilisierend. Bei C12/C14-GE und PGE ist diese Aussage nicht endgültig abgesichert. In beiden Tests sank die Zahl der lebenden Zellen, bis hin zu den höchsten getesteten Konzentrationen, nie unter 80%, wie im Standardprotokoll gefordert. Es kann also sein, dass bei höherer Konzentration die Expression von CD86 und/oder CD54 im positiven Bereich gewesen wäre. Allerdings ist dies unwahrscheinlich, da bis zur höchsten eingesetzten Konzentration (525 µM für C12/C14-GE bzw. 300 µM für PGE) die Expression der Oberflächenmarker CD86 und CD54 unauffällig war.

Für die Wirkstärkenbetrachtung wurde davon ausgegangen, dass Inhaltsstoffe mit höherer Wirkstärke bereits bei Konzentrationen deutlich oberhalb der IC80-Werte (Konzentration, bei der noch 80% der Zellen leben) zu einer Induktion der

untersuchten Oberflächenmarker (CD86 und/oder CD54) führen. Dieser Ansatz ist noch nicht validiert, erlaubt aber auf Basis der ermittelten Untersuchungsergebnisse eine erste Einstufung einiger Inhaltsstoffe bezüglich ihrer sensibilisierenden Wirkstärke. Ordnet man die Substanz von „schwach“ nach „deutlich“ sensibilisierend im h-CLAT ergibt sich folgende Reihenfolge:

- Neopentylglykol-DGE
- Polypropylenglykol-DGE
- 1,4-Butandiol-DGE
- 1,6-Hexandiol-DGE und Trimethylolpropan-TGE

Nachdem die Ergebnisse aus beiden *in vitro* Tests einzeln betrachtet wurden, sollen die möglichen Schlussfolgerungen bei gemeinsamer Betrachtung skizziert werden.

Vergleicht man die Rangreihenfolge innerhalb der zwei durchgeführten Tests, so fällt auf, dass für 5 Reaktivverdünner die Rangreihenfolge (schwach sensibilisierend zu deutlich sensibilisierend) gleiche Tendenzen aufweist. Ausgehend von der zuletzt aufgelisteten Wirkstärkenreihung im h-CLAT, zeigt sich auch im KeratinoSens<sup>TM</sup>, dass Neopentylglykol-DGE und Polypropylenglykol-DGE eher im hinteren Bereich des Feldes angesiedelt sind. 1,4-Butandiol-DGE, 1,6-Hexandiol-DGE und Trimethylolpropan-TGE sind hingegen deutlich stärker wirksam.

Für 4 RV, die in beiden Tests überprüft wurden, ergaben sich Unterschiede. Während C12/C14-GE und Cyclohexandimethanol-DGE im KeratinoSens<sup>TM</sup> die am stärksten wirksamen Substanzen der Testreihe darstellten, waren sie im h-CLAT negativ. Der Phenyl-GE befand sich im Mittelfeld beim KeratinoSens<sup>TM</sup> (ähnliche Kategorie wie HDDGE) und war fraglich negativ im h-CLAT. Der Butyl-GE bildete im KeratinoSens<sup>TM</sup> das Schlusslicht und war im h-CLAT bis zur höchsten getesteten Konzentration negativ.

Dass o-Kresyl-GE und Phenyl-GE im h-CLAT negativ sind, widerspricht nicht ihrer Einordnung in die Kategorie HS, die auf Basis bereits vorhandener Daten getroffen wurde. Jeder *in vitro* Test bildet nur einen der notwendigen Schritte in einer ganzen Kaskade ab, die letztlich zur Auslösung einer Kontaktsensibilisierung führen. Die Beurteilung der sensibilisierenden Eigenschaften eines Inhaltsstoffes, allein auf Basis der Aktivierung von dendritischen Zellen, ist nicht ausreichend.

Tabelle 11. Zuordnung sensibilisierender Wirkstärkekategorien zu den getesteten Reaktivverdünner auf Basis der neuen *in vitro* Testergebnisse

Substanz	Zuordnung Zwischenbericht	KS EC1.5 [µM]	h-CLAT positiv	Neue Zuordnung	Kommentar
Butyl-GE	GMS	59	Nein	GMS	Bestätigt
Neopentylglykol-DGE	U	50,3	(Ja)	U	KS Hinweis GMS h-CLAT Widerspruch
Polypropylen-glykol-DGE	U	50,1	Nein (Ja)	U	KS Hinweis GMS h-CLAT Widerspruch
1,4-Butanol-DGE	HS	41,7	Ja	HS	Bestätigt
Phenyl-GE	HS	21,3/18,0	Nein	HS	Bestätigt im KS h-CLAT Widerspruch
Trimethylolpropan-TGE	U	19,9	Ja	U→HS	KS & h-CLAT weisen in dieselbe Richtung
1,6-Hexandiol-DGE	U→HS	16,9	Ja	HS	KS & h-CLAT weisen in dieselbe Richtung → HS verifiziert
C12/C14-GE	U→GMS	10,6	Nein	U→GMS	KS GMS nicht bestätigt, h-CLAT fraglich
Cyclohexandimethanol-DGE	U	9,1	Nein	U	Widerspruch KS & h-CLAT
o-Kreslyl-GE	HS	-	Nein	HS	h-CLAT fraglich

KS: KeratinoSens™

## 1.4 Diskussion und Schlussfolgerung

Von den ursprünglich 51 zu bewertenden Inhaltsstoffen wurden teilweise gemeinsame Bewertungen getroffen, sodass letztlich noch 46 Einzelbewertungen durchgeführt wurden. Wie in Abbildung 5 zu sehen ist konnten etwas mehr als die Hälfte der Inhaltsstoffe keiner sensibilisierenden Wirkstärkekategorie zugeordnet werden (Kategorie U, 21 Einzelstoffe, entsprechen 45,7 %). Bei diesen Inhaltsstoffen muss per Default Vorgehen im Projekt von einer hohen Sensibilisierungsstärke ausgegangen werden (Kategorie HS). Diese Einschätzung gilt solange bis neue Hinweise in Form von Daten für die jeweiligen Substanzen vorliegen (siehe dazu die jeweiligen Testvorschläge). Während 16 Inhaltsstoffe aufgrund ihrer Wirkung in die Wirkstärkekategorie HS (hohe Sensibilisierungsstärke) eingeordnet wurden, konnten insgesamt 9 Inhaltsstoffe mit geringer bis mäßiger sensibilisierungsstärke identifiziert werden (entspricht 34,8 bzw. 19,6 %).

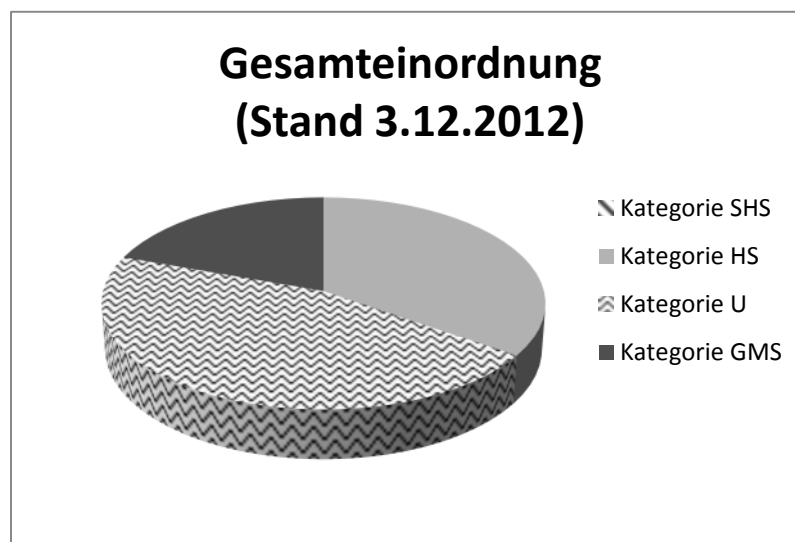


Abbildung 5. Zuordnung der Kategorien sensibilisierender Wirkstärken für die bewerteten Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen (n = 46)

### 1.4.1 Datenlage

Im Zwischenbericht von Dezember 2011 wurde die Datenlage grob gesichtet (Screening der Verfügbarkeit, beinhaltete noch keine Detailprüfung der Eignung der Tests). Anhand dieses Ergebnisses wurde eine erste Einschätzung zur Machbarkeit einer Zuordnung von sensibilisierenden Wirkstärkekategorien getroffen (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.2, Abschnitt „Diskussion“, „Datenlage – Allgemein“ → Ampelsystem, Vergabe der farblichen Markierung pro Substanz in der Datentabelle). Vormalig wurde davon ausgegangen, dass für 29,4 % der Inhaltsstoffe eine Bewertung der Wirkstärke auf Basis der verfügbaren Daten möglich ist (Farbcode grün). Bei einem Drittel (33,3 %) der Inhaltsstoffe ging man davon aus, dass eine quantitative Wirkstärkenbewertung erst mit zusätzlichen Daten möglich sein würde (Farbcode orange). Für weitere 37,3 % der Inhaltsstoffe waren nur sehr wenige bzw. gar keinen Daten verfügbar. Es wurde angenommen, dass eine Bewertung nur mit viel Zusatzaufwand möglich sein würde (Farbcode rot). Nach eingehender Sichtung

und Auswertung der Daten, Plausibilitätsbetrachtungen innerhalb von Gruppen strukturverwandter Inhaltsstoffe und relativer Vergleiche war es uns möglich, für insgesamt 54,4 % der bewertungsrelevanten Inhaltsstoffe eine Wirkstärkekategorie zuzuordnen.

Wie bereits in Teilbericht 5.2 erwähnt wurde die Datenlage durch die Substanzregistrierung unter REACH (EC, 2006) und die damit einhergehende Veröffentlichung von Substanzdaten, wesentlich verbessert. Bisher wurden unter REACH verpflichtend nur die Substanzen registriert, die in Mengen von über 1000 Tonnen pro Jahr hergestellt oder importiert wurden (HPV Chemikalien). Dieses Kriterium traf auf 25 der hier zu bewertenden Inhaltsstoffe zu.

Als Ausblick für das vorliegende Projekt ist zu erwähnen, dass für acht weitere Inhaltsstoffe eine Registrierung bis spätestens Juni 2013 vorgesehen ist (Produktions-/Importmengen von bis zu 100 Tonnen pro Jahr). In der nächsten Registrierungsphase werden die folgende fünf Härtern und drei Reaktivverdünnern bewertet.

- Triethylentetramin (TETA; CAS Nr. 112-24-3)
- Tetraethylenpentamin (TEPA; CAS Nr. 112-57-2)
- Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclo-hexyl)methan (CAS Nr. 136210-32-7)
- 1,2-Diaminocyclohexan (DCH; CAS Nr. 694-83-7)
- N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan (CAS Nr. 1760-24-3)
- 2-Ethylhexylglycidylether (CAS Nr. 2461-15-6)
- p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether (CAS Nr. 3101-60-8)
- o-Kresylglycidylether (CAS Nr. 2210-79-9)

Auf Basis der Erfahrung mit Inhaltsstoffen, die bereits während der ersten Registrierungsphase von REACH registriert wurden, gehen wir davon aus, dass bisher unveröffentlichte Industriestudien für die wenig untersuchten Inhaltsstoffe der zweiten Registrierungsphase (z.B. Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methan, CAS Nr. 136210-32-7) zu erwarten sind.

Dieses Projekt trug ebenfalls zur Verbesserung der Datenlage bei: zum einen wurde auf fehlende Daten hingewiesen, die anschließend für eine Bewertung von der herstellenden Industrie zur Verfügung gestellt wurden und zum anderen wurde die *in vitro* Testung verschiedener Epoxidharz-Inhaltsstoffe initiiert.

#### **1.4.2 Schwächen des Systems**

Die Einteilung der Wirkstärkekategorien ist relativ grob. Dies lässt sich am Beispiel der Bewertung von Ethylendiamin und Diethylentriamin verdeutlichen. Beide Inhaltsstoffe wurden anhand der jeweils verfügbaren Daten in die Kategorie HS eingeordnet. Die Gesamtheit der Ergebnisse verdeutlicht jedoch auch, dass die Wirkstärke von Diethylentriamin im Vergleich zu Ethylendiamin als geringer anzusehen ist, trotzdem müssen beide der gleichen Kategorie zugeordnet werden. Letztlich heißt dies, dass es auch innerhalb der Kategorien noch

Wirkstärkenunterschiede gibt. Weiterhin konnte kein Inhaltsstoff in die von uns definierte höchste Wirkstärkekategorie SHS eingeordnet werden. Für die Zuordnung in diese Kategorie müssen vor allen Dingen Humanevidenzen vorliegen und zudem ein verlässlicher Hinweis aus Tierversuchen. Bisher war dies bei keiner der zu bewertenden Inhaltsstoffen gleichzeitig der Fall.

Für sechs Substanzen (Ethylendiamin, Diethylentriamin, Phthalsäureanhydrid, 1,4-BDDGE, 1,6-HDDGE, PGE) gab es in der Gesamtschau der Daten Tendenzen, diese in Richtung SHS zu bewerten, um auf den Abstand dieser Substanzen in Bezug auf die anderen HS-Stoffe hinzuweisen. Letztlich konnte eine Zuordnung in die Kategorie SHS aber nicht getroffen werden, da immer noch gewichtige Unsicherheiten für eine solch starke Bewertung bestanden.

Die Wirkstärkenbewertung verlief bisher völlig unabhängig der Menge des zu bewertenden Inhaltsstoffes in einem Epoxidharz-Produkt. Für die finale, im Arbeitsschutz relevante Bewertung wird die Verwendungsmenge einbezogen und kann bei einer Substanz – sei Sie mit HS oder SHS bewertet – zu einer schlechteren Gesamtbewertung führen (vgl. Teilbericht: Umsetzung in Bewertungsstrategie).

### 1.4.3 Zusatzbewertung

Es wurden 12 zu bewertende Inhaltsstoffe identifiziert, die auch aufgrund anderer Substanzeigenschaften eingestuft werden, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind. Die Bewertung der Hautsensibilisierung tritt folglich in den Hintergrund. Darunter befinden sich acht Härter und vier Reaktivverdünner.

- 4,4'-Diaminodiphenylmethan (CAS Nr. 101-77-9; zusätzlich R45 und R68)
- Ethylendiamin (EDA; CAS Nr. 107-15-3; zusätzlich R42)
- Phthalsäureanhydrid (CAS Nr. 85-44-9; zusätzlich R42)
- Tetrahydrophthalsäureanhydrid (CAS Nr. 85-43-8; zusätzlich R42)
- Hexahydrophthalsäureanhydrid (CAS Nr. 85-42-7; zusätzlich R42)
- Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid (CAS Nr. 11070-44-3; zusätzlich R42)
- Methylhexahydrophthalsäureanhydrid (CAS Nr. 25550-51-0; zusätzlich R42)
- Bisphenol A (CAS Nr. 80-05-7; zusätzlich R62)
- Butyl-glycidylether (BGE; CAS Nr. 2426-08-6; zusätzlich R40 und R68)
- Phenylglycidylether (PGE; CAS Nr. 112-60-1; zusätzlich R45 und R68)
- o-Kresylglycidylether (CAS Nr. 2210-79-9; zusätzlich R68)
- Kresylglycidylether, Isomerengemisch (CAS Nr. 26447-14-3; zusätzlich R68)

Folgende R-Sätze wurden dabei berücksichtigt:

- R40: Verdacht auf krebserzeugende Wirkung
- R42: Sensibilisierung durch Einatmen möglich.

- R45: Kann Krebs erzeugen.
- R46: Kann vererbare Schäden verursachen.
- R60: Kann die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen.
- R61: Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
- R62: Kann möglicherweise die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen.
- R63: Kann das Kind im Mutterleib möglicherweise schädigen.
- R68: Irreversibler Schaden möglich

#### 1.4.4 Bewertung der projektbezogenen *in vitro* Testung

Die Verwendung von *in vitro* Daten ist generell nützlich. Obwohl sie uns nicht direkt zu einer Einordnung in bestimmte Wirkstärkekategorien führen, können Sie gepaart mit der bekannten Einordnung von bestimmten Inhaltsstoffen dazu dienen, relative Vergleiche anzustellen. Über diese Vergleiche kann sich eventuell eine Einordnung ergeben oder der dringende Bedarf einer *in vivo* Testung gestützt werden. Als Beispiel können die Ergebnisse aus dem KertinoSens™ gewertet werden. Die EC1,5 Werte von DGEBA und DGEBF sind etwa gleich groß, der von PGE 2-mal so groß und der EC1,5 von BGE ist circa 8-mal so groß (dabei gilt: je größer der Wert, desto weniger wirksam ist die Substanz). Diese Abstufung findet sich auch in der Bewertung im vorliegenden Projekt wieder, während DGEBA, DGEBF und PGE in die Kategorie HS eingeordnet wurden, teilten wir BGE in die Kategorie GMS ein.

Innerhalb des Projektrahmens konnte eine erste „proof-of-principle“ Testung durchgeführt werden, dank der finanziellen Förderung durch die DGUV und der Hilfestellung verschiedener Auftragslaboratorien (Givaudan Schweiz AG und Bayer Health Care). Wie bereits in Abschnitt 1.3.12 (v.a. Tabelle 11) dargestellt, konnten die Ergebnisse benutzt werden,

- um getroffenen Wirkstärkenbewertungen zu verifizieren (3 Inhaltsstoffe: BGE und PGE, siehe Ergebnisse aus dem KeratinoSens™; 1,4-BDDGE),
- um Reaktivverdünner miteinander relativ zu vergleichen (Rangreihenfolge, die die relative Wirkstärke wiedergibt), durch diese relative Bewertung konnten Tendenz-Aussagen getroffen werden (Details siehe unten),
- und um einen Inhaltsstoff (1,6-HDDGE) anhand der zusätzlichen Hinweise aus den *in vitro* Tests final der Kategorie HS zuzuordnen.

In drei anderen Fällen widersprachen sich die Tests und es konnte keine weiterführende Bewertung anhand der Ergebnisse getroffen werden (z.B. C12/C14-GE).

Bei einer zuvor als U markierte Substanz (Trimethylolpropan-TGE) konnte in beiden durchgeführten Tests eine Tendenz in Richtung der Kategorie HS ausgemacht werden. Bei zwei weiteren Inhaltsstoffen (Neopentylglykol-DGE, Polypropylenglykol-DGE) wäre anhand der Ergebnisse aus dem KeratinoSens™ eine Tendenz in Richtung der Kategorie GMS denkbar. Die Ergebnisse aus dem h-CLAT sind jedoch fraglich.

Insgesamt wird deutlich, dass die Testung an einer kleinen Auswahl der Reaktivverdünner geholfen hat, die Datenlage zu verbessern, bereits durchgeführte



Bewertungen zu stützen und Neubewertungen möglich zu machen. Das Zeugnis für die in vitro Testung fällt dementsprechend positiv aus. Wir halten dementsprechend die bereits früher vorgeschlagenen Testreihen für unterschiedliche Härter für sinnvoll (siehe jeweilige Substanzbewertung in diesem Bericht und Teilbericht 5.1a), um auch hier ein genaueres Verständnis der Wirkstärkenbewertung zu erhalten.

Allerdings bleibt anzumerken, dass – obwohl die durchgeführten Tests (als auch andere Tests wie z.B. der DPRA) im Prinzip funktionieren – diese jedoch noch nicht bezüglich der Wirkstärkeneinschätzung validiert sind. Manchmal kann die Bewertung unbekannter Substanzen in den Tests mit Problemen behaftet sein kann (siehe Beispiel negative Ergebnisse im h-CLAT für im Tierversuch gut untersuchte HS Stoffe).

#### **1.4.5 Unsicherheiten bei der Hersteller-Einstufung**

Ein generelles Problem ist, dass durch die Hersteller zwar eine Einstufung als „sensibilisierend“ vorgenommen wurde (Vergabe R43), die zugrunde liegenden Daten jedoch nicht zugänglich sind. So wurden verschiedene Inhaltsstoffe als sensibilisierend gekennzeichnet, ohne dass die Recherchen Hinweise auf relevante Tierdaten ergaben.

Im vorliegenden Projekt betrifft dies die folgenden Härter:

- Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid,
- Methylhexahydrophthalsäureanhydrid,
- 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan,
- N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan,
- MXDA/Acrylonitril Addukt,
- N-cyanethyliertes Trimethylhexamethyldiamin,
- 3-Cyclohexylaminopropylamin,
- Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methane,
- Polyethylenamin

und die folgenden Reaktivverdünner:

- Dipropylene glycol diglycidyl ether (sowie den Polymeren),
- Trimethylolpropan-triglycidylether,
- 2-Ethylhexylglycidylether,
- o-Kresylglycidylether,
- Cyclohexandimethanol-divinylether.

Für drei der genannten Inhaltsstoffe (Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methane; 2-Ethylhexylglycidylether; o-Kresylglycidylether) werden, wie bereits oben erwähnt, 2013 neue Daten im Rahmen der REACH Registrierung erwartet. Für die restlichen Inhaltsstoffe liegt keine weiterführende Information vor.

#### 1.4.6 Finale Bewertung durch FoBiG und IVDK (Vergleich)

Im Folgenden erfolgt eine Gegenüberstellung der aggregierten Bewertung durch FoBiG (mit Schwerpunkt auf tierexperimentellen und *in vitro*- sowie *in silico*-Daten) mit denjenigen Bewertungen, wie sie alleine auf Basis der Humanbefunde erfolgte (IVDK). Tabelle 12 zeigt die entsprechende Gegenüberstellung.

Insgesamt passen die Bewertungen sehr gut zusammen. In den grau markierten Feldern der Tabellendarstellung könnte man auf den ersten Blick Diskrepanzen vermuten. Hierzu gelten folgende Erläuterungen:

Ethylendiamin wird nicht nur in Epoxidharz-Systemen, sondern auch als Hilfsstoff in Schmierstoffen und Medikamenten verwendet. Ethylendiamin ist als Allergen mit sensibilisierenden Eigenschaften sowohl an der Haut als auch an den Atemwegen gut bekannt. Im Zusammenhang mit dem Einsatz von Epoxidharz-Systemen wurden nur einzelne Fälle von Kontaktallergien beschrieben, was an der geringen Verbreitung von Ethylendiamin in Epoxidharz-Systemen liegen dürfte.

Dass die absolute Zahl der Patienten mit Kontaktallergie gegen Diethylentriamin in der Literatur nicht sehr hoch ist, ist wahrscheinlich auf die aktuell eher nur geringe bis mäßige Verbreitung von Diethylentriamin in Epoxidharz-Systemen zurückzuführen.

Allergische Reaktionen auf Triethylentetramin wurden bei Patienten, die wegen des Verdachtes auf eine Epoxidharz-Allergie getestet wurden, mit unterschiedlicher Häufigkeit beobachtet. Während Berichte mit hohen Reaktionsquoten auf zum Teil recht hohe Testkonzentrationen aus Polen aus den 1970er Jahren stammen, zeigen aktuellere Reihenuntersuchungen aus anderen Teilen Europas und aus den USA deutlich geringere Reaktionsquoten.

Kreuzallergien zwischen Ethylendiamin, Diethylentriamin und/oder Triethylentetramin werden aufgrund gleichzeitig auftretender Reaktionen im Epikutantest diskutiert, können aber anhand der vorliegenden Unterlagen nicht als gesichert angesehen werden.

Wegen der vielen Kreuzreaktionen unter den Glycidylethern kann man anhand der Humandaten kein echtes Ranking der getesteten Reaktivverdünner in Bezug auf die Sensibilisierung vornehmen.

Tabelle 12. Vergleichende Darstellung der Bewertung von FoBiG und dem IVDK

IVDK bzw. FoBiG Abschnittsnummer	Inhaltsstoff	CAS	Wirkstärkekategorie FoBiG	IVDK Bewertung*
3.1 / 1.3.1	Epoxidharze			
3.1.1 / 1.3.1.1	Bisphenol A-Harze	25068-38-6	HS	H
3.1.2 / 1.3.1.2	Reaktionsprodukt Bisphenol A Epichlorhydrin	25085-99-8	HS	H
3.1.3 / 1.3.1.3	Bisphenol-A-Epichlorhydrin MW 340	1675-54-3	HS	H
3.1.4 / 1.3.1.4	Bisphenol F-Harze	9003-36-5	HS	H
3.1.5 / 1.3.1.5	Bisphenol-F-Epichlorhydrin	28064-14-4	HS	H
3.2 / 1.3.3	Härter, aromatische Amine			
3.2.1 / 1.3.3.1	4,4'-Diaminodiphenylmethan	101-77-9	GMS	U
3.3 / 1.3.4	Härter, aliphatische Amine			
3.3.1 / 1.3.4.1	Ethylendiamin	107-15-3	HS	S
3.3.2 / 1.3.4.2	Diethylentriamin	111-40-0	HS	S
3.3.3 / 1.3.4.3	Dipropylentriamin	56-18-8	U → GMS	U
3.3.4 / 1.3.4.4	Trimethylhexamethylendiamin (TMD)	25620-58-0	HS	U
3.3.5 / 1.3.4.5	Triethyltetramin	112-24-3	HS	S
3.3.6 / 1.3.4.6	N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan	109-55-7	U → GMS	U
3.3.7 / 1.3.4.7	Tetraethylenpentamin	112-57-2	GMS	U
3.3.8 / 1.3.4.8	Pentaethylenhexamin	4067-16-7	GMS	U
3.3.9 / 1.3.4.9	Polyethylenpolyamin	68131-73-7	GMS	U
3.3.10 / 1.3.4.10	Polyethylenamine	26336-38-9	GMS	U
3.4 / 1.3.5	Härter, cycloaliphatische Amine			
3.4.1 / 1.3.5.1	4,4'-Diaminocyclohexylmethan	1761-71-3	U → GMS	U
3.4.2 / 1.3.5.2	Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methane	136210-32-7	U	U
3.4.3 / 1.3.5.3	N-Aminoethylpiperazin, 2-Piperazin-1-ylamin	140-31-8	U	U
3.4.4 / 1.3.5.4	Isophorondiamin (IPD), 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamin	2855-13-2	HS	H
3.4.5 / 1.3.5.5	3-Cyclohexylaminopropylamin	3312-60-5	U	U
3.4.6 / 1.3.5.6	1,2-Diaminocyclohexan (DCH)	694-83-7	U	U
3.5 / 1.3.6	Härter, sonstige			

IVDK bzw. FoBiG Abschnittsnummer	Inhaltsstoff	CAS	Wirkstärkekategorie FoBiG	IVDK Bewertung*
3.5.1 / 1.3.6.1	N-cyanethyliertes Trimethylhexamethylendiamin	93941-62-9	U	U
3.5.2 / 1.3.6.2	m-Xylidendiamin (MXDA)	1477-55-0	HS	H
3.5.3 / 1.3.6.3	m-Xylylendiamin/Acrylonitril Adduct	73050-11-0	U	U
3.5.4 / 1.3.6.4	N-(2-Aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilan	1760-24-3	U	U
3.5.5 / 1.3.6.5	Polyoxyalkylenamin, 1,10-Diamino-4,7,dioxadecan	2997-01-5	U	U
3.6 / 1.3.7	Säureanhydride			
3.6.1 / 1.3.7.1	Phthalsäureanhydrid	85-44-9	HS → SHS	U
3.6.2 / 1.3.7.2	Tetrahydrophthalsäureanhydrid	85-43-8	HS	U
3.6.3 / 1.3.7.3	Hexahydrophthalsäureanhydrid	85-42-7	HS	U
3.6.4 / 1.3.7.4	Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid	11070-44-3	U	U
3.6.5 / 1.3.7.5	Methylhexahydrophthalsäureanhydrid	25550-51-0	U	U
3.7 / 1.3.8	tertiäre Amine			
3.7.1 / siehe 1.3.6.1	3-((6-Aminotrimethylhexyl)amino)propionitril	93941-62-9	U	U
3.8 / 1.3.9	Phenole			
3.8.1 / 1.3.7.1	tert-Butylphenol	98-54-4	GMS	S
3.8.2 / 1.3.7.2	Bisphenol A	80-05-7	GMS	S
3.9 / 1.3.11	Reaktivverdünner			
3.9.1 / 1.3.11.1	Butylglycidylether	2426-08-6	GMS	S
3.9.2 / 1.3.11.2	1,4-Butandiol-diglycidylether	2425-79-8	HS	H
3.9.3 / 1.3.11.3	Neopentylglykol-diglycidylether	17557-23-2	U	U
3.9.4 / 1.3.11.4	2-Ethylhexylglycidylether	2461-15-6	U	U
3.9.5 / 1.3.11.5	1,6-Hexandiol-diglycidylether	16096-31-4	HS	H
3.9.6 / 1.3.11.6	Versaticsäureglycidylester (z.B. Cadura E 10) 2,2'-Dioctyldecansäure-2,3 epoxypropylester	26761-45-5	GMS	U
3.9.7 / 1.3.11.7	Trimethylolpropan-triglycidylether	30499-70-8	U → HS	U
3.9.8 / 1.3.11.8	C12/C14-Monoglycidylether	68609-97-2	U → GMS	U
3.9.9 / 1.3.11.9	Polypropylenglykoldiglycidylether/ Polyoxypropylen-diglycidylether	26142-30-3	U → GMS (Übertrag)	U
3.9.10 / 1.3.11.10	Polypropylene glycol chloromethyloxirane polymer	9072-62-2	U → GMS (Übertrag)	U
3.9.11 / 1.3.11.11	Dipropylene glycol diglycidyl ether	41638-13-5	U	U
3.9.12 / 1.3.11.12	Cyclohexandimethanol-diglycidylether	14228-73-0	U / U	U / U

IVDK bzw. FoBiG Abschnittsnummer	Inhaltsstoff	CAS	Wirkstärkekategorie FoBiG	IVDK Bewertung*
	Cyclohexandimethanol-divinylether	17351-75-6		
3.9.13 / 1.3.11.13	p-tert.-Butylphenol-monoglycidylether	101-60-8	U	U
3.9.14 / 1.3.11.14	Phenylglycidylether	122-60-1	HS →SHS	H
3.9.15 / 1.3.11.15	o-Kresylglycidylether	2210-79-9	HS (Übertrag)	H
3.9.16 / 1.3.11.16	Kresylglycidylether, Isomeregemisch	26447-14-3	HS	H
3.9.17 / 1.3.7.3	2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol	90-72-2	U	U
3.10 / 1.3.13	Neue Substanzen, identifiziert in der Bewertung der Relevanz aus Sicht der Industrie			
3.10.1 / 1.3.11.1	Poly[oxy(methyl-1,2-ethanediyl)], ?-(2-aminomethylethyl)-?-(2-aminomethylethoxy)	9046-10-0	-	U
3.10.2 / 1.3.11.2	PolyPropylenEthyleneDiamin		-	U
3.10.3 / 1.3.11.3	12-Octadecadienoic acid (9Z,12Z)-, dimer, polymer with N-(2-aminoethyl)-1,2-ethanediamine	37189-83-6	-	U
3.10.4 / 1.3.11.4	2,2'-dimethyl-4,4'methylenebis(cyclohexylamine)	6864-37-5	-	U
3.10.5 / 1.3.11.5	Polyaminoamido-imidazolines		-	U
3.10.6 / 1.3.11.6	Asparaginsäureester		-	-
3.10.7 / 1.3.11.7	Bisphenol F-Epoxidharz	55492-52-9	-	H

→ Hinweis auf Wirkstärkekategorie

\* Erläuterung der IVDK Bewertung:

H = häufiges (und daher für die Exponierten bedeutendes) Allergen bei gegenüber Epoxidharz-Systemen exponierten Ekzempatienten

S = seltenes Allergen (und daher weniger bedeutendes) Allergen bei gegenüber Epoxidharz-Systemen exponierten Ekzempatienten

U = Häufigkeit und Bedeutung Allergen bei gegenüber Epoxidharz-Systemen exponierten Ekzempatienten unbekannt; Substanz zu wenig untersucht

Durch den Vergleich der Sensibilisierungsquoten in betroffenen Berufen mit der Häufigkeit der Nennungen der einzelnen Aminhärter in den bei GISBAU vorliegenden Sicherheitsdatenblättern konnte – mit gewissen Einschränkungen – ein Ranking der expositionsbezogenen Sensibilisierungshäufigkeit der einzelnen Härter erstellt werden.

Dabei zeichnete sich ab, dass die expositionsbezogene Sensibilisierungshäufigkeit von Diethylentriamin (DETA) und m-Xylidendiamin (MXDA) als relativ hoch anzusehen ist, die von Isophorondiamin (IPDA) und Triethylentetramin (TETA) dagegen als relativ niedrig. Trimethylhexan-1,6-diamin (TMHDA) liegt dazwischen.

In Bezug auf die Reaktivverdünner war es aufgrund der hier häufig auftretenden Kreuzreaktionen nicht möglich, ein Ranking der expositionsbezogenen Sensibilisierungshäufigkeit zu erstellen.

## 2 Glossar/Abkürzungsverzeichnis

BDDGE	1,4-Butandiol-diglycidylether
BGE	Butylglycidylether
DGE	Diglycidylether
DPRA	Direct Peptide Reactivity Assay (siehe FP-0324, Teilprojekt 5.1)
ESR	„Endpoint study record“, Studieneintrag im IUCLID Datensatz der Registrierungspflichtigen einer Substanz unter REACH (EC, 2006)
GE	Glycidylether
GMS	Geringe bis mäßige Sensibilisierungsstärke
HDDGE	1,6-Hexandiol.diglycidylether
HPV	High Production Volume; Chemikalien, von denen pro Jahr mehr als 100 Tonnen hergestellt oder importiert werden
HS	Hohe Sensibilisierungsstärke
$K_{O/W}$	Oktanol–Wasser–Verteilungskoeffizient, $\log K_{O/W}$ ist ein einfaches Maß für die Bioverfügbarkeit
$K_P$	Permeabilitätskoeffizienten, ein einfaches Maß für die Hautdurchdringung
MW	Molekulargewicht
PGE	Phenylglycidylether
RA	siehe Read-across
Read-across	hier: Übertragung von Daten einer Substanz auf eine strukturähnliche andere Substanz
RV	Reaktivverdünner
SB	Bildung einer Schiff'schen Base
SHS	Sehr hohe Sensibilisierungsstärke
TGE	Triglycidylether
Tris-DMP	2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol

### 3 Literatur

Basketter, D.A.; Kimber, I. (2006)

Predictive tests for irritants and allergens and their use in quantitative risk assessment

In: Frosch, P.J.; Menné, T.; Lepoittevin, P.-J., Contact Dermatitis, Springer, Berlin Heidelberg New York, 179-187, zitiert nach Nukada et al., 2011

Basketter, D.A.; Scholes, E.W. (1992)

Comparison of the local lymph node assay with the guinea-pig maximization test for the detection of a range of contact allergens

*Food and Chemical Toxicology*, 30, 65-69

Bauch, C.; Kollé, S.N.; Fabian, E.; Pachel, C.; Ramirez, T.; Wiench, B.; Wruck, C.J.; Ravenzwaay, B.V.; Landsiedel, R. (2011)

Intralaboratory validation of four in vitro assays for the prediction of the skin sensitizing potential of chemicals

*Toxicology In Vitro*, 25, 1162-1168

Delaine, T.; Niklasson, I.B.; Emter, R.; Luthman, K.; Karlberg, A.T.; Natsch, A. (2011)

Structure-activity relationship between the in vivo skin sensitizing potency of analogues of phenyl glycidyl ether and the induction of Nrf2-dependent luciferase activity in the KeratinoSens in vitro assay

*Chemical Research in Toxicology*, 24, 1312-1318

EC, European Commission (2006)

Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC

OJ L 396, 30.12.2006

Emter, R.; Ellis, G.; Natsch, A. (2010)

Performance of a novel keratinocyte-based reporter cell line to screen skin sensitizers in vitro

*Toxicology and Applied Pharmacology*, 245, 281-290

Gamer, A.O.; Nies, E.; Vohr, H.-W. (2008)

Local lymph node assay (LLNA): comparison of different protocols by testing skin-sensitizing epoxy resin system components

*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52, 290-298

Geier, J. (2010)

Kontaktallergie gegen Epoxidharze aus der Perspektive des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) und der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG)

*Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft*, 70, 7-9

Geier, J.; Lessmann, H.; Hillen, U.; Jappe, U.; Dickel, H.; Koch, P.; Frosch, P.J.; Schnuch, A.; Uter, W. (2004)

An attempt to improve diagnostics of contact allergy due to epoxy resin systems. First results of the multicentre study EPOX 2002

*Contact Dermatitis*, 51, 263-272

Greim, H.; Bury, D.; Klimisch, H.J.; Oeben-Negele, M.; Ziegler-Skylakakis, K. (1998)

Toxicity of aliphatic amines: structure-activity relationship

*Chemosphere*, 36, 271-295

Griem, P.; Hassauer, M.; Kalberlah, F.; Oltmanns, J.; Scheibner, J.; Schneider, K.; Schuhmacher-Wolz, U. (2002)



Quantitative Unterschiede im Fremdstoffmetabolismus zwischen Versuchstier und Mensch.  
Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Fb 963  
Wirtschaftsverlag NW Bremerhaven

HCN, Health Council of the Netherlands (2010)  
Cyclic acid anhydrides. Health-based recommended occupational exposure limit. Publication No.  
2010/02OSH  
The Hague, Netherlands

ICCVAM, Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (2011)  
ICCVAM Test Method Evaluation Report: Usefulness and Limitations of the Murine Local Lymph Node  
Assay for Potency Categorization of Chemicals Causing Allergic Contact Dermatitis in Humans. NIH  
Publication No. 11-7709

National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC

[http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/immunotox\\_docs/LLNA-pot/TMER.pdf](http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/immunotox_docs/LLNA-pot/TMER.pdf)

Kimber, I.; Hilton, J.; Dearman, R.J.; Gerberick, G.F.; Ryan, C.A.; Basketter, D.A.; Lea, L.; House,  
R.V.; Ladics, G.S.; Loveless, S.E.; Hastings, K.L. (1998)  
Assessment of the skin sensitization potential of topical medicaments using the local lymph node  
assay: an interlaboratory evaluation  
*Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 53, 563-579

Leung, H.-W.; Auletta, C.S. (1997)  
Evaluation of skin sensitization and cross-reaction of nine alkyleneamines in the guinea pig  
maximization test  
*Journal of Toxicology / Cutaneous and Ocular Toxicology*, 16, 189-195

Natsch, A.; Emter, R.; Ellis, G. (2009)  
Filling the concept with data: integrating data from different *in vitro* and *in silico* assays on skin  
sensitizers to explore the battery approach for animal-free skin sensitization testing  
*Toxicological Sciences*, 107, 106-121

Niklasson, I.B.; Broo, K.; Jonsson, C.; Luthman, K.; Karlberg, A.-T. (2009)  
Reduced sensitizing capacity of epoxy resin systems: a structure-activity relationship study  
*Chemical Research in Toxicology*, 22, 1787-1794

Pontén, A.; Zimerson, E.; Bruze, M. (2009)  
Sensitizing capacity and cross-reactivity of phenyl glycidyl ether studied in the guinea-pig  
maximization test  
*Contact Dermatitis*, 60, 79-84

Pontén, A.; Zimerson, E.; Sörensen, O.; Bruze, M. (2002)  
Sensitizing capacity and cross-reaction pattern of the isomers of diglycidyl ether of bisphenol F in the  
guinea pig  
*Contact Dermatitis*, 47, 293-298

Thorgeirsson, A.; Fregert, S.; Ramnas, O. (1978)  
Sensitization capacity of epoxy resin oligomers in the guinea pig  
*Acta Dermato-Venereologica*, 58, 17-21

Forschungsvorhaben

## **Ranking von Stoffen in Epoxidharzsystemen aufgrund ihrer sensibilisierenden Wirkstärke**

gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der Deutschen Gesetzlichen  
Unfallversicherung (DGUV)

Kennziffer FP-0324

### **Teilprojekt: Umsetzung in Bewertungsstrategie am Arbeitsplatz (Angebot Abschnitte 5.5-5.10)**

Dezember 2012

Endbericht

Bearbeitung:  
Dr. Karin Heine, Dr. Fritz Kalberlah, Dr. Martin Hassauer  
Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG)  
Klarastr. 63, 79106 Freiburg

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Hintergrund.....</b>	<b>H 3</b>
<b>2</b>	<b>Ansätze zur Wirkstärkencharakterisierung außerhalb des vorliegenden Projekts.....</b>	<b>H 3</b>
<b>3</b>	<b>Gewichtung der Wirkstärke im Gemisch.....</b>	<b>H 4</b>
	3.1 Aussagen zu Dosis/Wirkungszusammenhängen.....	H 4
	3.2 Schlussfolgerungen für die Bewertung von Stoffen in Epoxidharzgemischen .....	H 6
<b>4</b>	<b>Nichtsensibilisierende Epoxidharzinhaltsstoffe.....</b>	<b>H 10</b>
<b>5</b>	<b>Vervollständigung von Information.....</b>	<b>H 12</b>
<b>6</b>	<b>Bewertung der Nebenbedingungen und ergänzende Information.....</b>	<b>H 13</b>
	6.1 Einfluss der Reizwirkung .....	H 13
	6.2 Aussagen zur Kreuzreaktivität .....	H 14
	6.3 Andere Stoffeigenschaften von Epoxidharzinhaltsstoffen außer Sensibilisierung/Allergie und deren Bewertung .....	H 16
<b>7</b>	<b>Schlussfolgerungen.....</b>	<b>H 18</b>
<b>8</b>	<b>Literatur .....</b>	<b>H 21</b>

## **1 Hintergrund**

In den vorangestellten Teilberichten wurde die Information zur sensibilisierenden Wirkstärke von Inhaltsstoffen aus Epoxidharzsystemen dokumentiert. Sofern Informationen fehlten, wurden geeignete Testsysteme für die Generierung ergänzender Daten vorgeschlagen. Informationen über die Erfahrungen beim Menschen wurden mit experimentellen *in vivo*-, *in vitro*- und *in silico*- Daten zusammengeführt, um ein „Ranking“ bei der sensibilisierenden Wirkstärke zu ermöglichen (siehe Teilbericht 5.3. „Bewertung“). Es ist gelungen, zumindest eine grobe Strukturierung der Wirkstärke für zahlreiche Substanzen vorzunehmen.

Diese Erkenntnisse sind im Folgeschritt dann zu nutzen, um praktische Konsequenzen mit Bezug zum Arbeitsschutz vornehmen zu können. Der vorliegende Teilbericht adressiert diese Thematik und begründet nochmals zusammenfassend die Legitimation der jeweiligen Vorschläge zur Umsetzung.

## **2 Ansätze zur Wirkstärkencharakterisierung außerhalb des vorliegenden Projekts**

Ein grundlegendes Konzept zum Ranking der Wirkstärke bei Epoxidharzen wurde im Rahmen eines Vorläuferprojekts im Auftrag der BAuA erarbeitet (Kalberlah, 2007). Allerdings erwies sich die Informationsbasis als zu unsicher, um die Wirkstärke bei der Sensibilisierung so differenziert zu erfassen, dass eine aussagekräftige und hinreichend abgesicherte Rangreihung möglich geworden wäre. Zu zahlreichen Inhaltsstoffen von Epoxidharzen bestanden keine ausreichend spezifischen Informationen zur Potenz der Sensibilisierung. Dies hatte für das vorliegende Projekt die Konsequenz, dass eine wesentlich grobere Untergliederung der Wirkstärke erfolgt. Es wurde auch versucht, in dem Vorläuferprojekt den Einfluss der Reizung umfassender einzubeziehen, ohne dass hinreichend berücksichtigt wurde, dass diese Reizwirkung nicht auf die gleiche Substanz bezogen werden muss, die auch ein sensibilisierendes Potenzial besitzt. In der genannten Schrift wurden auch verschiedene weitere Rankingsysteme dokumentiert, auf die zu verweisen ist (Danish Working Environment Service, 1993; Spee et al., 2006; Terwoert, 2003; o.J.), die sich jedoch ebenfalls als unzureichend geeignet erwiesen, um die hier anstehende Fragestellung angemessen zu behandeln.

Es gibt einige wichtige Studien, die differenziert zur Wirkstärke von hautsensibilisierenden Stoffen berichten und die methodische Ansätze zur Wirkstärkenbewertung liefern (Api et al., 2008; Api und Vey, 2008a; b; Basketter und Kimber, 2011; Basketter et al., 2008; Basketter und Kimber, 2009; Basketter et al., 2012; Dearman et al., 2012; Ezendam et al., 2012; Jowsey et al., 2008; Peiser et al., 2012; Roberts, 2012; Roberts und Patlewicz, 2010), die jedoch keine auf die hier genannten Substanzen anwendbare übergreifende Methodik bereitstellen, und die insbesondere wegen der fehlenden substanzspezifischen Daten für unsere Themenstellung nicht übernommen werden können.

### **3 Gewichtung der Wirkstärke im Gemisch**

#### **3.1 Aussagen zu Dosis/Wirkungszusammenhängen**

Die Akquisition einer Kontakthypersensibilität bzw. die Auslösung der Kontaktdermatitis gegenüber einer sensibilisierenden Substanz hängt von deren Wirkstärke ab, aber auch von der Intensität der Exposition gegenüber dem Allergen. Diese Intensität bezieht sich auf die Häufigkeit, Dauer und die Stelle, an der die Substanz mit der Haut in Kontakt kommt (Peiser et al., 2012), sowie die Matrix, in der sich die sensibilisierende Substanz befindet (Basketter und Kimber, 2010; Johansen et al., 2011).

Insbesondere muss die Frage gestellt werden, welchen Einfluss die Menge eines sensibilisierenden Inhaltsstoffes in einem Gemisch auf die Stärke der ausgelösten Sensibilisierungsreaktion hat.

Als Maß für die Exposition gegenüber einem Allergen soll im besten Fall die Dosis pro Flächeneinheit angegeben werden. Zur quantitativen Risikobewertung wurde beispielsweise eine Korrelation zwischen EC3 Werten aus dem LLNA und Daten aus dem HRIPT hergestellt. Diese zeigt deutlich, dass von stärker sensibilisierenden Substanzen eine geringere Menge ausreicht, um eine Sensibilisierung auszulösen. Im Weiteren wird für die quantitative Risikobewertung der ermittelte „No expected skin sensitisation induction level“ (NESIL) aus dem HRIPT über die Anwendung von Assessmentfaktoren (z.B. interindividuelle Variabilität, Vehikel-/Matrixeffekte, Anwendungsbetrachtungen) in den „acceptable exposure level“ (AEL in  $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ ) überführt. Der AEL wird dann zur realen Verbrauchereexposition („consumer exposure level“, CEL) in Bezug gesetzt (Basketter und Kimber, 2010).

Ein Beispiel aus der Literatur belegt, dass bis zu einem bestimmten Grad die Zahl sensibilisierter Personen im Patchtest von der applizierten Flächendosis abhängt (siehe Tabelle 1). Freiwilligen Testpersonen wurden auf eine Fläche von 7,1 cm<sup>2</sup> unterschiedlich große Mengen von Dinitrochlorobenzol (DNCB; CASRN 97-00-7) aufgetragen. Dieses Vorgehen resultiert, bei steigender Gesamtmenge und gleichbleibender Applikationsfläche, in einer immer größer werdenden Flächendosis. Mit steigender Flächendosis steigt auch die Anzahl der Personen, bei denen eine Sensibilisierungsreaktion beobachtet wurde (Kimber et al., 2008).

Tabelle 1: Einfluss der Flächendosis auf das Vorkommen der Kontakthypersensibilisierung in Freiwilligen nach dermalen Applikation von Dinitrochlorobenzol (DNCB)

Gruppe	Anzahl Patienten	„Sensibilisierungsdosis“		Sensibilisiert [%]
		Total [µg]	Konzentration [µg/cm <sup>2</sup> ]	
1	24	62,5	8,8	8
2	40	125	17,7	63
3	30	250	35,4	83
4	30	500	71	100
5	8	1000	142	100

Verändert nach (Kimber et al., 2008)

Ein weiteres Beispiel aus der Literatur beschreibt die mengenkorrelierte Zunahme von positiven Patch-Testbefunden in Versuchen mit Nickelallergikern. Die gefundene Dosiswirkungsbeziehung ist in folgender Abbildung 1 gezeigt.

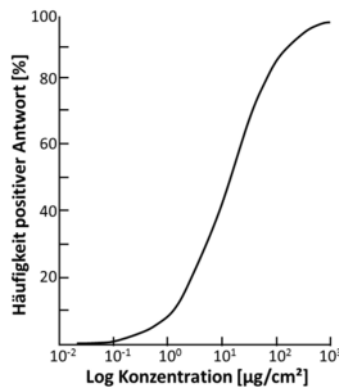


Abbildung 1: Dosis-Wirkungsbeziehung von Patch-Testbefunden nach Nickerexposition

Befunde aus acht Studien zur Nickel Allergie getestet im Patch-Test Format wurden mittels logistischer Regression analysiert. Die dargestellte Kurve entspricht einer schematischen Darstellung der gewichteten, bereinigten Mittelwerte aller Studien. Die Abbildung wurde verändert übernommen aus (Johansen et al., 2011).

Gemische sollen im vorliegenden Projekt gemäß dem Prinzip der Dosisadditivität bewertet werden. Dosisadditivität wird bei einem ähnlichen Mode of Action (MoA) und oft sogar bereits bei Einwirkung auf dasselbe Zielorgan (bei unklarem MoA) vorgesehen. In unserem Projekt trifft dies sowohl auf die Reizwirkung, als auch auf die Hautsensibilisierungsreaktion zu. Pedersen et al. (2004) zeigt, dass die Effekte zweier Allergene beziehungsweise eines sensibilisierenden und eines reizend wirkenden Stoffes sogar über die Additivität hinaus synergistisch wirken können.

### **3.2 Schlussfolgerungen für die Bewertung von Stoffen in Epoxidharzgemischen**

Entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 3.1 sollte die Gesamtkonzentration der sensibilisierenden Stoffe in Epoxidharzkomponenten und –produkten möglichst gering sein. Dabei muss eine Gewichtung der Stoffmenge bei jeder Einzelkomponente mit der Wirkstärke, wie sie in diesem Projekt ermittelt wurde, erfolgen. Um die Gesamtbesorgnis für das Auftreten von Allergien zu reduzieren, ist es am effektivsten, die Menge derjenigen Inhaltsstoffe im Gemisch zu vermindern oder diese zu ersetzen, die durch eine besonders hohe Wirkstärke auffallen. Da (bisher und in den Grenzen dieses Projekts) keine Substanzen identifiziert werden konnten, denen mit der nötigen Sicherheit eine extreme Wirkstärke (Kategorie „SHS“) zugeordnet werden kann, stehen Inhaltsstoffe im Vordergrund, denen eine hohe Wirkstärke (Kategorie „HS“) mit hoher Plausibilität zuzuordnen ist. Demgegenüber sind Reduktionen bei Stoffen, die der Kategorie „U“ zugeordnet wurden, mit mehr Unsicherheit im Ausmaß des Reduktionserfolgs verbunden (Kategorie „Unbekannt“ wird bei zu wenig Daten vergeben, Default-Zuordnung in Kategorie „HS“). Stoffe der Kategorie „GMS“ stellen zwar ebenfalls einen möglichen Problemfaktor in Epoxidharzen dar. Der Versuch, deren Konzentration zu vermindern, besitzt jedoch vergleichsweise geringere Priorität. In einer weiteren Differenzierung muss jedoch die höchste Priorität für Substitutions- und Reduktionsentscheidungen dort angenommen werden, wo

- Stoffe mit hoher Wirkstärke (hier: „HS“)
- mit hoher Menge

aufzutreten. Für eine pragmatische Orientierung wurde im vorliegenden Bewertungskonzept eine Prioritätsgrenze dann gesetzt, wenn ein HS-Stoff mit 25 % oder mehr in einer Komponente (Harz, Härter oder Reaktivbeschleuniger) auftritt. Einer solchen Konzentration ist gleichgesetzt, wenn ähnliche Verbindungen in der Addition die genannten 25 % überschreiten (z.B. verschiedene Bisphenol A- oder Bisphenol F-Harze). Das Abschneidekriterium von 25 % kann nicht als harte Grenze interpretiert werden, stellt aber ein wichtiges Prioritätskriterium für Substitution und/oder Reduktion dar.

Vor diesem Hintergrund wurde die gesamte vorliegende Liste mit den in diesem Projekt erfolgten Zuordnungen geprüft und den jeweiligen Substanzen übliche Mengenangaben zugeordnet. Nach einer Auswertung der BG Bau und der dort archivierten Sicherheitsdatenblätter gibt es Daten zu Gemischen und Angaben zu den Spannen, mit denen Stoffe in diesen Gemischen auftreten. Allerdings ist nicht abgesichert, dass die Mengenangaben dort auf andere Anwendungen (außerhalb des Baubereichs) ohne Modifikation zu übertragen sind. Ferner werden teilweise Spannen berichtet, die sowohl über, wie auch unter der 25 %-Markierung liegen. Es wird daher empfohlen, im Einzelfall die Angaben des Sicherheitsdatenblatts heranzuziehen, um eine Priorität erkennen zu können.

Aufgrund der Wirkstärkenzuordnung in diesem Projekt und der Angaben der BG Bau zu den Konzentrationen im Gemisch ergibt sich für folgende Stoffe (Tabelle 2) eine möglicherweise besondere Priorität für die Substitution oder Reduktion:

Tabelle 2: Übersicht zu HS-eingestuften Stoffen und deren übliches Vorkommen in Epoxidharzkomponenten bei Anwendungen in der Bauwirtschaft

Substanz mit HS-Einordnung	CAS-Nummer	Übliche Konzentration in Epoxidharzkomponente	Anmerkung
<b>Harze</b>			
Bisphenol A-Harze	25068-38-6	etwa 1/3 der Produkte mehr als 50 %, ca 1/4 der Produkte 25-50 %	Additive Betrachtung bei 25 %-Grenze erforderlich, Substitution in der Regel aus technischen Gründen nicht möglich
Reaktionsprodukt Bisphenol A Epichlorhydrin	25085-99-8	im wesentlichen > 25 %	
Bisphenol-A-Epichlorhydrin MW 340	1675-54-3	In der Bauwirtschaft keine Produkte	
Bisphenol F-Harze	9003-36-5	ca. 1/6 der Produkte 25-50 %, ca. 1/3 der Produkte 10-25 %, ca. 50 % <10 %	
Bisphenol-F-Epichlorhydrin	28064-14-4	ca. 1/3 der Produkte 25-50 %, ca. 1/4 der Produkte 10-25 %	
<b>Härter, aromatische Amine</b>			
4,4'-Diaminodiphenylmethan	101-77-9	Ohne Konzentrationsangabe	Aus anderen Gründen (Einstufung als Kanzerogen) zu substituieren
<b>Härter, aliphatische Amine</b>			
Ethylendiamin	107-15-3	In der Bauwirtschaft < 2,5 %	Aus anderen Gründen (Einstufung als atemwegs-sensibilisierend) zu substituieren
Diethylentriamin (2,2'-iminodi(ethylamin))	111-40-0	wenige Produkte 25-50 %, ca. 1/6 10-25 %, ca. 1/2 <10 %	Andere aliphatische Amine mit GMS-Einstufung oder (U-> GMS)-Einstufung verfügbar, Substituierbarkeit zu prüfen, wenn Summe > 25%
Trimethylhexamethylen-diamin (TMD, TMDA)	25620-58-0	wenige Produkte mit >50 % bzw. 25-50 %, ca. 1/4 10-25 %, ca. 1/3 <10 %	
Triethylentetramin	112-24-3	im Wesentlichen unter 10 %	



<b>Härter, cycloaliphatische Polyamine:</b>			
Isophorondiamin	2855-13-2	ca 1/10 >50 %, ca 1/2 25-50 %, ca 1/3 10-25 %, ca 1/6 <10 %	Andere cycloaliphatische Amine mit (U-> GMS)-Einstufung verfügbar, jedoch Absicherung der Wirkstärke erforderlich; Substituierbarkeit zu prüfen, wenn Summe > 25 %
<b>Härter, sonstige</b>			
m-Xylidendiamin	1477-55-0	ca.1/5 25-50 %, ca.1/2 10-25 %, ca.1/4 <10 %	Die meisten anderen Härter sind mit „U“ eingestuft und wären vor Substitution eingehender zu prüfen
<b>Säureanhydride</b>			
diverse	diverse	Keine Relevanz im Baubereich	Aus anderen Gründen (Einstufung als atemwegs-sensibilisierend) zu substituieren
<b>Reaktivverdünner</b>			
1,4-Butandiol-diglycidylether	2426-08-6	ca. 2/3 der Produkte 25-50 % nur wenige <10 %	Andere Reaktivverdünner mit GMS- oder (U-> GMS)-Einstufung verfügbar, jedoch Absicherung der Wirkstärke erforderlich; Substituierbarkeit zu prüfen, wenn Summe > 25 %
1,6-Hexandiol-diglycidylether	16096-31-4	nur wenige Produkte >25 %, ca.1/4 10-25 %, ca 2/3 <10 %	
Phenylglycidylether	122-60-1	Keine Relevanz im Baubereich	Aus anderen Gründen (Einstufung als Kanzerogen) zu substituieren

o-Kresylglycidylether	2210-79-9	nur sehr wenig Produkte 1/2 10-25 %, 1/2 <10 %	Aus anderen Gründen (Einstufung als „R68“-Stoff, irreversible Schäden möglich) zu substituieren, sofern bei Registrierung (REACH) niedriger DNEL
Kresylglycidylether, Isomergemisch	26447-14-3	nur sehr wenig Produkte 1/4 10-25 %, 3/4 <10 %	

Die dargestellte Tabelle liefert für alle HS-Stoffe eine Relevanzeinordnung, soweit Daten, insbesondere aus der Bauwirtschaft, vorliegen. Für andere Bereiche sind entsprechende Ergänzungen erforderlich. Alternativen sind derzeit nur beschränkt zu benennen (und dies nur, soweit es sich toxikologisch um weniger bedenkliche Substitute handelt); technische Substituierbarkeit wurde im vorliegenden Rahmen nicht geprüft. Es ist jedoch offensichtlich, dass mit zusätzlicher toxikologischer Prüfung (Umstufung von Stoffen, die derzeit als „U“ oder „U→GMS“ eingeordnet werden mussten) zusätzliche Einordnungen als „GMS“ erfolgen werden und sich damit die Praxisrelevanz des Bewertungsansatzes erweitert. Hier sollte auch der nahe bevorstehende Registrierungstermin von 2013 zu einigen Substanzen wichtige ergänzende Informationen bieten.

## 4 Nichtsensibilisierende Epoxidharzinhaltsstoffe

Als Ausgangstabelle für das vorliegende Projekt wurde seitens der Bau-Berufsgenossenschaft eine Liste von Stoffen mit der Charakterisierung als „hautsensibilisierend“ zusammengestellt. Diese Liste wurde aus einer umfangreicheren Gesamtliste extrahiert, die auch weitere mögliche Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen enthielt, die *keine Kennzeichnung* mit „R43“ besitzen. Während der Fokus in diesem Projekt zentral sich mit der Differenzierung der Wirkstärke von hautsensibilisierenden Stoffen beschäftigte, darf dieser Hintergrund nicht verloren gehen, dass also möglicherweise auch Substitutionen mit „Nicht R43“-Stoffen geprüft und vorgenommen werden können.

Auch wenn eine solche Analyse nicht Gegenstand des Projekts war, gehört eine entsprechende Substitutionsprüfung zu den zentralen Schlussfolgerungen der berichteten Gesundheitsproblematik durch hautsensibilisierende Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen. Die folgende Tabelle enthält einige Beispiele von nicht wegen Hautsensibilisierung eingestuft Substanzen (Tabelle 3). Vor Nutzung der Daten aus dieser Tabelle ist jedoch deren Korrektheit für die jeweilige Einzelsubstanz zu prüfen. Es konnte in der Vergangenheit festgestellt werden, dass nicht in jedem Fall die hier vorliegenden Eintragungen dem aktuellen Sachstand entsprachen. Die Anzahl der Nennungen in der letzten Spalte der Tabelle verweist auf die derzeitige Relevanz des Stoffes in Epoxidharzsystemen und dokumentiert demnach, dass die Stoffe zumindest in begrenztem Umfang im Istzustand als Substitute angenommen werden können. Es ist natürlich zu bedenken, dass Optionen für eine Substitution immer auch die technische Machbarkeit beinhalten müssen, also die Kompatibilität mit anderen Inhaltsstoffen, die volle Funktionalität des Produktes. Erst wo entsprechende Spielräume vorliegen, kann eine Anforderung auf Substitution realistischer Weise greifen, wobei ökonomische Kriterien an dieser Stelle kein maßgebliches Gewicht besitzen sollten.

Tabelle 3: Beispiele für Inhaltsstoffe aus Epoxidharz-Systemen, die nicht mit R43 gekennzeichnet sind (Quelle: Gesamtliste GISBAU Datenbank)

Stoffname	CAS-Nr.	R-Sätze (Herstellereinstufung)	Anzahl Nennungen
<b>Härter, aromatisch</b>			
4,4'-Methylenbis(2,6-diethylanilin)	13680-35-8	22-36/37/38	3
4,4'-Diaminodiphenylsulphon	80-08-0	22	0
<b>Härter, aliphatisch</b>			
Hexamethylendiamin (HMD)	124-09-4	21/22-34-37	0
Tetradecanamin	2016-42-4	22-35-50/53	35
Octylamin	111-86-4	20/21/22-35-50	1
<b>Härter, sonstige</b>			
2,2'-Diethyl-4,4'-methylenbis(cyclohexylamin) <sup>1</sup>	6864-37-5	22-23/24-35-51/53	26
Diethylmethylbenzoldiamin	68479-98-1	21/22-36-48/22-50-53	7
3-Aminopropyltriethoxysilan	919-30-2	22-34	35
Polyoxypropylendiamin (Jeffamine D230) <sup>1</sup>	9046-10-0	21/22-34	199
<b>Säureanhydride</b>			
1-Methyl-5-norbornen-2,3-dicarbonsäureanhydrid	25134-21-8	22-36/37/38-42	0
8,9-Dinorborn-5-ene-2,3-dicarbonsäureanhydrid	123748-85-6	22-36/37/38-42	0
<b>Tertiäre Amine</b>			
Tetramethyl-ammoniumchlorid	75-57-0	23/24/25-36/37/38	0
N,N-Diemethylbenzamin	103-83-3	10-20/21/22-34-%"/53	42
<b>Reaktivverdünner</b>			
Vinylcyclohexandiepoxyd	106-87-6	23/24/25-68	0
3-(2,3-Epoxypropoxy)Propyltrimethoxysilan	2530-83-8	36/38-52/53	6

1: Inhaltsstoff besprochen siehe Teilbericht 5.3

## 5 Vervollständigung von Information

Wie beschrieben, konnten bedauerlicherweise für zahlreiche Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen keine eindeutigen Zuordnungen zu Wirkstärken vorgenommen werden, da die Informationslage derzeit mangelhaft oder widersprüchlich ist. In einigen Fällen war es möglich, zumindest Tendenzen zu charakterisieren (U→GMS, U→HS, HS→SHS).

Aus diesem Grunde wurde bereits im Rahmen des Projekts eine begrenzte Testung von Inhaltsstoffen vorgenommen. Teilprojekt 5.1a enthält die entsprechenden Ergebnisse. Darüber hinaus wurde jedoch im genannten Teilprojekt eine Liste weiterer *in vitro*-Testreihen erstellt, die zur Vervollständigung der Information und zur Überführung einzelner Substanzen von der Default-Kategorie „U“ in eine der definitiven Wirkstärkekategorien sinnvoll erscheint (vgl. Tabellen 1 bis 3 im Teilprojekt 5.1a). Da *in vitro*-Systeme jedoch nur einzelne Schritte des Wirkmechanismus abdecken können und für sich keine absoluten Aussagen zur Wirkstärke ermöglichen, ist es erforderlich, jeweils gesamte Testreihen durchzuführen, aus denen relative Gewichtungen der Potenz ermöglicht werden, die dann zusammen mit bereits vorliegenden Erkenntnissen es in zahlreichen Fällen ermöglichen dürften, eine angemessene Zuordnung in absolute Wirkstärkekategorien durchzuführen.

## **6 Bewertung der Nebenbedingungen und ergänzende Information**

### **6.1 Einfluss der Reizwirkung**

Sensibilisierungstests sollten überwiegend bei nichtreizenden Konzentrationen durchgeführt werden. Dennoch ist der Einfluss einer Reizung bei der Ermittlung der sensibilisierenden Wirkstärke nicht auszuschließen. Generell wäre die Bewertung von Genexpressionsprofilen geeignet, eine sensibilisierende Wirkung von einer reizenden Wirkung eindeutig zu unterscheiden. In Teilbericht 5.1 wurde hierzu Stellung genommen und der VITOLENS<sup>®</sup> als ein vielversprechender Test aus dem Bereich der Microarray-Analyse vorgestellt. Im vorliegenden Projekt wurde bei der Beschreibung der zur Bewertung von sensibilisierenden Substanzeigenschaften eingesetzten Methoden (siehe Teilprojekt 5.1) jeweils methodenspezifisch Aussagen zum Einfluss einer inhärenten Reizwirkung der Testsubstanz auf das jeweilige Testsystem getroffen. Bei der Bewertung der Inhaltsstoffe wurde demnach deren inhärente Reizwirkung bereits berücksichtigt.

Weiterhin ist bekannt, dass eine gereizte Haut (sei es durch mechanische Beschädigung oder Reizwirkung einer Substanz) ein verändertes Verhalten in Bezug auf die Akquisition einer Kontakthypersensibilität (symptomloser Zustand nach Erstkontakt mit Allergenen) aufweist. Die Reizwirkung kann verstärkend auf die Sensibilisierungsreaktion wirken. Durch die lokale Entzündung ist beispielsweise die Barrierefunktion der Haut beeinträchtigt, und es kann potentiell mehr des sensibilisierenden Inhaltsstoffes in den Organismus gelangen. Grundsätzlich könnte eine Reizwirkung allerdings auch die Sensibilisierungsreaktion vermindern (Rustemeyer et al., 2011). Dieser letztgenannte Aspekt wird jedoch bei einem präventiven Ansatz nicht berücksichtigt.

Eine Zuordnung der Reizwirkung zur gleichen Substanz, die auch die Sensibilisierung herbeiführt, ist nicht weiterführend, da in einem Epoxidharzgemisch es durchaus andere Substanzen sein können, die die Reizung bewirken, also den Weg bereiten, dass ein (möglicherweise anderer) sensibilisierender Stoff besser die Hautbarriere durchdringt und wirksam wird. Deshalb wäre es grundsätzlich erstrebenswert, wenn das Gesamtgemisch eine niedrige Reizwirkung besitzt, die Bewertung der Einzelsubstanz hinsichtlich der Sensibilisierung muss jedoch nicht die Reizwirkung dieser Substanz berücksichtigen.

Es wurden alle Substanzen der vorliegenden Liste aufgrund ihrer Kennzeichnung und ergänzender Literaturhinweise hinsichtlich ihrer Reizwirkung eingeordnet. Es gibt eine gewisse Differenzierung, nach der es sich um „stark ätzende“, „ätzende“ oder „hautreizende“ Stoffe handeln kann, allerdings wurden fast keine Stoffe identifiziert, denen keine oder nur eine marginale irritative Wirkung zugeordnet wird.

Stoffe ohne Einstufung als mindestens „irritativ“ sind:

- Polypropylene glycol chloromethyloxirane polymer
- Dipropylene glycol diglycidyl ether
- Cyclohexandimethanol-diglycidyl(divinyl)ether
- Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)-ethylamino)-3-methyl-cyclohexyl)methane, sowie

- Kresylglycidylether.

Davon scheint jedoch nur Bis(4-(1,2-bis(ethoxycarbonyl)-ethylamino)-3-methylcyclohexyl)methane ausreichend getestet (mit schwacher irritativer Wirkstärke; vgl. Gardiner et al. (1992)). Die Verbindungen sind unter REACH noch nicht registriert, so dass sie hinsichtlich ihrer irritativen Wirkung nicht abschließend eingeordnet werden können. Die Kresylglycidylether sind auch aus anderen Gründen („irreversibler Schaden möglich“) keine Stoffe, die als weniger bedenkliche Substitute diskutiert werden sollten.

Demnach kann die Reizwirkung für eine Differenzierung der Inhaltsstoffe in ihrer sensibilisierenden Wirkstärke nicht angemessen herangezogen werden. Es ist davon auszugehen, dass (in gewisser Bandbreite) von allen Epoxidharzgemischen eine ähnliche Reizwirkung der Haut ausgeht. Sofern ein ätzender Stoff durch einen reizenden Stoff ersetzt werden kann (vgl. Kennzeichnung), wäre dies jedoch grundsätzlich zu begrüßen. Hierzu sind im vorliegenden Rahmen keine zusätzlichen Erläuterungen erforderlich.

## **6.2 Aussagen zur Kreuzreaktivität**

Bei der substanzspezifischen Bewertung wurde bereits ein Hinweis zu gefundenen Kreuzreaktionen von einzelnen Inhaltsstoffen mit anderen Substanzen gemacht. Die Definition einer Kreuzreaktion ist, dass die antigen-spezifischen T-Zellen auf andere als das auslösende Allergen reagieren. Die Allergene sind meist chemisch eng verwandt (in Bezug auf das Vorhandensein homologer chemischer Gruppen, sowie die räumliche Struktur). Insgesamt ist die Bewertung der Kreuzreaktivität wichtig, da die im Projekt enthaltenen Inhaltsstoffe zum Teil chemisch eine sehr große Ähnlichkeit aufweisen. Sie trägt jedoch nicht direkt zur Bewertung der sensibilisierenden Wirkstärke eines Inhaltsstoffes bei, da die Interpretation meist nicht eindeutig ist (v.a. in Humanuntersuchungen, in denen die vorherige Exposition gegenüber Allergenen nicht bekannt ist; Stichwort Ko-Sensibilisierung; Lepoittevin, 2011). In diesem Abschnitt (Tabelle 4) werden nochmals alle Inhaltsstoffe aufgeführt, für die in Untersuchungen an Mensch oder Tier Kreuzreaktionen gefunden wurden bzw. mindestens ein Verdacht auf eine Kreuzreaktivität besteht.

Insgesamt handelt es sich um 13 Inhaltsstoffe. Es sind jeweils Vertreter aus allen Komponenten (Harz – Härter – Reaktivverdünner) von Epoxidharzsystemen. Es bleibt anzumerken, dass die Liste der zu bewertenden Inhaltsstoffen, für die Kreuzreaktionen mit anderen Substanzen angenommen werden, eventuell nicht erschöpfend ist. Einerseits wurden nicht alle Inhaltsstoffe auf Kreuzreaktionen überprüft und andererseits ist, wie oben aufgeführt, die Interpretation von Humanbefunden teilweise nicht eindeutig möglich.

Tabelle 4: Inhaltsstoffe, deren Kreuzreaktivität mit anderen Substanzen belegt oder zumindest vermutet ist

Name	CAS Nr.	Gruppe	Wirkstärke-Kategorie	Kreuzreaktion mit
Bisphenol A-Harze	25068-38-6	Harz	HS	Bisphenol F-Harzen, Phenylglycidylether
Bisphenol F-Harze	9003-36-5	Harz	HS	Bisphenol A-Harzen, Phenylglycidylether
Ethylendiamin*	107-15-3	Härter, aliphatisch	HS	Diethylentriamin, Triethylentetramin
Diethylentriamin*	111-40-0	Härter, aliphatisch	HS	Ethylendiamin, Triethylentetramin
Triethylentetramin*	112-24-3	Härter, aliphatisch	HS	Ethylendiamin, Diethylentriamin
Tetraethylen-pentamin	112-57-2	Härter, aliphatisch	GMS	Ethylendiamin
Bisphenol A	80-05-7	Härter, Phenole	GMS	Diethylstilbestrol
Butyl-Glycidylether	2426-08-6	RV	GMS	C12/C14-Monoglycidylethern (d.h. Epoxid Nr.8), Kresylglycidylethern
1,4-Butandiol-diglycidylether	2425-79-8	RV	HS	1,6-Hexandiol-diglycidylether
1,6-Hexandiol-diglycidylether	16096-31-4	RV	U → HS	1,4-Butandiol-diglycidylether
C12/C14-Monoglycidylethern	68609-97-2	RV	U → GMS	Butyl-glycidylether, Kresylglycidylether, einem nicht näher spezifizierten Epoxidharz
Phenylglycidylether	122-60-1	RV	HS → SHS	verschiedenen Epoxidharzen auf Basis von Bisphenol A oder Bisphenol F, sowie anderen Phenylglycidylethern
Kresylglycidylether, Isomerenmischung	26447-14-3	RV	HS	Phenylglycidylether

\* Anmerkung IVDK: Kreuzallergien zwischen Ethylendiamin, Diethylentriamin und/oder Triethylentetramin werden aufgrund gleichzeitig auftretender Reaktionen im Epikutantest diskutiert, können aber anhand der vorliegenden Unterlagen nicht als gesichert angesehen werden.

Fazit: Für die Bewertung nach dem W-Faktoren Modell bleiben Konsequenzen aufgrund von identifizierten Kreuzreaktionen von Inhaltsstoffen aus. Die gewonnene Information ist von qualitativer Natur und eine quantitative Auswertung ist auf Basis der vorliegenden Daten nicht möglich.



### 6.3 Andere Stoffeigenschaften von Epoxidharzinhaltsstoffen außer Sensibilisierung/Allergie und deren Bewertung

Es wurden 12 zu bewertende Inhaltsstoffe identifiziert, die auch aufgrund anderer Substanzeigenschaften eingestuft werden, deren Gefahren für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen sind (siehe auch Tabelle 5). Die Bewertung der Hautsensibilisierung rückt folglich in den Hintergrund. Darunter befinden sich acht Härter und vier Reaktivverdünner.

Tabelle 5: Inhaltsstoffe, die zusätzlich aufgrund anderer und schwerwiegenderen Eigenschaften eingestuft sind

Substanz	CAS	Einstufung laut GISBAU Liste (Hersteller)	Wirkstärke-Kategorie
<b>Härter, aromatische Amine</b>			
4,4'-Diaminodiphenylmethan	101-77-9	<b>45</b> -39/23/24/25-43-48/20/21/22-68-51/53	GMS
<b>Härter, aliphatische Amine:</b>			
Ethylendiamin (1,2-Diamonethan, auch als Hydrochlorid)	107-15-3	10-21/22-34- <b>42</b> /43	HS
<b>Säureanhydride</b>			
Phthalsäureanhydrid	85-44-9	22-37/38-41- <b>42</b> /43	HS→SHS
Tetrahydrophthalsäureanhydrid	85-43-8	41- <b>42</b> /43-52/53	HS
Hexahydrophthalsäureanhydrid	85-42-7	41- <b>42</b> /43	HS
Methyltetrahydrophthalsäureanhydrid	11070-44-3	41- <b>42</b> /43	U
Methylhexahydrophthalsäureanhydrid	25550-51-0	41- <b>42</b> /43	U
<b>Phenole, z.B.</b>			
Bisphenol A	80-05-7	37-41-43- <b>62</b> -52	GMS
<b>Reaktivverdünner</b>			
Butyl-glycidylether	2426-08-6	10-20/22-37- <b>40</b> -43-52/53- <b>68</b>	GMS
Phenylglycidylether	122-60-1	<b>45</b> -20-37/38-43- <b>68</b> -52/53	HS
o-Kresylglycidylether	2210-79-9	38- <b>68</b> -43-51/53	HS
Kresylglycidylether, Isomerengemisch	26447-14-3	38- <b>68</b> -43-51/53	HS

Als Kriterium einer Gefahr, die für die Gesundheit schwerwiegender als die Hautsensibilisierung anzusehen ist wurden folgende R-Sätze berücksichtigt:

- R40: Verdacht auf krebserzeugende Wirkung
- R42: Sensibilisierung durch Einatmen möglich.
- R45: Kann Krebs erzeugen.
- R46: Kann vererbare Schäden verursachen.
- R60: Kann die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen.

- R61: Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
- R62: Kann möglicherweise die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen.
- R63: Kann das Kind im Mutterleib möglicherweise schädigen.
- R68: Irreversibler Schaden möglich

Wie bereits bei der substanzspezifischen Bewertung beschrieben erfolgte aufgrund der kanzerogenen Wirkung (R45) von 4,4'-Diaminodiphenylmethan eine Aufnahme der Substanz auf die Kandidatenliste der „substances of very high concern“ (SVHC). Die Stoffe dieser Liste gehen schrittweise in den Anhang XIV, dem Verzeichnis der zulassungspflichtigen Stoffe, gemäß der europäischen Chemikaliengesetzgebung über. Eine weitere Verwendung des Inhaltsstoffes ist dann nur mit einer Zulassung möglich (REACH; EC, 2006). Dem aromatischen Härter wird zudem die Gefahr irreversibler Schäden bescheinigt (R68).

Der aliphatische Härter Ethylendiamin (EDA) und alle zu bewertenden Säureanhydride wurden neben ihrer hautsensibilisierenden Eigenschaft (R43) zusätzlich mit R42 gekennzeichnet. Diesen Inhaltsstoffen wird somit die Möglichkeit Atemwegssensibilisierungen hervorzurufen attestiert.

Das Bisphenol A wird auf dem Hintergrund der nachgewiesenen endokrinen Wirkungsweise eine mögliche Beeinträchtigung der Fortpflanzungsfähigkeit unterstellt (R62).

Alle der aufgeführten Reaktivverdünner wurden zusätzlich in Hinsicht auf die Auslösung irreversibler Schäden gekennzeichnet (R68). Butyl-glycidylether befindet sich zudem in der Krebsverdachtskategorie (R40) und für Phenylglycidylether ist der Nachweis auf eine krebserzeugende Wirkung im Tierversuch erbracht (R45).

## 7 Schlussfolgerungen

Das vorliegende Projekt liefert eine bisher nicht vorliegende Sammlung und Aufbereitung von Daten zur Charakterisierung von sensibilisierenden Inhaltsstoffen von Epoxidharzen. Der Fokus liegt dabei auf solchen Daten, die für eine Wirkstärkedifferenzierung erforderlich sind. Allerdings sind konkrete Informationen für die Wirkstärkedifferenzierung bisher bedauerlicherweise in vielen Fällen nicht vorhanden oder widersprüchlicher Art, so dass Möglichkeiten zur Berücksichtigung dieses Wissens im Rahmen des präventiven Arbeitsschutzes derzeit begrenzt sind. Dennoch ergeben sich vier zentrale Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Erkenntnisse dieses Projekts:

1. In erster Priorität sollten Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen, die sensibilisierende Eigenschaften haben, grundsätzlich (und mengenunabhängig) dahingehend geprüft werden, ob eine Substitution durch Substanzen möglich ist, die keine Einstufung als „hautsensibilisierend“ (H317; R43) besitzen. Dabei ist zu beachten, dass keine Stoffe als Substitut vorgeschlagen werden, die anderweitige Einstufungen aufgrund gesundheitlich gravierender Eigenschaften besitzen (z.B. keine Stoffe mit Atemwegssensibilisierung (H334; R42). Eine solche Prüfverpflichtung (entweder als freiwillige Selbstverpflichtung oder als Auflage) sollte in Erwägung gezogen werden.
2. Innerhalb der als hautsensibilisierend eingestuften Substanzen (H317; R43) sollten solche Substanzen bevorzugt angewendet werden, die eine geringere sensibilisierende Wirkstärke besitzen. Dabei kann als pragmatisches Abschneidekriterium dort eine Priorität gesetzt werden, wo mehr als 25 % „HS“-Stoffe in einer Komponente auftreten. Solche Inhaltsstoffe sind in hohem Ausmaße unerwünscht und sollten nach Möglichkeit vermieden oder in ihrer Menge reduziert werden. Eine solche Prüfverpflichtung (entweder als freiwillige Selbstverpflichtung oder als Auflage) sollte in Erwägung gezogen werden.
3. Zahlreiche Inhaltsstoffe von Epoxidharzsystemen sind bisher unzureichend hinsichtlich ihrer Wirkstärke einzuordnen. Es werden in dem Projekt jedoch systematische Testreihen vorgeschlagen, die es ermöglichen sollten, zahlreiche derzeit unzureichend charakterisierte Inhaltsstoffe eindeutig in eine der Kategorien „GMS“ oder „HS“ (oder in seltenen Fällen möglicherweise auch „SHS“) zu überführen. Hierfür bedarf es einer gemeinsamen Testung mit einer Reihe von hier vorgeschlagenen *in vitro*-Untersuchungen, die für eine Wirkstärkenbestimmung genutzt werden können. Dieses Instrument scheint dann wirksam, wenn chemisch verwandte Substanzgruppen zusammen analysiert werden, da dies die erforderlichen Relativaussagen (Rangreihen) bereitstellt. Es wäre zu begrüßen, wenn entsprechende Testinitiativen ergriffen werden, um die Anzahl der „U“ Stoffe deutlich zu reduzieren.
4. Für Neuentwicklungen von Epoxidharzsystemen unter (teilweiser) Nutzung bestehender und neuer Inhaltsstoffe können die bereitgestellten Informationen zu geeigneten Testsystemen und zu den derzeit bekannten Eigenschaften von auf dem Markt befindlichen Epoxidharzinhaltsstoffen genutzt werden, um gezielter auch für künftige Gemische die sensibilisierende Wirkstärke bei der Produktentwicklung angemessener einordnen zu können.

Die in diesem Projekt zusammengestellten Informationen zur Wirkstärke von Inhaltsstoffen in Epoxidharzkomponenten erlauben in bisher begrenztem Umfang eine Einordnung in verschiedene Kategorien („HS“, „U“, „GMS“). Die gravierendste Einstufung nach „SHS“ wurde deshalb nicht vergeben, weil die Datenlage nicht ausreichte und die vorliegenden Daten nicht widerspruchsfrei waren. Dies bedeutet jedoch nicht sicher, dass nicht doch Stoffe mit extrem hoher Wirkstärke unter den Epoxidharzinhaltsstoffen wären.

Aber auch die Kategorie „HS“ ist hinreichender Anlass, zur Gefährdungsverminderung Reduktionen in der Konzentration oder – weitergehend – Substitutionen einzelner Inhaltsstoffe anzustreben. In Teilprojekt 5.3 wurden verschiedene Substanzen genannt, die eine geringere Wirkstärke („GMS“) aufweisen und die somit als Substitut geprüft werden sollten. Darüber hinaus sollte dringend angestrebt werden, zusätzliche Stoffe aus der Kategorie „U“ in ihrer Wirkstärke zu prüfen und eindeutig einer der Wirkstärkekategorien („GMS“ oder „HS“, möglicherweise auch „SHS“) zuzuweisen. Hier wird erwartet, dass zusätzliche Stoffe auch aufgrund der Registrierungspflichten unter REACH in Zukunft eindeutiger einzuordnen sein werden.

Als Kriterium für eine besonders hohe Priorität für Substitution oder Expositionsminderung wurde pragmatisch ein Gehalt von 25 % in der jeweiligen Komponente (vor Mischung) vorgeschlagen. Es deutet sich an, dass bei den aliphatischen Aminen als Härter bereits zum derzeitigen Zeitpunkt Ersatzstoffe mit geringerer Wirkstärke verfügbar sein könnten, die als Substitut für „HS“-Stoffe aus technischer Sicht zu prüfen wären und ggfs. verstärkt zur Anwendung kommen sollten. Bei anderen Inhaltsstoffen mit „HS“-Bewertung wären die Kandidaten für eine Substitution genauer auf deren Wirkstärke hin zu prüfen.

Die Überlegung, auch die Reizwirkung in die Bewertung einzubeziehen, wurde verworfen, da fast alle Epoxidharzinhaltsstoffe als mindestens „reizend“ eingestuft sind (ggfs. als „ätzend“), so dass zwar von einer deutlichen Wirkungsverstärkung durch das irritative Potenzial auszugehen ist, aber keine hinreichende Differenzierung von einer Wirkstärkenbetrachtung bei der Hautreizung durch Einzelstoffe erwartet wird. Es ist zu bedenken, dass nicht die gleiche Substanz, die als irritatives Agens wirkt, zugleich ein hohes sensibilisierendes Potenzial besitzen muss. Die beiden Wirkungsendpunkte (Sensibilisierung, Reizung) können auf verschiedene Inhaltsstoffe verteilt sein und doch in Kombination den unerwünschten Verstärkungseffekt herbeiführen.

Zusätzlich wurde eine Liste generiert, die Kreuzreaktivitäten zwischen einzelnen sensibilisierenden Stoffen beschreibt. Diese Information konnte jedoch nicht in spezifische Handlungsvorschläge transformiert werden, so dass zunächst nur die Information zu dieser Fragestellung bereitgestellt und bei Produktbewertungen und Entwicklungen berücksichtigt werden kann.

Ebenfalls als Information soll eine Tabelle dienen, die auf andere relevante Einstufungen verweist. Es ist möglich, dass diese anderen toxikologischen Endpunkte mehr Relevanz besitzen als die Sensibilisierung über den Hautkontakt bzw. die entsprechende sensibilisierende Wirkstärke. Dies trifft sicher auf die krebserzeugende Wirkung zu, wird in der Regel auch für die Atemwegs-sensibilisierung angenommen, ist für reproduktionstoxische Stoffe die Regel und ist

möglicherweise auch für Stoffe, die wegen anderer „irreversible Effekte“ („R68-Stoffe“) eingestuft sind, relevant. Im Zweifel sind hier die quantitativen Aussagen („DNEL“) zu prüfen. Da diese Werte für die hier diskutierten Substanzen noch nicht vorlagen, muss dies als Empfehlung für künftige Prüfungen ausgewiesen werden.

## 8 Literatur

- 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, R. (2008)  
Dermal sensitization quantitative risk assessment (QRA) for fragrance ingredients  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52, 3-23
- Api, A.M.; Vey, M. (2008a)  
Implementation of the dermal sensitization Quantitative Risk Assessment (QRA) for fragrance ingredients  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52, 53-61
- Api, A.M.; Vey, M. (2008b)  
Special Issue on QRA  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52, 1-2
- Basketter, D.; Kimber, I. (2011)  
Predictive tests for irritants and allergens and their use in quantitative risk assessment  
In: Johansen, J.D.; Frosch, P.J.; Lepoittevin, J.-P., Contact Dermatitis, Fifth ed., Springer Verlag Berlin Heidelberg, 229-239
- Basketter, D.A.; Clapp, C.J.; Safford, B.J.; Jowsey, I.R.; McNamee, P.; Ryan, C.A.; Gerberick, F.G. (2008)  
Preservatives and skin sensitization quantitative risk assessment  
*Dermatitis*, 19, 20-27
- Basketter, D.A.; Kimber, I. (2009)  
Updating the skin sensitization in vitro data assessment paradigm in 2009  
*Journal of Applied Toxicology*, 29, 545-550
- Basketter, D.A.; Kimber, I. (2010)  
Contact Hypersensitivity  
In: McQueen, C.A., Comprehensive Toxicology, Elsevier Oxford, 397-411
- Basketter, D.A.; McFadden, J.P.; Kimber, I. (2012)  
Assessing the severity of allergic reactions: a regulatory dilemma  
*Contact Dermatitis*, 67, 3-8
- Danish Working Environment Service (1993)  
Executive Order on the Determination of Code Numbers. (English translation of Arbejdstilsynets bekendtgørelse nr. 301 of 13 May 1993. ISBN 87-7534-456-4  
<http://arbejdstilsynet.dk/da/regler/bekendtgorelser/f/sam-fastsaettelse-af-kodenumre-301.aspx>
- Dearman, R.J.; Basketter, D.A.; Kimber, I. (2012)  
Inter-relationships between different classes of chemical allergens  
*Journal of Applied Toxicology*, in press,
- EC, European Commission (2006)  
Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC  
OJ L 396, 30.12.2006
- Ezendam, J.; Vermeulen, J.P.; de Klerk, A.; de Jong, W.H.; van Loveren, H. (2012)  
A quantitative approach to assess the potency of skin sensitizers in the elicitation phase

*Toxicology*, 299, 20-24

Gardiner, T.H.; Waechter, J.M.; Wiedow, M.A.; Solomon, W.T. (1992)  
Glycidyoxy compounds used in epoxy resin systems: a toxicology review  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 15, S1-S77

Johansen, J.D.; Frosch, P.J.; Menné, T. (2011)  
Allergic contact dermatitis in humans: experimental and quantitative aspects  
In: Johansen, J.D.; Frosch, P.J.; Lepoittevin, J.-P., *Contact Dermatitis*, Fifth ed., Springer Verlag Berlin Heidelberg, 241-251

Jowsey, I.R.; Clapp, C.J.; Safford, B.; Gibbons, B.T.; Basketter, D.A. (2008)  
The impact of vehicle on the relative potency of skin sensitising chemicals in the local lymph node assay  
*Cutaneous and Ocular Toxicology*, 27, 67-75

Kalberlah, F. (2007)  
Vergleichende Bewertung von Epoxidharzen. Teil A: Entwicklung eines Rankingsystems für Epoxidharze. Abschlussbericht zum Projekt F 2062  
Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin Dortmund/Berlin/Dresden  
<http://www.baua.de/de/Publikationen/Fachbeitraege/F2062.html>

Kimber, I.; Dearman, R.J.; Basketter, D.A.; Ryan, C.A.; Gerberick, G.F.; McNamee, P.M.; Lalko, J.; Api, A.M. (2008)  
Dose metrics in the acquisition of skin sensitization: thresholds and importance of dose per unit area  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52, 39-45

Lepoittevin, J.-P. (2011)  
Molecular aspects in allergic and irritant contact dermatitis  
In: Johansen, J.D.; Frosch, P.J.; Lepoittevin, J.-P., *Contact Dermatitis*, Fifth ed., Springer Verlag Berlin Heidelberg, 91-110

Pedersen, L.K.; Johansen, J.D.; Held, E.; Agner, T. (2004)  
Augmentation of skin response by exposure to a combination of allergens and irritants - a review  
*Contact Dermatitis*, 50, 265-273

Peiser, M.; Tralau, T.; Heidler, J.; Api, A.M.; Arts, J.H.; Basketter, D.A.; English, J.; Diepgen, T.L.; Fuhlbrigge, R.C.; Gaspari, A.A.; Johansen, J.D.; Karlberg, A.T.; Kimber, I.; Lepoittevin, J.P.; Liebsch, M.; Maibach, H.I.; Martin, S.F.; Merk, H.F.; Platzek, T.; Rustemeyer, T.; Schnuch, A.; Vandebriel, R.J.; White, I.R.; Luch, A. (2012)  
Allergic contact dermatitis: epidemiology, molecular mechanisms, in vitro methods and regulatory aspects: current knowledge assembled at an international workshop at BfR, Germany  
*Cellular and Molecular Life Sciences*, 69, 763-781

Roberts, D.W. (2012)  
Quantifying skin sensitization potency  
*Contact Dermatitis*, 66, 356-357

Roberts, D.W.; Patlewicz, G.Y. (2010)  
Updating the skin sensitization in vitro data assessment paradigm in 2009 - a chemistry and QSAR perspective  
*Journal of Applied Toxicology*, 30, 286-288; discussion 289

Rustemeyer, T.; van Hoogstraten, I.M.W.; von Blomberg, B.M.E.; Gibbs, S.; Scheper, R.J. (2011)  
Mechanisms of irritant and allergic contact dermatitis  
In: Johansen, J.D.; Frosch, P.J.; Lepoittevin, J.-P., *Contact Dermatitis*, Fifth ed., Springer Verlag Berlin Heidelberg, 43-90

Spee, T.; van Duivenbooden, C.; Terwoert, J. (2006)  
Epoxy resins in the construction industry  
*Annals of the New York Academy of Sciences*, 1076, 429-438

Terwoert, J. (2003)  
Conference on Epoxies, London, April 11th, 2003

Terwoert, J. (o.J.)  
Comparison of product ranking systems related to the case of epoxy's  
unpublished paper



## Anhang 1



- ***INVITTOX* Protocol**
- **KeratinoSens**
- **Index**

---

	Page No.
A. Protocol Introduction	2
B. Technical Description (Step-by-step details)	10

- **A. Protocol Introduction**

- **KeratinoSens**

Induction of antioxidant-response-element dependent luciferase activity in the keratinocyte ARE-reporter cell line KeratinoSens to identify potential skin sensitizing chemicals

- **OBJECTIVES & APPLICATIONS**

**Type of Testing:**

Screening method to detect electrophilic molecules with skin sensitizing potential providing detailed dose-response data. May be used as stand alone method to identify the majority of sensitizers. Ideally to be used as part of an integrated testing strategy.

**Level of Toxicity Assessment:**

Serves as a screening method to detect hazard if used as a global method on different chemical classes.

Quantitative data may be used for potency assessment within specific structural classes, esp. using a read across approach with comparison to related chemicals of known sensitization potential.

**Purpose of Testing:**

If used as stand-alone method, use may be restricted to classification and labelling, relevant to "REGULATION (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures".

If used as part of an integrated testing strategy and combined with read-across, the quantitative results generated should facilitate at least a basic risk assessment and safety prediction, e.g. definition of maximal use levels.

**Context of Use:**

Method intended to partially replace and reduce the number of tests needed of the currently used local lymph node assay (LLNA) for skin sensitization, the only validated test for classification of substances as skin sensitizers (R43).

**Applicability Domain:**

Technically, all chemicals soluble in either water or DMSO can be tested in the current protocol. Extremely hydrophobic molecules with a cLogP > 7 cannot be tested due to solubility issues in DMSO and water. Testing in these cases is sometimes possible at a lower maximal concentration. Compounds with a cLogP of up to 5 were successfully tested. No experience so far for molecules between cLogP 5 and 7, but these are rather rare chemicals.

The majority of skin sensitizers appears to be detected based on the current dataset, but few potential skin sensitizers with an exclusive chemical reactivity towards Lysine-residues turn out to be false-negatives. Hence, in an integrated testing strategy, the test should be combined with a reactivity assay which recognizes specific amine-reactive chemicals.

The test can recognize a variety of pro-haptens, but some phenolic pro-haptens presumably requiring an activation step by P450 enzymes are not detected with the test.

- **BASIS OF THE METHOD**

- The only feature all skin sensitizers have in common is their intrinsic electrophilicity or their potential to be metabolically transformed to electrophilic chemicals. The signaling pathway with the repressor protein Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) and the transcription factor Nrf2 (nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2), which binds to the antioxidant / electrophile response element (ARE / EpRE), is known to respond to electrophilic chemicals and it was found to be a valuable cellular endpoint to detect skin sensitizers *in vitro* <sup>1,2</sup>. This result was confirmed by independent laboratories <sup>3,4</sup>.

- The sensor protein Keap1 contains highly reactive Cys residues. In un-induced conditions, Keap1 is bound to Nrf2, which targets Nrf2 for proteolytic degradation <sup>5</sup>. Covalent modification of crucial Cys residues by small molecules leads to dissociation of Keap1 from the transcriptional regulator Nrf2, which then activates genes (mainly genes coding for phase II detoxifying enzymes) having an antioxidant response element (ARE) in their promoter sequence <sup>5,6</sup>. Measurement of the induction of this signaling pathway in a reporter cell line provides a high-throughput cell-based *in vitro* test to screen for the skin sensitization potential of novel chemicals. The *in vivo* relevance of this signalling pathway for contact allergy and in particular for the T<sub>H</sub>1 response, has been established by Kim et al.<sup>7</sup>. The evidence for the up-regulation of Nrf2-regulated genes by skin sensitizers has recently been reviewed <sup>8</sup>.

- Many phase II genes contain an ARE-element in their promoter. One particular gene is AKR1C2 coding for an aldo-ketoreductase <sup>9</sup>. This particular gene was identified as one of the target genes up-regulated by contact sensitizers in dendritic cells <sup>10,11</sup>.

- The cell line KeratinoSens is stably transfected with a modified vector pGL4.17 from Promega Inc A 56-base-pair genetic element containing the ARE sequence from the AKR1C2 gene (shown below) and the SV40 promotor were inserted upstream of the luciferase gene. The resulting vector was transfected into HaCaT keratinocytes and clones with a stable insertion were selected in the presence of Geneticin / G418. The selected clone 8 (termed KeratinoSens) was further propagated as a reporter cell line. Induction of luciferase is the read-out / endpoint evaluated to determine sensitization potential in this test. Luciferase induction directly indicates activation of a gene regulated by the AKR1C2-ARE element. Cytotoxicity is measured in parallel, and if the gene induction is only observed at cytotoxic concentrations, this is indicative of a false-positive gene-induction generated by a skin irritant.

- ***ARE regulatory sequence from the AKR1C2 gene inserted into the novel reporter vector:***

- 5'-  
TGGTCGCAAGGTGTGCAAGCTGCTGAGTCACCCTGACTGCATCAACCCAGGAGCT

- **EXPERIMENTAL DESCRIPTION**

**Endpoint & Endpoint Detection:**

Two endpoints are measured: (i) Luciferase induction after a 48 h treatment with test chemicals and (ii) cytotoxicity as determined with the MTT assay recorded in a parallel plate with the same cell batch and made up with the same dilutions of the test chemicals.

**Endpoint Value:**

For Luciferase induction the maximal fold-induction over solvent control ( $I_{max}$ ) and the concentration needed to reach an 1.5 fold induction (EC1.5) are calculated. For cytotoxicity the IC50 value is extrapolated.

**Test System(s):**

The KeratinoSens cell line is derived from the human keratinocyte culture HaCaT. It contains a stable insertion of a Luciferase gene under the control of the ARE-element of the gene AKR1C2.

**Basic Procedure:**

Cells are grown for 24 h in 96-well plates. The medium is then replaced with medium containing a final level of 1% of the solvent DMSO containing the test chemical. Each compound is tested at 12 concentrations in the range from 0.98 to 2000  $\mu$ M. Each test plate contains 7 test chemicals, 6 wells with the solvent control, 1 well with no cells for background value and 5 wells with a dose response of the positive control cinnamic aldehyde. In each repetition, three parallel replicate plates are run with this same set-up, and a fourth parallel plate is prepared for cytotoxicity determination. For graphical illustration of the set-up see Annex 1.

- **DATA ANALYSIS/ PREDICTION MODEL**

Chemicals are rated positive in the assay, if (i) the EC1.5 value (concentration for 1.5 fold, statistically significant gene induction) is below 1000  $\mu$ M, and if (ii) the cellular viability at the EC1.5 determining concentration (i.e. the lowest measured concentration with a gene induction > 1.5) is at > 70%. Compounds that only induce the gene activity at cytotoxic levels are not rated positive, as this is the case for some non-sensitizing skin irritants. With this prediction model an accuracy of 85.1% for a list of 67 chemicals was found, if the test was used as stand alone method. The accuracy was raised to 89% if the test was combined with a peptide reactivity assay. At the current stage, no global assessment of the use for potency assessment has been made, as for potency assessment (i) either very specific classes of chemicals should be compared to each other with this test or (ii) the quantitative data generated with the test should be used as part of an ITS.

- **TEST COMPOUNDS & RESULTS SUMMARY**

The test was initially used to screen a library of 67 reference compounds. This set of chemicals included (i) the skin sensitizers from the Sens-it-iv list, (ii) the ECVAM/COLIPA list published by Casati *et al.* and (iii) the ICCVAM list of performance standards for alternative endpoints in the LLNA and (iv) further chemicals selected from the ICCVAM database.

Table 1 gives the structural classes tested, and the performance of the assay for these classes:

Table 1. Chemical classes in the 'Silver list' used to evaluate the predictive capacity

Sensitizers	Number of	Number of correct
-------------	-----------	-------------------

	compounds tested	predictions
Aldehydes	6	6
Amines	4	3, 1 borderline
Aromatic Esters	2	1
Epoxides	1	1
Haloaromatic Compounds	3	3
Metals	2	2
Michael Acceptors	9	9
Michael Acceptor Aldehydes	3	3
Miscellaneous	5	5
Peroxides	1	0
Phenols	4	2
Thiols	3	2
<b>Non-Sensitizers</b>	<b>Number of compounds tested</b>	<b>Number of correct predictions</b>
Alcohols	5	5
Aldehydes	1	0
Aromatic Esters <sup>(2)</sup>	4	2
Haloaromatic Compounds	1	1
Miscellaneous	1	1
Organic Acids	7	7
Phenols	1	1
Polysacharides	1	1
Surfactants	2	1

<sup>(1)</sup> includes propyl paraben, which is a reported human sensitizer

#### • MODIFICATIONS OF THE METHOD

The original SOP was developed and defined based on a series of range finder experiments<sup>1</sup>. This SOP was not further modified, and no modifications appear necessary for the time being. The same SOP as used for the published screening was used in the ring study.

Only two modifications to the prediction model were made based on further screening results:

- The inclusion of the condition that chemicals are only rated positive if luciferase induction occurs at non-cytotoxic concentrations. This avoids false-positive results for some non-sensitizing irritants
- Some non-sensitizers occasionally yield false-positive results in some repetitions, if 1.5-fold luciferase induction at a concentration of 2000 µM is rated as positive. Thus, chemicals are rated positive only if the EC1.5 is below 1000 µM in the improved prediction model.

Finally, based on the experience in the ring study, it can be concluded that runs can be accepted if they fulfil one of the two the quantitative acceptance criteria in relation to the positive control cinnamic aldehyde.

#### DISCUSSION

- Ethical issues: The test is based on a human cell line established 23 years ago. Thus neither human nor animal tissues were required to set-up the test methodology. Fetal calf serum is used in the test, but the level is reduced to

1% in the test plates, thus less than 2 ml of FCS is used to test one compound in the full dose-response and in three repetitions and in triplicate.

- Special equipment: A 96 well luminometer is needed, ideally equipped with an injector to add the luminescence substrate to individual wells immediately before reading the well. The preferred device (GloMax™ 96 Microplate Luminometer, from Promega) is currently available for less than 12'000 Euro, and thus cost of entry for this technology is low. Some other luminometers can also be used, and four different models have been used in the ring study. Identical results are obtained with Tecan instruments (i.e. the second major supplier of luminometers)
- In principle no hands-on training is needed: All four labs participating in the ring study were able to perform the test just based on the SOP. No visits to the lead lab were organized prior to the ring study. Nevertheless, a short training may accelerate the method transfer in further validation studies. The key limitation for rapid transfer is the availability of a sufficiently sensitive luminometer, paired with the correct test plates fitting the particular device and the correct substrate for the measurement. Based on experience from the ring-trial, a basic initial experiment is now designed to ensure that all these parameters are fulfilled right from the start. This is included as Annex II.
- The protocol can easily be adapted to high throughput testing. A trained experimenter can run (without the use of robotics) at least 42 compounds in one week in triplicate, and thus needs three weeks for the final results in three repetitions on 42 compounds (full dose response at 12 concentrations). By using robotics, the throughput might be significantly enhanced. As the method is based on a very standardized cell biology setup and uses an adherent cell line grown in 96-well plates, it should be possible to run the test on current laboratory robots.
- Cost: To test 1 compound in three repetitions each with three replicates at 12 concentration, the media and FCS cost are: 2.4 €, the luciferase substrate costs are: 72 €, the costs for the Lysis reagent are: 2.5 € the costs for the test plates are: 6.5 €, the costs for other disposables (pipettes, tissue culture dishes, MTT, PBS, DMSO, test tubes) are estimated to be around: 10 €. Thus the cost per compound excluding labor and fixed equipment is: 93.5 €
- Advantages: The reproducibility is very high, the well to well variation of the signal in solvent control wells is very low (around 15%), the test is amendable to high throughput screening, the read-out is simple and does not require many experimental steps (after the washing and lysis step the plates can directly be placed in the luminometer), and thus is much simpler as if the same readout was to be obtained with e.g. RT-PCR. The method is also much cheaper as compared to RT-PCR.
- Limitations: Different substance classes give a different dynamic range, thus the test has a broad applicability domain for the yes/no answer, but limitations in its capacity to predict potency using a global prediction model. The limitations in the applicability domain have been discussed above.

## • STATUS

### **In Development:**

The protocol in its current form does not require any further development and has been tested in an extended ring study.

We currently conduct some basic research to evaluate whether in the future additional endpoints may be included, but based on the current knowledge it is sufficient to evaluate the two endpoints cytotoxicity and luciferase induction.

**Known Laboratory Use:**

The assay has been used in the ring study by four different external laboratories. All these laboratories have a licence to further use the assay for their own internal research, but no results of such additional research has been reported yet. The method is used routinely in the Givaudan laboratory to screen novel chemicals.

**Participation in Evaluation Studies:**

A detailed evaluation study was conducted in four external laboratories plus our own laboratory. The study involved two stages:

- a) Method transfer stage: Testing of seven chemicals. Participants knew the chemicals, but only knew historical data for three of the chemicals
- b) Further evaluation of predictive capacity: Testing of 21 blind coded chemicals.

The chemical selection included all chemicals from the ECVAM/COLIPA list published by Casati *et al.* and the ICCVAM list of performance standards for alternative endpoints in the LLNA. All experiments were run with three repetitions.

The inter-laboratory variability was only slightly higher as compared to the intra-laboratory variability. The details of these results are summarized in separate documents (Attachments 8a, 8b, 10a, 10b, 10c, 10d and 12b to the TST). A summary of the predictive capacity for the 28 chemicals tested is given below in Table 2.

Table 2. The rating of 28 chemicals in five laboratories and Cooper statistics

The data give the number of positive repetitions (significant gene induction above 1.5-fold at a concentration below 1000 µM) of the total number of repetitions done. In red and orange chemicals rated positive, in green chemicals rated negative.

	Study phase	Positive with EC 1.5 up to 1000 µM					
		GIVhist	GIV	Lab1	Lab2	Lab3	Lab4
<b>Sensitizers</b>							
Hexyl cinnamic aldehyde	MT	2 of 2	1 of 3	0 of 3	1 of 3	3 of 3	3 of 3
Citral	MT	2 of 2	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
Ethylene glycol dimethacrylate	MT	2 of 2	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
2,4-Dinitrochlorobenzene	MT	2 of 2	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
4-Methylaminophenol sulphate (f	BC	2 of 2	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
(5-chloro)-Methylisothiazolinone	BC	2 of 2	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
Phenyl benzoate	BC	1 of 4	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3	1 of 3
Imidazolidinyl urea	BC	3 of 4	2 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
Oxazolone	BC	4 of 4	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
4-Phenylenediamine	BC	2 of 2	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
Cinnamic aldehyde	BC	4 of 4	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
Isoeugenol	BC	4 of 4	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
tetramethylthiuramdisulfide	BC	2 of 2	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
2-Mercaptobenzothiazole	BC	4 of 4	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
Eugenol	BC	0 of 4	1 of 3	1 of 3	3 of 3	3 of 3	1 of 3
Cinnamyl alcohol	BC	4 of 4	3 of 3	2 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
Glyoxal	BC	4 of 4	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
4-nitrobenzylbromide	BC	2 of 2	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
Methyldibromo glutaronitrile	BC	2 of 2	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
<b>Non-sensitizers</b>							
Isopropanol	BC	0 of 2	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3
Methyl salicylate	MT	0 of 2	0 of 3	1 of 3	0 of 3	1 of 3	1 of 3
Chlorobenzene	MT	0 of 2	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3	1 of 3
Sulfanilamide	MT	0 of 2	0 of 3	0 of 3	0 of 3	1 of 3	0 of 3
Salicylic acid	BC	0 of 2	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3
Sodium lauryl sulfate	BC	0 of 2	3 at cytotox	1 at cytotox	1 at cytotox	1 at cytotox	3 of 3
Lactic acid	BC	1 of 4	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3
Glycerol	BC	0 of 4	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3	0 of 3
Diethyl phthalate	BC	0 of 2	0 of 3	0 of 3	1 of 3	0 of 3	2 of 3
correct positive		17	16	16	17	18	17
correct negative		9	9	9	9	9	7
false positive		0	0	0	0	0	2
false negative		2	3	3	2	1	2
n		28	28	28	28	28	28
Sensitivity		89.5	84.2	84.2	89.5	94.7	89.5
Specificity		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	77.8
Accuracy		92.9	89.3	89.3	92.9	96.4	85.7

(\*) Note: induction at cytotox concentrations for SDS was not considered positive in Cooper stats  
 If 2 of 3 reps are positive and overall dose response is given in all reps, compound is considered positive  
 If only one rep is positive and dose response is not evident compound is considered negative

MT: Method transfer / phase I data (7 chemicals)

BC: Blind study / phase II data (21 chemicals)

### Participation in Validation Studies:

No formal validation study has been conducted so far, yet the parameters of the evaluation study reported above may fulfil the key criteria of pre-validation studies

- number of test chemicals (28)
- number of repetitions (3)
- number of labs (5)



- the use of blind coded chemicals

**Regulatory Acceptance:**

Not applicable

- **PROPRIETARY &/OR CONFIDENTIALITY ISSUES**

The luciferase gene luc2 in the KeratinoSens cell line is patent protected by Promega Corp. It can be used by any laboratory for research use with the proviso that the substrate used for the assay is purchased from Promega (see Annex 3). If the assay is used to offer commercial service, a licence fee needs to be paid to Promega, but this is not prohibitive as it is the current business model of Promega.

A patent from the year 2001 (EP1130086 A1) on the general use of reporter cell lines derived from HaCaT for the use of toxicity screening has been abandoned, and thus does not pose any limitations.

Givaudan has decided to follow a no-patent strategy for new developments in alternative assays, and thus has not filed any patent applications on either KeratinoSens nor on the general principle of using Nrf2-regulated genes as screening targets in order to not hamper validation and regulatory acceptance.

Givaudan will share the recombinant cell line KeratinoSens with third laboratories under a material transfer agreement. No licence fee will be reimbursed for research and validation studies. A licence fee may be asked for commercial testing.

- **ABBREVIATIONS & DEFINITIONS**

ARE :	antioxidant response element
Keap1 :	Kelch-like ECH-associated protein 1
Nrf2 :	nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
AKR1C2:	Aldo-keto reductase family 1, member C2
DMSO:	Dimethyl sulfoxide
FCS:	Foetal calf serum
PBS:	Phosphate buffered saline
MTT :	Thiazolyl Blue Tetrazolium bromide
EC 1.5:	Extrapolated concentration for a 1.5 fold of luciferase induction
I <sub>max</sub> :	Maximal induction of luciferase activity over solvent control over the complete dose-response range measured
EC50:	Concentration for reduction of cellular viability by 50% as determined with the MTT assay

Last Up-date: **20.8.2010**

- **B. Technical Description**

- **Procedure Details, Latest Version:** SOP\_KeratinoSens Version 1.3.

---

**KeratinoSens assay**

**Contact Person: Dr. Andreas Natsch**

Full Address: Ueberlandstrasse 138

Tel: +41 44 824 21 05

Fax: +41 44 824 29 26

E-mail: andreas.natsch@givaudan.com

**Contact Person: Dr. Roger Emter**

Full Address: Ueberlandstrasse 138

Tel: +41 44 824 25 15

Fax: +41 44 824 29 26

E-mail: roger.emter@givaudan.com

---

- **HEALTH & SAFETY ISSUES**

The reagents used do not require specific safety measure. The laboratory needs to follow good cell culture practice. The key health issue comes from the testing of potential skin sensitizers, and thus any contact of the test compounds with the skin should be avoided.

- **MATERIALS AND PREPARATIONS**

- **CELL /TEST SYSTEM**

The transgenic cell line KeratinoSens with a stable insertion of the Luciferase-construct is supplied by Givaudan on dry ice. Upon receipt, it should be propagated to passage 2 – 4 and multiple vials of the resulting cell population should be stored in liquid nitrogen as a homogeneous stock. Cells from this stock are then used for routine testing. The cells propagated from this original stock can then be kept in culture for a maximum passage number of 25.

- **EQUIPMENT**

**Fixed Equipment:**

- Sterile hood for cell culture work
- CO<sub>2</sub> incubator
- 8 channel pipettes for volumes between 10 µl and 200 µl
- 96 well plate Luminometer with an injector (single injector sufficient, no need for double luciferase measurement), preferred model is the GloMax™ 96 Microplate Luminometer (Promega)
- Other models which have been used successfully:
  - Infinity F500 (Tecan)
  - Infinity M200 (Tecan)
  - FLUOstar OPTIMA (BMG Labtech)
  - Orion II/MPL4 microplate luminometer; without injector (Berthold)
- 96 well plate absorbance reader (equipped for reading at 600 nm) for MTT measurement

**Consumables, Media, Reagents, Sera, others:**

Below are listed the reagents used for the routine testing. For most cell-culture products, alternative products from other manufacturers will work equally.

- For the ring study each laboratory used their own FCS supplier and this did not affect the results.

- Lysis buffer is the only complex reagent which is specific to the indicated supplier and where no alternative products were tested yet, and which contains a proprietary composition known only to Promega.
- For the luciferase substrate, the Promega quality should be used for licence reasons (See Annex 3). Ideally the luminometer is equipped with an injector, and then a flash substrate is used (substrate giving only short but intense light production). If no injector is available, a Glow-substrate (yielding long-time steady light emission at low intensity) has also successfully been used, but it can generate issues with sensitivity or with a gradient over the plate if long integration times are needed.
- It is important that the test plates for the luminescence reading exactly fit the geometry of the reader: If the height of the plates is not sufficient, there can be a well-to-well interference by light emitted in one well influencing the results in the adjacent well. This may especially be the case if a Glow-substrate is used.

Note: Three factors are crucial for luminescence readings: (i) The choice of a sensitive luminometer, (ii) of a plate format with sufficient height to avoid light-cross-contamination and (iii) a substrate with sufficient light output to ensure sufficient sensitivity and low variability. Annex 2 describes a basic experimental setup, which should be performed as a first experiment, in order to validate that these three points are met.

	<b>Product</b>	<b>Company</b>	<b>Catalog Number</b>
<b>Medium</b>	D-MEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), liquid with GlutaMAX™ I, 1000 mg/L D-Glucose, Sodium Pyruvate	Gibco	21885-025
<b>Serum</b>	Foetal calf serum Origin: South America An alternative source of the serum can be used with the standard supplier for each Laboratory	AMIMED	2-01F10-I

	<b>Product</b>	<b>Company</b>	<b>Catalog Number</b>
<b>Phosphate buffered saline</b>	DPBS	Gibco	14190
<b>Trypsin</b>	0.05% Trypsin-EDTA	Gibco	25300
<b>G-418</b>	Geneticin (G418)	Gibco	10131-027
<b>EDTA</b>	Ethylenediamin-tetra-acetic acid trisodium salt	FLUKA	03710
<b>Solvent</b>	DMSO	Sigma	41650
<b>Lysis buffer</b>	Passive Lysis Buffer, 5x	Promega	E1941
<b>Luciferase substrate</b>	Luciferase Assay System 10-Pack	Promega	E1501

<b>MTT</b>	Thiazolyl Blue Tetrazolium bromide	Fluka	88415
<b>Positive control</b>	Cinnamic aldehyde, MW 132.16, CAS-Nr. 104-55-2, > 99%	Aldrich	239968
<b>White 96 well culture plates</b>	Lia-Plate, white, Tissue culture (TC), 96 well, flat bottom, with lid, sterile	Greiner Bio-One	655 083
<b>Transparent 96 well culture plates</b>	Tissue culture (TC) test plate, 96 well, flat bottom	Orange Scientific	5530100
<b>Addhesive foils to cover plates during 2 day incubation period</b>	Sealing tape SI	Nunc	0236366
<b>Culture plates</b>	Culture Dishes 100 x 20 mm	Milian	TP-93100
<b>CryoTubes</b>	CryoTube 1,8 ml SI	Nunc	368632

## PREPARATIONS

### Media and Endpoint Assay Solutions:

#### *Maintenance medium*

The maintenance medium for the KeratinoSens cell line is prepared by supplementing 500 ml D-MEM with 50 ml FCS (final FCS concentration: 9.1 %) and 5.5 ml Geneticin Gibco (final concentration 500 µg/ml). The medium is stored at 4°C and used within 28 days.

#### *Medium for freezing the cells*

D-MEM containing 20% FCS and 10% DMSO.

#### *Medium for exposure to chemicals*

Supplementing 495 ml D-MEM with 5 ml FCS (final FCS concentration:1%) No Geneticin is added. The medium is stored at 4°C and used within 28 days.

#### *EDTA solution 10%, pH 8*

10 g EDTA is dissolved in 100 ml H<sub>2</sub>O and NaOH is added to bring the solution to pH8, sterilized by filtration.

### Test Compound solutions and positive control solution:

All chemicals are dissolved to a final concentration of 200 mM in DMSO. To this end 20 – 40 mg of chemicals are weighted into pre-tared glass vials. A volume of DMSO calculated according to the following formula is added:

$$V = 5 \times \frac{(p \div 100) \times w}{MW} - \frac{w}{1000}$$

Where

V is the volume of DMSO in ml to be added

p is the purity of the chemical in %

MW is the molecular weight of the chemical in g / mol

w is the exact weight of the chemical added to the vial in mg

All DMSO solutions can be considered self-sterilizing, and no sterile filtration is applied to any DMSO solution.

Chemicals not soluble in DMSO are dissolved and diluted in sterile water and the solutions are sterilized by filtration through a 0.2µM filter.

Chemicals which have no defined molecular weight (such as small polymers) are tested considering a *pro forma* molecular weight of 200, or, in other words, the stock solution is prepared to a concentration of 40 mg / ml or 4 %.

### Positive Control Solution(s):

Cinnamic aldehyde is dissolved to a final concentration of 200 mM in DMSO as described above. This solution is further diluted to a final concentration of 6.4 mM by adding 32 µl of the 200 mM solution to 968 µl of DMSO

### Negative Control Solution(s):

There is no negative control chemical tested in each run. As control the DMSO solvent control is used, and each test plate contains six wells with the DMSO control, as indicated below.

### Preparation of the 100 × DMSO Master plate

Based on these DMSO solutions the 100 × DMSO master plate is prepared. It contains seven different test chemicals in rows A – G and a control row in row H. For the test chemical rows, 100 µl of DMSO is pipetted into column 1 to 11. For each test chemical then 200 µl of the 200mM stock solution is added to column 12. Serial dilutions are then prepared by transferring 100 µl from column 12 to column 11, mixing by repeated pipetting (at least 3 times) in column 11 and then transferring again 100 µl to column 10 and so forth.

The control row contains 100 µl DMSO only in column 1 – 6 and column 12. To column 7 – 10 100 µl of DMSO are added and to column 11 200 µl of the 6.4 mM stock solution of cinnamic aldehyde is added. Serial dilutions of the cinnamic aldehyde solution starting from column 11 and ending in column 7 are then made as described above for the test compound dilutions.

The schematic setup of the 100 × DMSO master plate is shown below, concentrations are given in mM:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	comp.1 0.098	comp.1 0.195	comp.1 0.39	comp.1 0.78	comp.1 1.56	comp.1 3.125	comp.1 6.25	comp.1 12.5	comp.1 25	comp.1 50	comp.1 100	comp.1 200
B	comp.2 0.098	comp.2 0.195	comp.2 0.39	comp.2 0.78	comp.2 1.56	comp.2 3.125	comp.2 6.25	comp.2 12.5	comp.2 25	comp.2 50	comp.2 100	comp.2 200
C	comp.3 0.098	comp.3 0.195	comp.3 0.39	comp.3 0.78	comp.3 1.56	comp.3 3.125	comp.3 6.25	comp.3 12.5	comp.3 25	comp.3 50	comp.3 100	comp.3 200
D	comp.4 0.098	comp.4 0.195	comp.4 0.39	comp.4 0.78	comp.4 1.56	comp.4 3.125	comp.4 6.25	comp.4 12.5	comp.4 25	comp.4 50	comp.4 100	comp.4 200
E	comp.5 0.098	comp.5 0.195	comp.5 0.39	comp.5 0.78	comp.5 1.56	comp.5 3.125	comp.5 6.25	comp.5 12.5	comp.5 25	comp.5 50	comp.5 100	comp.5 200
F	comp.6 0.098	comp.6 0.195	comp.6 0.39	comp.6 0.78	comp.6 1.56	comp.6 3.125	comp.6 6.25	comp.6 12.5	comp.6 25	comp.6 50	comp.6 100	comp.6 200
G	comp.7 0.098	comp.7 0.195	comp.7 0.39	comp.7 0.78	comp.7 1.56	comp.7 3.125	comp.7 6.25	comp.7 12.5	comp.7 25	comp.7 50	comp.7 100	comp.7 200
H	blank solvent	blank solvent	blank solvent	blank solvent	blank solvent	blank solvent	0.4 mM cinn.ald.	0.8 mM cinn.ald.	1.6 mM cinn.ald.	3.2 mM cinn.ald.	6.4 mM cinn.ald.	no cells blank

For test chemicals not soluble in DMSO, all the dilutions are made in water.

The DMSO level in all the wells of the final test solution must in these cases also be adjusted to 1% as for the other compounds. This is detailed below.

## METHOD

- **TEST SYSTEM PROCUREMENT:**

Stocks of the cells can be prepared by the test lab based on the culture received from Givaudan.

- **ROUTINE CULTURE PROCEDURE:**

**Thawing:** Upon receipt, the frozen cells should be transferred to a liquid nitrogen tank for prolonged storage. To thaw the cells, they should be warmed in a 37°C water bath. The cells are then resuspended in 10 ml maintenance medium and pelleted by centrifugation at 125 g for 5 min to get rid of the DMSO used for freezing. The cell pellet is then resuspended in 10 ml of maintenance medium with 9.1% FCS without Geneticin. Cells are plated in a 10 cm tissue culture dish. Geneticin-containing medium is only added in the next passage.

**Maintenance:** Cells are maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium containing Glutamax (Gibco/Invitrogen) supplemented with 9.1 % fetal calf serum and 500 µg/ml Geneticin at 37°C in the presence of 5% CO<sub>2</sub>. 80-90% confluent cells are washed twice with DPBS containing 0.05% EDTA, then Trypsin-EDTA (1 ml / plate) is added and plates are put back into the 37°C incubator. After cells have detached (usually after 5 – 10 min), they are resuspended in 10 medium and split at a ratio of 1:4 – 1:16 in fresh medium and grown to 80-90% confluency. With a split ratio of 1:4, cells need 2 days to reach confluency again, in a ratio of 1:8, cells need 3 days (normally done for the weekend) and in a ratio of 1:16 4 -5 days. Antibiotics against microbial contaminations are not used in the standard cultivation of these cells, nor are they used when cells are seeded for testing. Routinely, 100 mm culture dishes are used. However, cells may also be grown in T75 flasks.

**Freezing:** For the preparation of frozen stocks, the cells are harvested as described above, pelleted by centrifugation (125 g for 5 min), and resuspended in growth medium containing 20% FCS and 10% DMSO at a density of 3 - 4 x 10<sup>6</sup> cells per ml. The cells are aliquoted into CryoTubes and frozen in a -80°C freezer using a Freezing Container. After 24 h they are then transferred to liquid nitrogen.

**Cell seeding for testing:**

- Cells are split on Friday afternoon in a split ratio of 1:8 or 1:6 and 1:12 and grown for 3 – 4 days in 10 cm culture dishes.
- On Monday morning the media is replaced with fresh medium.
- The cells from the 1:8 / 1:6 split are then used to prepare assay plates on Monday afternoon, whereas the cells from the 1:12 split are used on Tuesday afternoon to prepare additional assay plates.
- At the stage of preparing assay plates, cells should be 80- 90 % confluent, but should never be grown to full confluency.
- The cells are washed twice with PBS containing 0.05% EDTA, harvested as described above, re-suspended in DMEM with 9.1% FCS without G-418 and adjusted to a density of 80'000 cells / ml.
- The cells are then distributed to the 96-well plates, 125 µl (containing 10'000 cells) per well. It is very important to avoid sedimentation of the cells during this step and to assure that the same cell number is distributed to all wells. If this is not carefully assured, this step may give the highest well-to-well variability in the assay.
- Four parallel plates are prepared for each batch of seven test chemicals: Three white 96 well plates and one transparent 96 well plate.

- **TEST MATERIAL EXPOSURE PROCEDURES:**
  - After seeding, the cells are grown for 24 h in the 96-wells microtiter plates in presence of 9.1 % FCS without G-418 prior to compound addition.
  - The medium is then removed by aspiration and replaced with 150 µl DMEM-medium containing 1% FCS but without Geneticin.
  - The 100 × DMSO master plate (prepared as described above) is replicated into a fresh plate (10 µl solution per well) and the DMSO solution is diluted 25-fold by adding 240 µl of DMEM-medium containing 1% FCS.
  - For chemicals dissolved in water, 10 µl per well of the stock solution, 10 µl per well of DMSO and 230 µl of DMEM-medium containing 1% FCS are mixed to adjust to the same DMSO level.
  - This resulting 4 × master plate with medium is then distributed to the replicate assay plates: 50 µl each to three white assay plates and 50 µl to one cytotoxicity plate (see Annex I).
  - All the plates are then covered with a foil (Sealing tape SI, Nunc) to avoid evaporation of volatile compounds and to avoid cross-contamination between wells by volatile compounds.
  - The plates are then incubated for an additional 48 hours in the CO<sub>2</sub> incubator.
  
- **ENDPOINT MEASUREMENT(S):**
  - After the incubation time, the supernatant is aspirated from the white assay plates and discarded.
  - The cells are washed once with DPBS.
  - To each well, 20 µl of passive lysis buffer is added (at this stage, the formation of foam should be avoided by careful pipetting) and the cells are incubated for 20 min at RT (Note: Between processing of successive assay plates, the time should be equal or greater than the cycle time for the luminometer to read one plate in order to ensure constant lysis time for each plate).
  - The plates with the cell lysate are then placed in the luminometer for reading: The luminometer is programmed to
    - (i) add 50 µl of the luciferase substrate to each well,
    - (ii) to then wait for 1 second and
    - (iii) then to integrate the luciferase activity for 2 seconds. Thus the cycle time to read one plate is 10 min.
    - Alternative setting may be needed depending on the model of luminometer used.
  - For the cell viability assay plate, the medium is replaced with 200 µl fresh medium containing 1% FCS.
  - 27 µl of a MTT solution (5mg/ml in DPBS) is then directly added to each well of the transparent 96-well plate.
  - The plates are covered with a sealing tape and returned to the incubator.
  - After 4 hours incubation, the medium is removed and 200 µl of a 10% SDS solution is added to each well.
  - The plate is covered with a sealing tape and placed protected from light in the incubator. After overnight incubation to dissolve the cells, the absorption at 600nm is determined for each well. Alternatively (for experiments finishing on Friday), the plates are left in the incubator protected from light over the weekend and read on the following Monday.



- **ACCEPTANCE CRITERIA**

- A) Cinnamic aldehyde as positive control must be positive, thus the gene induction by this control must be statistically significant above the threshold of 1.5 in at least one dose.
- B) The  $I_{\max}$  and the EC 1.5 for cinnamic aldehyde is calculated. The targets are: (i) Average induction in the three replicates for cinnamic aldehyde at 64  $\mu\text{M}$  should be between 2 and 8, and (ii) the EC 1.5 value should be between 7  $\mu\text{M}$  and 30  $\mu\text{M}$ . At least one of these criteria must be met, otherwise the run is discarded. If only one criteria is fulfilled, it is recommended to carefully check the dose-response of cinnamic aldehyde in order to decide on acceptability
- C) For acceptance of the test for a given master plate in a given repetition, the average variability in the 3  $\times$  6 solvent control wells for each master plate/repetition should be below 20%. If the variability is higher results are discarded.

These acceptance criteria are automatically calculated in the Summary sheet of the Excel file, and results should appear as in below example:

Criteria		Quality control: Variability blank	
EC 1.5	EC 1.5	Ind. 64 $\mu\text{M}$	% standard deviation blanks
12.93	TRUE	TRUE	15.16659 ACCEPTED

The results for these controls are always reported along with the test results.

- **DATA ANALYSIS**

- For each set of seven chemicals, a copy of the standard file 'Attachment1b\_SOP\_calculation.xls' is made. The fields which need to be filled in are marked yellow. On the 'Summary sheet' the compound identifiers and the plate identifier are inserted. On the sheet 'rep1' the plate readout of the triplicate analysis can directly be inserted in the yellow areas. The second and third repetitions are added to sheet 'rep2' and 'rep3'. The cytotoxicity results are pasted into the sheets 'Cytotoxicity (1) – (3)'.
  - This file then automatically calculates the gene induction and the wells with statistically significant induction over a given threshold (default value set to 1.5 = 50% enhanced gene activity). Furthermore the maximal induction ( $I_{\max}$ ) and the EC value (concentration for induction above threshold), both with linear and log-linear extrapolation, are calculated similar to the LLNA. The results from the different repetitions are then summarized in the 'Summary sheet'. This sheet also generates for each chemical a plot summarizing the gene induction and cytotoxicity dose-response in all repetitions.
- The data are also automatically plotted in the graphs on the different repetition sheets. The automatically calculated  $I_{\max}$  and **the EC values should visually be checked** with the help of this graphs, as uneven dose-response curves or large variation may lead to wrong extrapolations which may need to be corrected manually.
  - **Note:** Especially in the very rare cases with a **statistically non-significant induction above 1.5-fold** which is followed by a higher concentration with a statistically significant induction, the automatically calculated value may in some cases be wrong. In such cases a warning ('Check EC1.5!') appears in the summary sheet in the cells S15 – U21. Such a statistically non-significant induction may occur in cases with a very steep dose response, which may lead to differing fold-induction values between replicates which are not normally distributed, and thus the t-test may not be statistically significant even if all three replicates are clearly above the threshold of 1.5. If a clear dose-response for induction is apparent from the plot, the four parameters needed for the extrapolation of EC1.5 values (concentration and

fold-induction below the threshold of 1.5 as well as concentration and fold-induction above the threshold) may then be manually entered in Row 44 – 50 for the respective chemical at the respective repetition. However, these runs are only considered as valid and positive if the fold induction at any (higher) concentration is statistically significant and above the threshold of 1.5.

In the (very rare) cases of biphasic dose-response curves which do cross the threshold of 1.5 twice, the EC1.5 value is also not correctly calculated. These cases are easily spotted by inspection of the dose-response-plot.

- **Note:** The current prediction model rates any chemical with significant gene induction above 1.5 positive and thus likely to be a sensitizer. Other EC value can automatically be calculated by modifying the threshold in the 'summary sheet', thus EC2 and EC3 values can easily be calculated by just changing this single figure.
- **Note:** For chemicals which generate a 1.5-fold or higher induction already at the lowest test dose of 0.98 µM, the EC1.5 value cannot be calculated automatically, for these chemicals the EC1.5 value of <0.98 is manually set based on visual inspection of the dose-response curve.

- **PREDICTION MODEL**

Chemicals are rated positive if the following conditions are met:

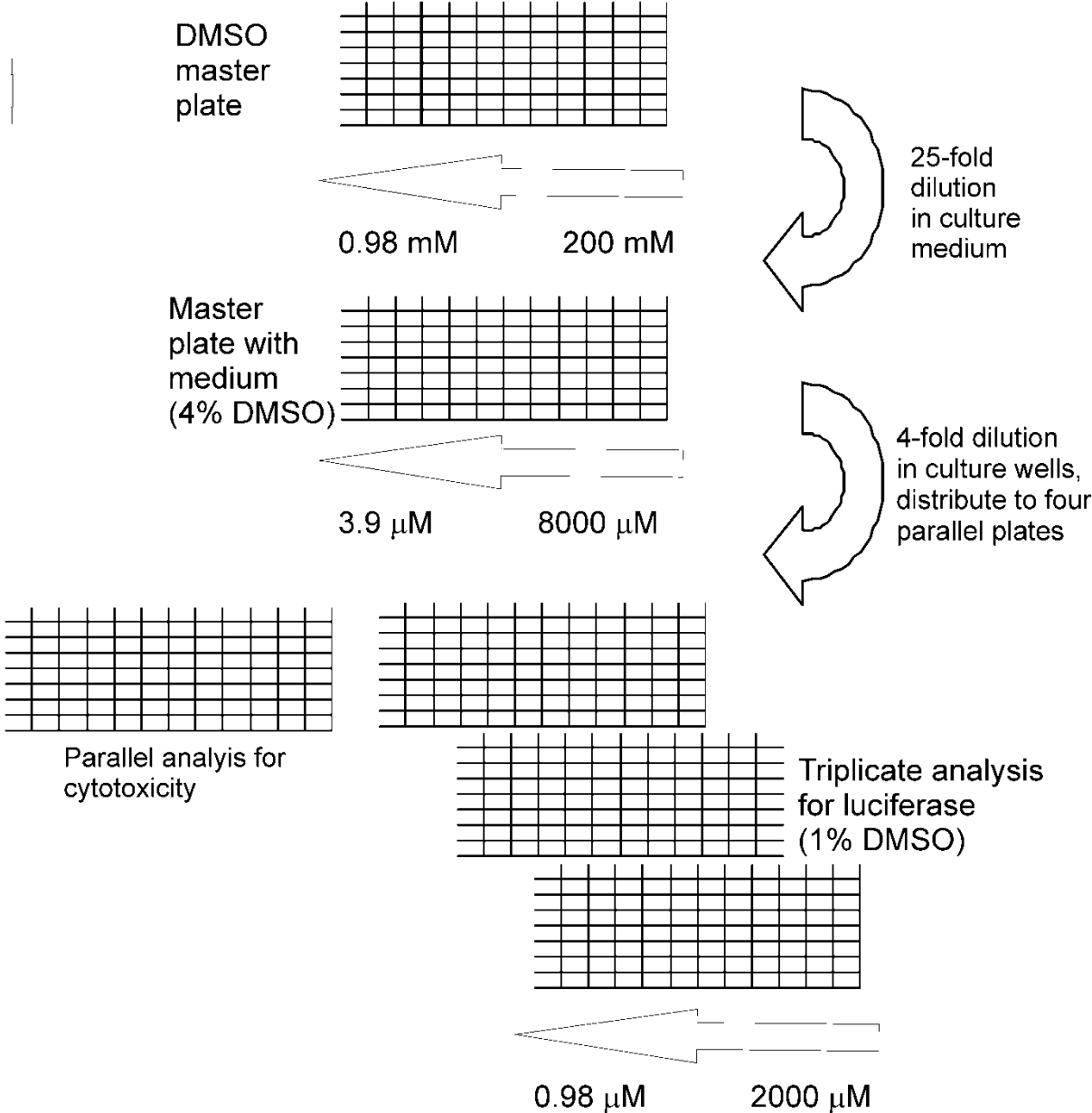
- The  $I_{max}$  is > 1.5-fold gene induction and the EC1.5 value is below 1000 µM in all three repetitions or in at least 2 repetitions.  
If an EC1.5 value is calculated automatically in the summary sheet, this already indicates that the gene induction is statistically significant at the corresponding concentration according to a T-test.
- If the  $I_{max}$  is exactly equal to 1.5, the chemical is still rated negative and no EC1.5 value is calculated by the evaluation sheet.
- At the lowest concentration with a gene induction above 1.5 fold (i.e. at the EC 1.5 determining value), the cellular viability is above 70%. If this is not the case, a warning ('cytotox') appears in the summary sheet, cells O15 – Q22.
- There is an apparent overall dose-response for luciferase induction, which is similar between the repetitions.

These parameters are automatically calculated and these automatic calculations are correct in the vast majority of the cases. Nevertheless, a careful inspection of the dose-response curves for both endpoints, both in the individual repetitions and in the summary file is recommended for quality control. In particular uneven dose response curves can lead to wrong extrapolations in few cases, and these are detected by visual inspection.

Note: In rare cases, chemicals which induce the gene activity very close to the cytotoxic levels are positive in some repetitions at non-cytotoxic levels, and in other repetitions only at cytotoxic levels. Examples of such molecules are Ethyl-hexyl-acrylate or hexyl-cinnamic aldehyde. Such molecules may be retested with more narrow dose-response analysis with dilution of 1.3333-fold between wells instead of two-fold dilutions to decide if induction is at cytotoxic levels or not. An example of such an analysis is described in Emter et al., 2010 for SDS.

- ANNEXES

- ANNEX 1. EXPERIMENTAL SETUP, PREPARATION OF THE MASTER PLATE AND DILUTIONS.



• **ANNEX 2. BASIC EXPERIMENT FOR TRANSFERABILITY TO ENSURE OPTIMAL LUMINESCENCE MEASUREMENTS IN THE KERATINOSSENS ASSAY**

Three parameters are critical to facilitate reliable results:

- a) Sufficient sensitivity giving a stable background in control wells
- b) No gradient over the plate due to long reading times
- c) No light contamination in adjacent wells from strongly active wells

As a first experiment for method transfer, the set-up of the plate below needs therefore to be tested (triplicate analysis according to the SOP).

**An analysis then needs to be made to ensure:**

- a) Clear dose response in row D, with the  $I_{max} > 20$ -fold above background, in most cases  $I_{max}$  values between 100 and 300 are reached
- b) No dose-response in row C and E (no induction value above 1.3) (-> i.e. **no light contamination** esp. next to strongly active wells in the EGDMA row)
- c) No statistically significant difference between the rows A, B, C, E, F and G. (i.e. **no gradient** over plate)
- d) Variability in any of the rows A, B, C, E, F and G and in the DMSO wells in row H below 20% (i.e. **stable background**)

EGDMA = Ethyleneglycoldimethacrylate, CAS 97-90-5, a strongly inducing compound

CA = Cinnamic aldehyde, positive reference, CAS 104-55-2

**Plate setup of first training experiment**

DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO
DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO
DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO
EGDMA 0.98	EGDMA 1.95	EGDMA 3.9	EGDMA 7.8	EGDMA 15.6	EGDMA 31.25	EGDMA 62.5	EGDMA 125	EGDMA 250	EGDMA 500	EGDMA 1000	EGDMA 2000
DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO
DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO
DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO
DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	CA 4	CA 8	CA 16	CA 32	CA 64	Blank

- **ANNEX 3 PROMEGA LICENCING CONDICTIONS FOR THE LUCIFERASE GENE**

Researchers may use this product for research use only, no commercial use is allowed. Commercial Use means any and all uses of this product and derivatives by a party for monetary or other consideration and may include but is not limited to use in: (1) product manufacture; and (2) to provide a service, information or data; and/or resale of the product or its derivatives, whether or not such product or derivatives are resold for use in research. Researchers shall have no right to modify or otherwise create variations of the nucleotide sequence of the luciferase gene except that Researchers may: (1) create fused gene sequences provided that the coding sequence of the resulting luciferase gene has no more than four deoxynucleotides missing at the affected terminus compared to the intact luciferase gene sequence, and (2) insert and remove nucleic acid sequences in splicing research predicated on the inactivation or reconstitution of the luminescence of the encoded luciferase. No other use or transfer of this product or derivatives is authorized without the prior express written consent of Promega. In addition, Researchers must either: (1) use luminescent assay reagents purchased from Promega Corporation for all determinations of luminescence activity of this product and its derivatives; or (2) contact Promega to obtain a license for use of the product and its derivatives. **Researchers may transfer derivatives to others for research use provided that at the time of transfer a copy of this label license is given to the recipients and recipients agree to be bound by the terms of this label license.** With respect to any uses outside this label license, including any diagnostic, therapeutic or prophylactic uses, please contact Promega for supply and licensing information. PROMEGA MAKES NO REPRESENTATIONS OR WARRANTIES OF ANY KIND, EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING FOR MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE WITH REGARDS TO THE PRODUCT. The terms of this agreement shall be governed under the laws of the State of Wisconsin, USA. The above license relates to Promega patents and/or patent applications on improvements to the luciferase gene.

• **BIBLIOGRAPHIC REFERENCES/REPORTS**

1. Emter, R., Ellis, G. and Natsch, A., (2010) Performance of a novel keratinocyte-based reporter cell line to screen skin sensitizers in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 245, 281-290.
2. Natsch, A. and Emter, R., (2008) Skin sensitizers induce antioxidant response element dependent genes: Application to the in vitro testing of the sensitization potential of chemicals. *Toxicol. Sci.* 102, 110-119.
3. Ade, N., Leon, F., Pallardy, M., Peiffer, J. L., Kerdine-Romer, S., Tissier, M. H., Bonnet, P. A., Fabre, I. and Ourlin, J. C., (2009) HMOX1 and NQO1 genes are upregulated in response to contact sensitizers in dendritic cells and THP-1 cell line: Role of the Keap1/Nrf2 pathway. *Toxicol. Sci.* 107, 451-460.
4. Python, F., Goebel, C. and Aeby, P., (2009) Comparative DNA microarray analysis of human monocyte derived dendritic cells and MUTZ-3 cells exposed to the moderate skin sensitizer cinnamaldehyde. *Toxicol Appl Pharmacol.*
5. Dinkova-Kostova, A. T., Holtzclaw, W. D. and Kensler, T. W., (2005) The role of Keap1 in cellular protective responses. *Chemical Research in Toxicology* 18, 1779-1791.
6. Wakabayashi, N., Dinkova-Kostova, A. T., Holtzclaw, W. D., Kang, M. I., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Kensler, T. W. and Talalay, P., (2004) Protection against electrophile and oxidant stress by induction of the phase 2 response: Fate of cysteines of the Keap1 sensor modified by inducers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 2040-2045.
7. Kim, H. J., Barajas, B., Wang, M. and Nel, A. E., (2008) Nrf2 activation by sulforaphane restores the age-related decrease of T(H)1 immunity: role of dendritic cells. *J Allergy Clin Immunol* 121, 1255-1261 e7.
8. Natsch, A., (2010) The Nrf2-Keap1-ARE toxicity pathway as a cellular sensor for skin sensitizers--functional relevance and a hypothesis on innate reactions to skin sensitizers. *Toxicol Sci* 113, 284-92.
9. Lou, H., Du, S., Ji, Q. and Stolz, A., (2006) Induction of AKR1C2 by phase II inducers: Identification of a distal consensus antioxidant response element regulated by NRF2. *Molecular Pharmacology* 69, 1662-1672.
10. Gildea, L. A., Ryan, C. A., Foertsch, L. M., Kennedy, J. M., Dearman, R. J., Kimber, I. and Gerberick, G. F., (2006) Identification of gene expression changes induced by chemical allergens in dendritic cells: Opportunities for skin sensitization testing. *Journal of Investigative Dermatology* 126, 1813-1822.
11. Ryan, C. A., Gildea, L. A., Hulette, B. C., Dearman, R. J., Kimber, I. and Gerberick, G. F., (2004) Gene expression changes in peripheral blood-derived dendritic cells following exposure to a contact allergen. *Toxicology Letters* 150, 301-316.

**Anhang 2**

Givaudan

***KeratinoSens™* test report on epoxy resin monomers**

**Report**

Issue Date: tbd

**Final version 22.10.2012**

Author(s): Dr. A. Natsch

**Sponsor and Test Facility Details**

**Sponsor** Dr. Karin Heine  
Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG)  
Klarastraße 63  
79106 Freiburg  
Germany  
Tel.: +49-(0)761-3860816  
FAX: +49-(0)761-3860820  
www.fobig.de

**Test facility** Givaudan Schweiz AG  
Überlandstrasse 138  
CH-8600  
Dübendorf  
Switzerland

## Table of Contents

### Contents

1) <a href="#">Table of Contents</a> .....	2
2) <a href="#">List of Tables</a> .....	2
3) <a href="#">List of Figures</a> .....	2
4) <a href="#">Approval Section</a> .....	3
5) <a href="#">Summary</a> .....	5
6) <a href="#">1. Introduction</a> .....	6
7) <a href="#">2. Test and Reference Substances</a> .....	7
8) <a href="#">3. Experimental Procedures</a> .....	8
9) <a href="#">4. Results</a> .....	10
10) <a href="#">5. Discussion and Conclusions</a> .....	13
11) <a href="#">6. References</a> .....	14
12) <a href="#">7. Figures</a> .....	15

### List of Tables

Table 1.	Chemical specifications and CAS numbers as received from the study consortium
Table 2.	Cytotoxicity determinations. Given is the IC50 value as the concentration in ppm reducing the viability by 50%.
Table 3.	Luciferase determinations. Given is the $I_{max}$ values indicating maximal fold-induction over the tested range.
Table 4.	Luciferase determinations. Given is the EC1.5 value as the concentration in ppm inducing the luciferase activity 1.5-fold.
Table 5.	Luciferase determinations. Given is the EC4.5 value as the concentration in ppm inducing the luciferase activity 1.5-fold.
Table 6.	Overall rating. Given is the number of positive repetitions / of the repetitions done and the overall rating.
Table 7,	Results for the positive control cinnamic aldehyde.
Table 8.	The variability of the solvent controls.
Table 9.	Estimation of EC3 values

### List of Figures

Figure 1-8. Dose response curves for the seven test items and the additional positive reference PGE



## Approval Section

### **KeratinoSens™ test report on epoxy resin monomers**

Dr Andreas Natsch attests to the content of the report and personally supervised the experimental proceedings of the study.

The study was conducted in the Department of Bioscience-Biochemistry and *in vitro* Toxicology at Givaudan Schweiz AG, Dübendorf, Switzerland, between the 17.9 – 22.9.2012.

#### **Disclaimer:**

All warranties, expressed or implied on the test, including without limitation, guarantees of completeness, correctness or use for any purposes are disclaimed. In particular, FoBiG acknowledges that the tests are experimental in nature and cannot be considered as officially validated tests. Results from these tests cannot be used to make any conclusions on the safety of FoBiG products for human use. FoBiG will hold GIVAUDAN harmless from any and all claims, damages, liabilities, settlement amounts, costs or expenses (including reasonable attorney's fees) arising from or related to any claim, action or proceeding brought against GIVAUDAN by any third party in connection with the use of the tests by FoBiG.

#### **Study Director:**

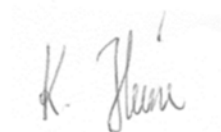


Signature: \_\_\_\_\_

Dr. Andreas Natsch  
Givaudan Schweiz AG

Date: 22.10.2012

#### **Sponsor:**



Signature: \_\_\_\_\_

Dr. Karin Heine  
FoBiG

Date: 30.10.2012

#### **Study Management:**

Dr. Andreas Natsch  
Senior Research Fellow  
Department of Bioscience-Biochemistry and *in vitro* toxicology

**Contributing scientists:**

Tina Haupt  
Research Technician  
Department of Bioscience-Biochemistry and *in vitro* toxicology

## Summary

### Introduction

The KeratinoSens™ assay is a cell-based assay with a reporter cell line to detect potential skin sensitizers by their ability to induce the Nrf2-response.

This assay has been validated for a broad range of low-molecular weight chemicals and it was found to respond to skin sensitizers from a broad range of so called applicability domains, i.e. chemicals reacting with proteins by different mechanisms.

Several epoxides with known LLNA values had been tested in the past in this assay [1]. Here seven epoxides of unknown sensitization potential were tested and the KeratinoSens™ result was used for an *in vitro* based read-across.

### Experimental

Test chemicals were dissolved in DMSO and tested according to the standard operating procedure of the KeratinoSens™ assay at 12 concentrations in three repetitions, each time in three replicates. After 48 h, for all chemicals luciferase induction and cellular viability at each of the concentrations were determined.

### Results

Seven chemical preparations were tested in the assay. For all of them a significant gene induction of the luciferase gene at non-cytotoxic concentrations was noted, and hence all would be predicted by the KeratinoSens™ assay as sensitizers. An estimated LLNA EC3 value based on read across is provided.

## 1. Introduction

The Cosmetic directive plans a phasing out of animal testing for new products. This has led to the development of potential alternative assays to screen for sensitizing potential. These new assays are tested against a large list of reference chemicals in order to prove their applicability domain. The KeratinoSens™ assay is a cell-based assay with a reporter cell line to detect potential skin sensitizers by their ability to induce the Nrf2-response[2].

This assay has been validated for a broad range of low-molecular weight chemicals [1-4] and it was found to respond to skin sensitizers from a broad range of so called applicability domains, i.e. chemicals reacting with proteins by different mechanisms.

Epoxides are a group of chemicals which has been tested in great detail in the assay and in the LLNA, so that *in vitro* based predictions for new epoxides should become possible.

## 2. Test and Reference Substances

### 2.1 Test substance specification and solubility in vehicles

Seven test chemical preparations were received from the study sponsor. These are listed in Table 1. Phenyl-GE, which was repeatedly tested previously, was added as additional positive control, since this allows for an even better direct comparison with other historical data.

Table 1. Chemical specifications and CAS numbers as received from the study consortium.

KeratinoSens™ Substanz Nr.	Substanz	CAS-Nr.	Gruppe (Subgruppe)	Anmerkung
1	C12/C14-Mono-GE	68609-97-2	RV (GE)	
2	1,4-Butanol-DGE	2425-79-8	RV (DGE)	Referenz
3	Neopentylglykol-DGE	17557-23-2	RV (DGE)	
4	1,6-Hexandiol-DGE	16096-31-4	RV (DGE)	
5	Polypropylenglykol-DGE	26142-30-3	RV (DGE)	Nachdem Di-PG-DGE nicht erhältlich war
6	Trimethylolpropan-TGE	30499-70-8	RV (TGE)	
7	Cyclohexandimethanol- diglycidylether	14228-73-0	RV (DGE)	In Ursprungsliste nicht eindeutig benannt
<b>Additional positive control</b>	Phenyl-GE	122-60-1	RV (GE)	Referenz

### 2.2. Positive reference compound

In each test Cinnamic aldehyde was included as positive control.

- MW 132.16
- CAS-Nr. 104-55-2
- Purity > 99%
- Source: Aldrich
- Order number: 239968

### 2.4 . Test reagents

All test reagents were sourced as indicated in the standard operating procedure.

### 3. Experimental Procedures

The test was run according to the final SOP submitted to ECVAM, currently under pre-validation peer-review. This method was shared with the study consortium.

**See document: *Attachment1a\_INVITTOX Protocol KeratinoSens\_revised\_clean.DOC.***

#### **BASIS OF THE METHOD**

The only feature all skin sensitizers have in common is their intrinsic electrophilicity or their potential to be metabolically transformed to electrophilic chemicals. The signaling pathway with the repressor protein Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) and the transcription factor Nrf2 (nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2), which binds to the antioxidant / electrophile response element (ARE / EpRE), is known to respond to electrophilic chemicals and it was found to be a valuable cellular endpoint to detect skin sensitizers *in vitro* [5]. This result was confirmed by independent laboratories [6].

#### **EXPERIMENTAL DESCRIPTION**

##### *Endpoint & Endpoint Detection:*

Two endpoints are measured: (i) Luciferase induction after a 48 h treatment with test chemicals and (ii) cytotoxicity as determined with the MTT assay recorded in a parallel plate with the same cell batch and made up with the same dilutions of the test chemicals.

##### *Endpoint Value:*

For Luciferase induction the maximal fold-induction over solvent control ( $I_{\max}$ ) and the concentration needed to reach an 1.5 fold induction (EC1.5) are calculated. For cytotoxicity the IC50 value is extrapolated.

##### *Test System(s):*

The KeratinoSens cell line is derived from the human keratinocyte culture HaCaT. It contains a stable insertion of a Luciferase gene under the control of the ARE-element of the gene AKR1C2 [2].

##### *Basic Procedure:*

Cells are grown for 24 h in 96-well plates. The medium is then replaced with medium containing a final level of 1% of the solvent DMSO containing the test chemical. Each compound is tested at 12 concentrations in the range from 0.98 to 2000  $\mu\text{M}$ . Each test plate contains 7 test chemicals, 6 wells with the solvent control, 1 well with no cells for background value and 5 wells with a dose response of the positive control cinnamic aldehyde. In each repetition, three parallel replicate plates are run with this same set-up, and a fourth parallel plate is prepared for cytotoxicity determination.

##### *Positive control*

In each test Cinnamic aldehyde was included as positive control. It was tested in each test plate at five concentrations from 4 – 64  $\mu\text{M}$ . Data for cinnamic aldehyde are reported in  $\mu\text{M}$ .

Phenyl-GE was included as additional positive control to be compared with historical data.

##### *Data Processing*

Data evaluation is automatically performed by a standardized Excel template which forms part of the SOP. The test plates are read by a plate reader, and the generated raw data are directly pasted into this template, and all data processing is performed automatically by this Excel sheet.

For both the MTT and the luciferase data, first the background value recorded in an empty well without added cells is subtracted.

For the MTT data the % viability is then calculated for each well in the test plate in relation to average of the six solvent control wells.

For the luciferase data the average value of the six solvent control wells is set to 1, and for each well in the test plate the fold induction is calculated in relation to this value.

The following parameters are then calculated from these processed raw data:

- $I_{max}$  Maximal fold-gene induction of the luciferase gene over the full dose-response
- EC 1.5 Concentration in  $\mu\text{M}$  for 1.5-fold gene induction
- EC 4.5 Concentration in  $\mu\text{M}$  for 4.5-fold gene induction
- Pos / Neg Rating of chemical according to prediction model
- reps. Positive number of independent repetitions positive / number of repetitions done
- IC50 Concentration in  $\mu\text{M}$  for 50% reduction of cell viability

#### *Prediction Model*

Chemicals are rated positive if the following conditions are met:

- The  $I_{max}$  indicates > 1.5-fold gene induction, and this induction is statistically significant above the solvent control. The EC1.5 value is below 1000  $\mu\text{M}$  in all three repetitions or in at least 2 repetitions. (If the  $I_{max}$  is exactly equal to 1.5, the chemical is still rated negative and no EC1.5 value is calculated by the evaluation sheet.)
- At the lowest concentration with a gene induction above 1.5 fold (i.e. at the EC 1.5 determining value), the cellular viability is above 70%.
- There is an apparent overall dose-response for luciferase induction, which is similar between the repetitions.

## 4. Results

### 4.1 Cytotoxic activity of the test items

Table 2 lists the IC50 values for the test items. The full dose response curves can be seen in the Figures section at the end of the report.

Table 2. Cytotoxicity determinations. Given is the IC50 value as the concentration in  $\mu\text{M}$  reducing the viability by 50%.

		Rep 1 IC50 ( $\mu\text{M}$ )	Rep 2 IC50 ( $\mu\text{M}$ )	Rep 3 IC50 ( $\mu\text{M}$ )	Geometric Mean IC 50 ( $\mu\text{M}$ )
1	<b>C12/C14-Mono-GE</b>	54.45	53.05	47.29	51.50
2	<b>1,4-Butanol-DGE</b>	391.60	410.63	321.18	372.40
3	<b>Neopentylglykol-DGE</b>	234.71	364.28	201.39	258.23
4	<b>1,6-Hexandiol-DGE</b>	215.31	228.87	186.90	209.61
5	<b>Polypropylenglykol-DGE</b>	672.23	841.57	590.04	693.69
6	<b>Trimethylolpropan-TGE</b>	102.83	105.77	76.10	93.89
7	<b>Cyclohexandimethanol-diglycidylether</b>	164.07	191.98	108.42	150.59
	<b>Phenyl-GE</b>	207.24	210.96	172.55	196.12
	<b>Phenyl-GE historical values (*)</b>	182.2	166.1		174
	Cinnamic aldehyde	>64 $\mu\text{M}$	>64 $\mu\text{M}$	>64 $\mu\text{M}$	>64 $\mu\text{M}$

(\*) The two values given come from two independent experimental series each with three replicates

### 4.2 Luciferase induction by the test items

Table 3 lists the results of luciferase determinations as expressed as the  $I_{\text{max}}$  values indicating maximal induction over the tested range. The full dose response curves can be seen in the Figures section at the end of the report.

Table 3. Luciferase determinations. Given is the  $I_{\text{max}}$  values indicating maximal fold-induction over the tested range.

		Rep 1 IMAX ( $\mu\text{M}$ )	Rep 2 IMAX ( $\mu\text{M}$ )	Rep 3 IMAX ( $\mu\text{M}$ )	Geometric Mean IMAX ( $\mu\text{M}$ )
1	<b>C12/C14-Mono-GE</b>	3.51	3.65	1.76	2.98
2	<b>1,4-Butanol-DGE</b>	158.58	228.92	134.88	174.13
3	<b>Neopentylglykol-DGE</b>	386.26	574.60	57.79	339.55
4	<b>1,6-Hexandiol-DGE</b>	179.41	156.45	26.01	120.62
5	<b>Polypropylenglykol-DGE</b>	153.15	210.03	78.85	147.34
6	<b>Trimethylolpropan-TGE</b>	60.38	66.11	67.57	64.68
7	<b>Cyclohexandimethanol-diglycidylether</b>	286.15	440.73	48.21	258.36
	<b>Phenyl-GE</b>	67.11	39.14	51.67	52.64
	<b>Phenyl-GE historical values (*)</b>	56.3	49.7		53
	Cinnamic aldehyde	2.04	2.39	1.78	2.07



(\*) The two values given come from two independent experimental series each with three replicates

Table 4 lists the EC1.5 values for the test items. Since the EC4.5 value was also found useful for potency correlations, this value was also calculated and shown in Table 5.

Table 4. Luciferase determinations. Given is the EC1.5 value as the concentration in  $\mu\text{M}$  inducing the luciferase activity 1.5-fold.

		Rep 1 EC 1.5 ( $\mu\text{M}$ )	Rep 2 EC 1.5 ( $\mu\text{M}$ )	Rep 3 EC 1.5 ( $\mu\text{M}$ )	Geometric Mean EC 1.5 ( $\mu\text{M}$ )
1	<b>C12/C14-Mono-GE</b>	9.32	9.93	12.86	10.60
2	<b>1,4-Butanol-DGE</b>	42.90	38.83	43.52	41.69
3	<b>Neopentylglykol-DGE</b>	40.89	53.61	58.09	50.31
4	<b>1,6-Hexandiol-DGE</b>	16.34	22.73	13.03	16.91
5	<b>Polypropylenglykol-DGE</b>	31.10	65.43	61.70	50.07
6	<b>Trimethylolpropan-TGE</b>	30.66	15.96	16.09	19.89
7	<b>Cyclohexandimethanol-diglycidylether</b>	10.97	9.82	7.06	9.12
	<b>Phenyl-GE</b>	22.23	26.24	16.65	21.34
	<b>Phenyl-GE historical values (*)</b>	16.1	20.0		18.05
	Cinnamic aldehyde	22.61	30.48	44.63	31.33

(\*) The two values given come from two independent experimental series each with three replicates

Table 5. Luciferase determinations. Given is the EC 4.5 value as the concentration in  $\mu\text{M}$  inducing the luciferase activity 4.5-fold.

		Rep 1 EC 4.5 ( $\mu\text{M}$ )	Rep 2 EC 4.5 ( $\mu\text{M}$ )	Rep 3 EC 4.5 ( $\mu\text{M}$ )	Geometric Mean EC 4.5 ( $\mu\text{M}$ )
1	<b>C12/C14-Mono-GE</b>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
2	<b>1,4-Butanol-DGE</b>	99.79	92.44	94.28	95.46
3	<b>Neopentylglykol-DGE</b>	123.96	122.90	95.44	113.29
4	<b>1,6-Hexandiol-DGE</b>	65.14	65.27	64.63	65.01
5	<b>Polypropylenglykol-DGE</b>	187.22	218.14	184.33	195.99
6	<b>Trimethylolpropan-TGE</b>	32.28	32.32	32.25	32.28
7	<b>Cyclohexandimethanol-diglycidylether</b>	36.54	35.42	35.89	35.95
	<b>Phenyl-GE</b>	63.44	65.50	63.51	64.14
	<b>Phenyl-GE historical values (*)</b>	63.2	62.8		63.0

(\*) The two values given come from two independent experimental series each with three replicates

n.i.: no induction above the 4.5 threshold

Table 6 lists the overall rating of the test items according to the prediction model and the number of positive repetitions.

Table 6. Overall rating. Given is the number of positive repetitions / of the repetitions done and the overall rating.

		Reps pos.	Overall rating
1	C12/C14-Mono-GE	3 / 3	positive
2	1,4-Butanol-DGE	3 / 3	positive
3	Neopentylglykol-DGE	3 / 3	positive
4	1,6-Hexandiol-DGE	3 / 3	positive
5	Polypropylenglykol-DGE	3 / 3	positive
6	Trimethylolpropan-TGE	3 / 3	positive
7	Cyclohexandimethanol-diglycidylether	3 / 3	positive
	Phenyl-GE	3 / 3	positive
	Phenyl-GE historical values (*)	6 / 6	Positive
	Cinnamic aldehyde	3 / 3	Positive

#### 4.3. Positive and negative control

Cinnamic aldehyde was run in all repetitions. Overall results are already given above. Here the detailed results for this positive control are reported in Table 7. The EC 1.5 and the EC 1.5 for cinnamic aldehyde is calculated. The targets are: (i) Average induction in the three replicates for cinnamic aldehyde at 64  $\mu\text{M}$  should be between 2 and 8, and (ii) the EC 1.5 value should be between 7  $\mu\text{M}$  and 30  $\mu\text{M}$ . At least one of these criteria should be met. In the experiments performed here both criteria were fulfilled in all three repetitions. This criteria was not met in rep 3. But since cinnamic aldehyde was positive also in this repetition and since an additional positive control (PGE) was included, which did meet the historical values extremely well, we still accepted these data. As can be seen also for the test items very similar results were obtained in Rep 3 as in Rep 1 and 2.

Table 7, Results for the positive control cinnamic aldehyde.

Quality control: Induction values						Criteria		
Reference								
cinnamic aldehyde	4 $\mu\text{M}$	8 $\mu\text{M}$	16 $\mu\text{M}$	32 $\mu\text{M}$	64 $\mu\text{M}$	EC 1.5	EC 1.5	Ind. 64 $\mu\text{M}$
rep1	1.12	1.21	1.31	1.77	2.04	22.61	TRUE	TRUE
rep2	1.00	1.27	1.36	1.52	2.39	30.48	FALSE	TRUE
rep3	0.92	0.99	1.20	1.32	1.78	44.63	FALSE	FALSE
<b>Average</b>	1.01	1.16	1.29	1.54	2.07	32.57		

As second performance criteria the variability of the solvent control must be below 20%. Table 8 lists the results of the three repetitions.

Table 8. The variability of the solvent controls.

	% standard deviation blanks	
rep1	13.96784031	ACCEPTED
rep2	11.9394778	ACCEPTED

rep3	17.18497952	ACCEPTED
------	-------------	----------

## 5. Discussion and Conclusions

For all test items a positive KeratinoSens™ result was recorded and all these chemicals are rated as sensitizing based on this assay.

Phenyl-GE was included in the experimental series and results were compared to the results from two historical experimental series. The results did match extremely well (see Tables 3, 4 and 5), therefore we can use the historical quantitative dose-response data on epoxides to directly compared them with the new *in vitro* data.

Table 9. Estimation of EC3 values

Nr.	Substanz	CAS-Nr.	Predicted LLNA EC3 based on Equation 1	Discussion
1	C12/C14-Mono-GE	68609-97-2	n.a., based on IC50 0.4%	High cytotoxicity, probably due to C12 side chain, which makes chemicals in general cytotoxic and irritating. Both IC50 and EC1.5 value lower as compared to PGE, LLNA EC3 ≤ 0.5 % / strong sensitization potential is predicted
2	1,4-Butanol-DGE	2425-79-8	2.30%	Much higher IC50, EC1.5 and EC4.5 value as compared to the two references with the DGE-structural alert.
3	Neopentylglykol-DGE	17557-23-2	1.87%	Higher IC50, EC1.5 and EC4.5 value as compared to the two references with the DGE-structural alert.
4	1,6-Hexandiol-DGE	16096-31-4	0.99%	Higher EC4.5 and IC50 value as compared to DGEBF and DGEBA, therefore read-across to these two chemicals would suggest EC3 >1.2%, rather than EC3 as predicted by Equation 1
5	Polypropylenglykol-DGE	26142-30-3	20.41%	Equation 1 predicts high EC3 value, but could be influenced by volatility, We would rather predict EC3 of 5 – 10%
6	Trimethylolpropan-TGE	30499-70-8	0.58%	Higher EC4.5 and IC50 value as compared to DGEBF and DGEBA, therefore read-across to these two chemicals would suggest EC3 >1.2%
7	Cyclohexandimethanol-diglycidylether	14228-73-0	0.64%	Higher EC4.5 and IC50 value as compared to DGEBF and DGEBA, therefore read-across to these two chemicals would suggest EC3 >1.2%

<b>Ref.</b>		122-60-1	0.6 %, measured LLNA = 0.46%	
<b>Ref.</b>	DGEBF		Measured LLNA 1.1%	EC4.5 = 12 µM IC50 = 23 µM
<b>R Ref.</b>	DGEBA		Measured LLNA 1.2%	EC4.5 =10 µM IC50 = 22 µM

In Table 9 an estimation is given for the EC3 values based on the historical data and Equation 1 in Delaine et al. [1].

We can use DGEBF and DGEBA to benchmark: The DGE tested here have a higher IC50 and EC4.5 values as compared to these two benchmarks, and we would expect EC3 values above 1.1%. On the other hand Equation 1 from Delaine et al. predicts for most of these chemicals an EC3 of 0.5% - 2%. The lowest sensitization potential is predicted for test item 5. However it has to be kept in mind that equation 1 is influenced by two volatile chemicals – and thus the lesser volatile item 5 would have a lower predicted EC3, in between 2% and the 20%.

## 6. References

1. Delaine, T., et al., *Structure-Activity Relationship between the in Vivo Skin Sensitizing Potency of Analogues of Phenyl Glycidyl Ether and the Induction of Nrf2-Dependent Luciferase Activity in the KeratinoSens in Vitro Assay*. Chem Res Toxicol, 2011. **24**(8): p. 1312-8.
2. Emter, R., G. Ellis, and A. Natsch, *Performance of a novel keratinocyte-based reporter cell line to screen skin sensitizers in vitro*. Toxicol Appl Pharmacol, 2010. **245**: p. 281-290.
3. Natsch, A., et al., *The intra- and inter-laboratory reproducibility and predictivity of the KeratinoSens assay to predict skin sensitizers in vitro: results of a ring-study in five laboratories*. Toxicol In Vitro, 2011. **25**(3): p. 733-44.
4. Ball, N., et al., *Evaluating the sensitization potential of surfactants: Integrating data from the local lymph node assay, guinea pig maximization test, and in vitro methods in a weight-of-evidence approach*. Regul Toxicol Pharmacol, 2011.
5. Natsch, A., *The Nrf2-Keap1-ARE toxicity pathway as a cellular sensor for skin sensitizers--functional relevance and a hypothesis on innate reactions to skin sensitizers*. Toxicol Sci, 2010. **113**(2): p. 284-92.
6. Ade, N., et al., *HMOX1 and NQO1 genes are upregulated in response to contact sensitizers in dendritic cells and THP-1 cell line: Role of the Keap1/Nrf2 pathway*. Toxicological Sciences, 2009. **107**(2): p. 451-460.

## 7. Figures

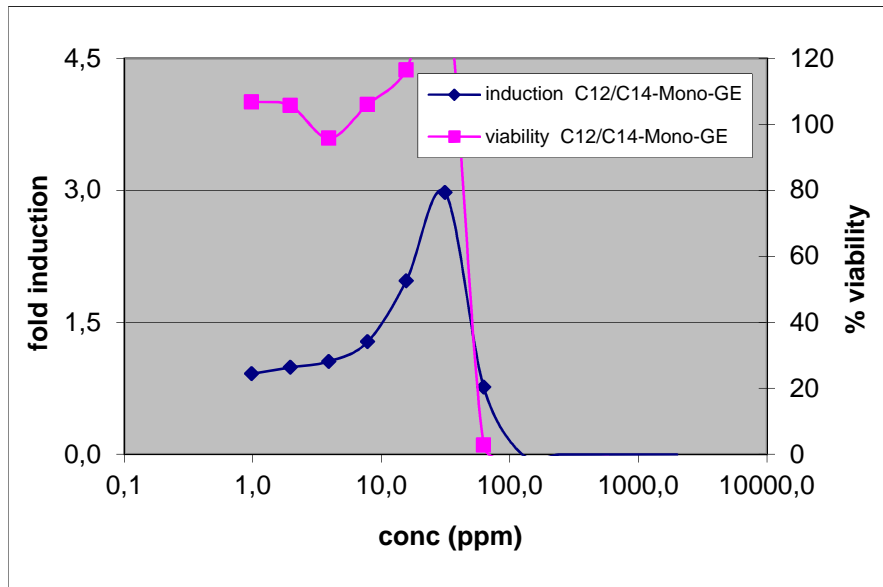


Figure 1. Dose response curves for test item 1. Given is the fold induction of the luciferase gene over solvent control (filled diamonds) and the % viability as determined with the MTT assay (filled squares)

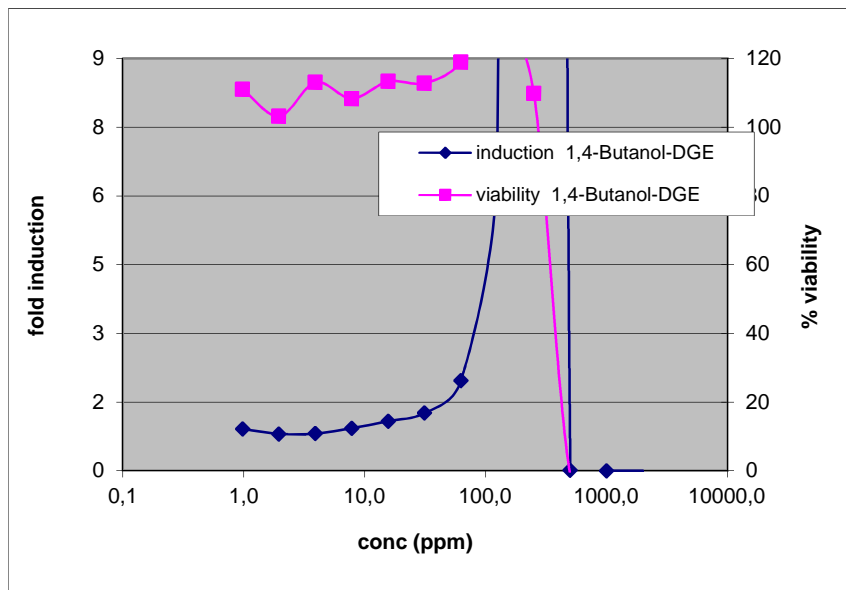


Figure 2. Dose response curves for test item 2. Given is the fold induction of the luciferase gene over solvent control (filled diamonds) and the % viability as determined with the MTT assay (filled squares)

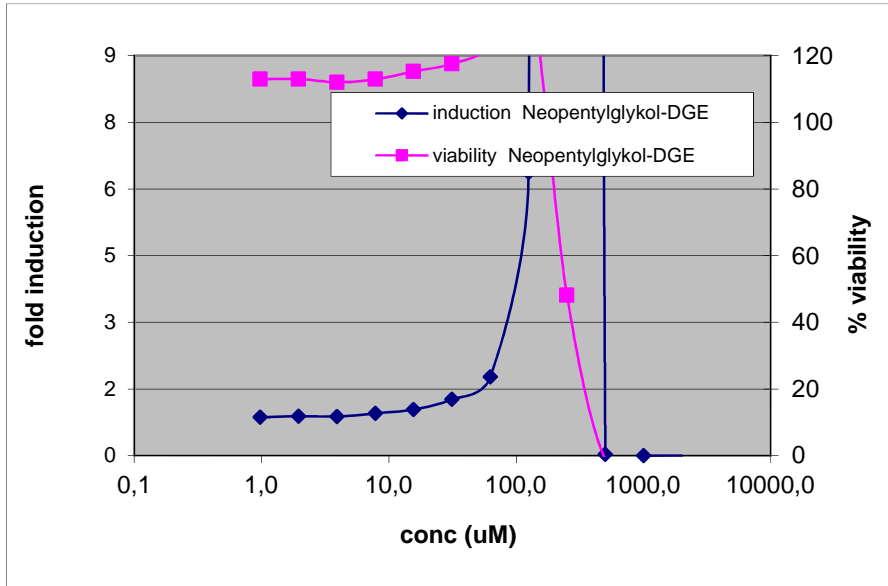


Figure 3. Dose response curves for test item 3. Given is the fold induction of the luciferase gene over solvent control (filled diamonds) and the % viability as determined with the MTT assay (filled squares)

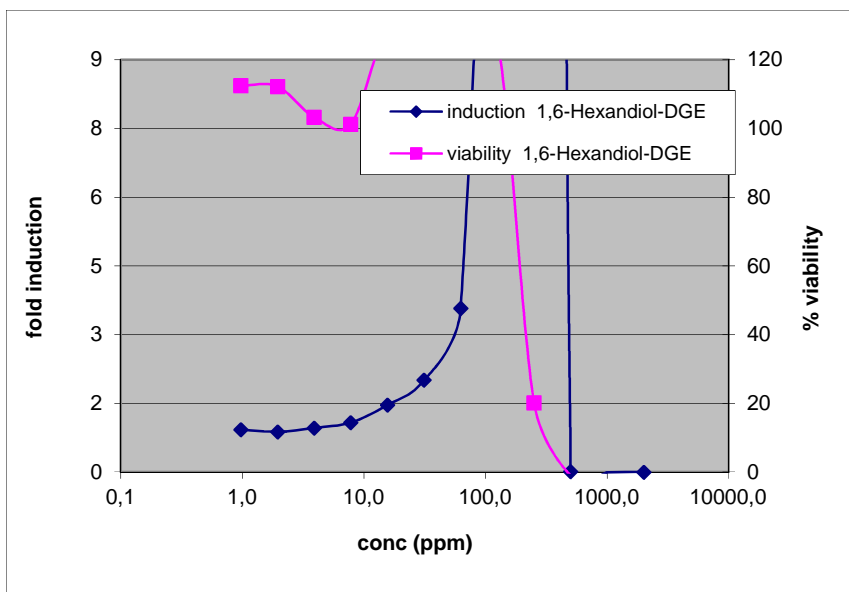


Figure 4. Dose response curves for test item 4. Given is the fold induction of the luciferase gene over solvent control (filled diamonds) and the % viability as determined with the MTT assay (filled squares)

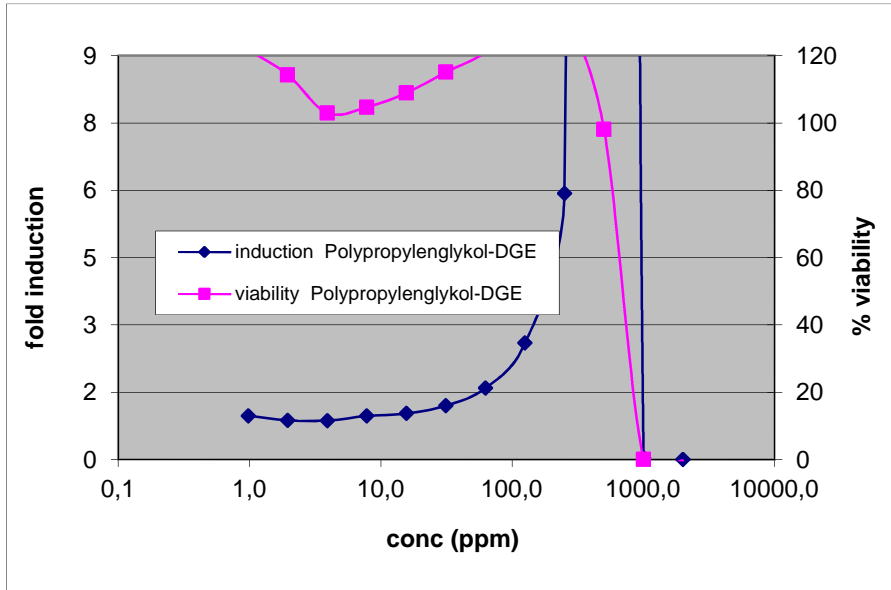


Figure 5. Dose response curves for test item 5. Given is the fold induction of the luciferase gene over solvent control (filled diamonds) and the % viability as determined with the MTT assay (filled squares)

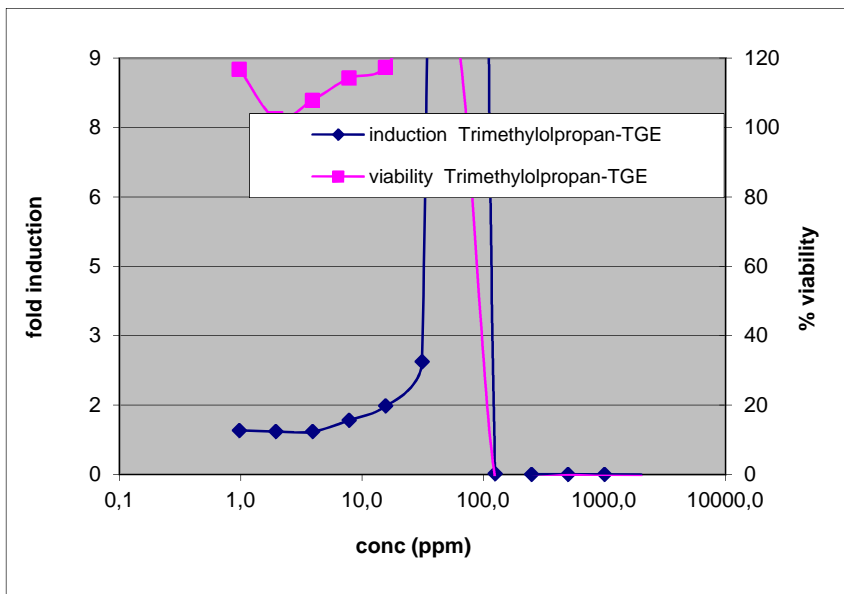


Figure 6. Dose response curves for test item 6. Given is the fold induction of the luciferase gene over solvent control (filled diamonds) and the % viability as determined with the MTT assay (filled squares)

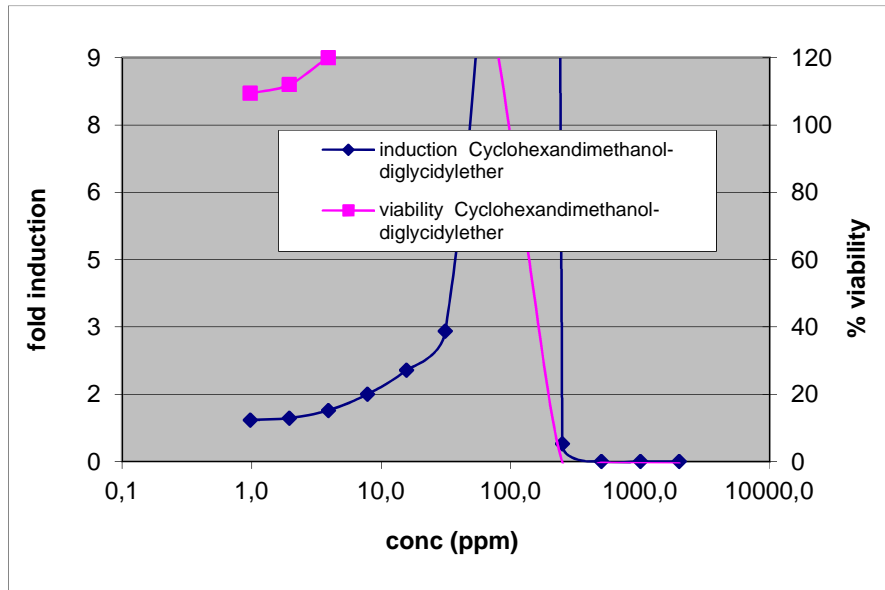


Figure 7. Dose response curves for test item 7. Given is the fold induction of the luciferase gene over solvent control (filled diamonds) and the % viability as determined with the MTT assay (filled squares)

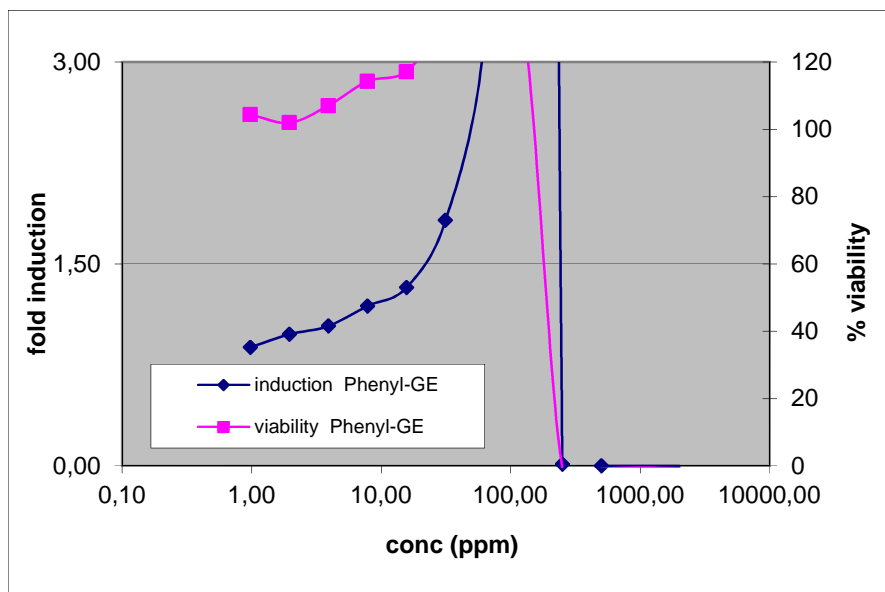


Figure 8. Dose response curves for positive reference phenyl-GE. Given is the fold induction of the luciferase gene over solvent control (filled diamonds) and the % viability as determined with the MTT assay (filled squares)



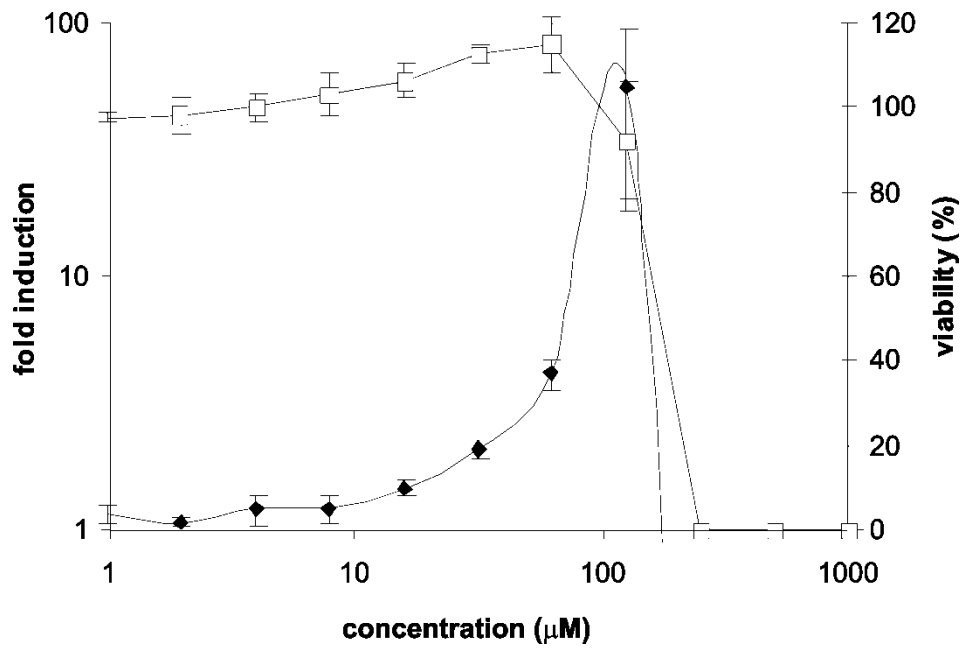


Figure 8. Dose response curves for positive reference phenyl-GE, published historical data [1]. Given is the fold induction of the luciferase gene over solvent control (filled diamonds) and the % viability as determined with the MTT assay (filled squares)

### **Anhang 3**



Prof. Dr. H.-W. Vohr  
Immunotoxicology

Telefon: 0202-368811  
Telefax: 0202-364137

Wuppertal  
Geb.: 514

BHC-GDD-GED-T-Itox  
05.11.2012

## **In vitro Bestimmungen zu sensibilisierenden Eigenschaften von Epoxidharzkomponenten mittels hCLAT-Zellen**

### **(Kurzbericht)**

#### **Ziel:**

Bestimmung der Viabilität und Expression von CD86 und CD54 Oberflächenmarker auf hCLAT-Zellen nach Inkubation mit Testsubstanzen. Anhand dieser Parameter Klassifikation der testsubstanzen nach möglichen Haut sensibilisierenden Eigenschaften.

**Study number:** T0079400

**GLP:** N

**Sponsor:** Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG), Freiburg

**Testsubstanzen:**

Nr.	Substanz	Charge	CAS-Nr.	g/mol
1	1,4-Butanediol diglycidyl ether	MKBF3469V	2425-79-8	202,25
2	Butyl-glycidylether	BCBH4941V	2426-08--6	130,18
1	1,4-Butanediol diglycidyl ether	MKBF3469V	2425-79-8	202,25
2	Butyl-glycidylether	BCBH4941V	2426-08--6	130,18
3	1,4-cyclohexanedimethanol diglycidylether mix...	03821DJV	14228-73-0	256,34
4	(C12/C14)Dodecyl and tetradecylglycidyl ethers	MKBH6600V	68609-97-2	300
5	Neopentyl glycol diglycidyl ether	MKBD9928V	17557-23-2	216,27
6	Phenyl-glycidether	BCBH0671V	122-60-1	150,17
7	Trimethylolpropane triglycidyl ether	MKBG5308V	3454-29-3	302,36
8	1,6-Hexandiol-diglycidylether	117190	16096-31-4	230,3
9	Glycidyl 2-methylphenylether	MKBH9323V	2210-79-9	164,2
10	Poly(propylene glycol) diglycidyl ether	MKBJ8871V	26142-30-3	380
Pos.	DNCB			202,55

**Anfangsdatum der Experimente:** 11.09.2012

**Enddatum der Experimente:** 19.10.2012

**Methodenbeschreibung:****1. Human Cell Line Activation Test (h-CLAT)**

**Zelltyp:** THP-1  
Humane Monozytische Leukämie Zelllinie;  
cryovial Bestellnr.: 300356, Cell-Lines-Services

**Medium:** RPMI 1640 incl L-Glutamine (Gibco, Bestellnr.21875)  
+ 10 % FCS ( PAA, A15-101)  
Haltbar 4 Wochen nach Ansatz  
+ 50 µl Primocin (50mg/ml) pro Zellkulturflasche (T75; 25ml  
Medium; frisch zugeben)

Waschpuffer	PBS++(mit Ca;Mg) plus 0.1% BSA (BSA 30%, Sigma A9576) Haltbar: max 1 Woche bei 4°C
Propidiumjodid	Stammlösung 500µg/ml in (PBS++, 0.2%NaAcid,2%FCS)
FACSFlow	FACSCanto II, BD Bioscience, Heidelberg
Blockingpuffer:	Waschpuffer plus 0.01% Globulin Cohn fraction human Stocklsg 0.1% Globulin Cohn fraction human: 10 mg (SigmaG2388) in 10 ml PBS** da schwer löslich, Ansatz 1 Tag vorher; bei 4°C max. 1 Woche haltbar Bsp: 4 ml dieser Stocklösung zu 36ml Waschpuffer
Antikörper-Ansatz:	
CD 54	anti-CD54-FITC; DAKO F7143 1:16 verdünnt in Waschpuffer
CD 86	anti-CD86-FITC; Pharmingen 555657 1:7 verdünnt in Waschpuffer
IgG1	IgG1/FITC; DAKO X0927 1:16 verdünnt in Waschpuffer
Pos. Kontrolle 3µg/ml	DNCB (1-Chloro-2,4-dinitrobenzene); Sigma C3762,
Neg. Kontrolle	Milchsäure 500µg/ml; Sigma 69785 (falls erforderlich)
Vehikelkontrolle	Medium mit 0.25% DMSO

## **2. Titrationsen**

Nach einer ersten Inkubation mit den Testsubstanzen wurden die cytotoxischen Eigenschaften der jeweiligen Substanz auf hCLAT-Zellen bestimmt. Durch diese erste Titration wurde eine grobe Abschätzung der Konzentration ermöglicht, bei der ca. 75% - 80% der Zellen noch leben (IC80-Wert). Durch eine weitere, engere Titration wurde der IC80-Wert genauer bestimmt.

In der zweiten Testphase wurden die hCLAT-Zellen dann mit Konzentrationen, die um den vorher bestimmten IC80-Wert (s.o.) herum lagen, nochmals inkubiert, anschließend die Viabilität sowie die Expression der Oberflächenmarker CD86 und CD54 auf den Zellen mittels Durchflußzytometrie bestimmt.

## **3. Auswertung**

Anhand der Expression der Oberflächenmarker CD86 bzw. CD54 bis zur Viabilitätsgrenze von 75% Viabilität wurden die Testsubstanzen als möglicherweise Haut sensibilisierend eingestuft. Dabei gilt das Ergebnis als positiv, wenn CD86 mindestens um den Faktor 1,5 und/oder CD54 mindestens um den Faktor 2,0 gegenüber dem entsprechenden Mediumwert erhöht ist.

Obwohl noch nicht validiert, wurde hier eine Klassifizierung entsprechend der sensibilisierenden Wirkstärke vorgenommen. Dabei wurde davon ausgegangen, dass Substanzen mit höherer Wirkstärke bereits bei Konzentrationen deutlich oberhalb der IC80-Werte zu einer Induktion der Oberflächenmarker CD86 und/oder CD54 führen. Bisher ist bei einer solchen Klassifizierung nach Wirkstärke zu bedenken, dass die Testsubstanzen z. Tl. sehr unterschiedliche cytotoxische Eigenschaften haben, welche sich ebenfalls auf die Expression der Oberflächenmarker auswirken könnten (s. Tabellen im Anhang).

## 4. Ergebnisse

Titration (Einzelwerte s. Anhang):

Nach den beiden Titrationen ergab sich folgende Reihenfolge bzgl. der Zytotoxizität:

Substanz	CAS-Nr.	KeratinoSens™ Substanz Nr.	h-CLAT Substanz Nr.	Kategorie	CV80 (µM) erste Titration	CV80 (µM) weitere Titration
Butyl-GE	2426-08-06	-	1	GMS	>100	<b>808</b>
Neopentylglykol-DGE	17557-23-2	3	6	U	>100	<b>364</b>
C12/C14-Mono-GE (Dodecyl and tetradecylglycidyl ethers)	68609-97-2	1	2	U → GMS	65	<b>304</b>
Polypropylenglykol-DGE	26142-30-3	-	-	U	>100	<b>300</b>
1,6-Hexandiol-DGE	16096-31-4	4	7	U → HS	97	<b>234</b>
1,4-Butanol-DGE	2425-79-8	2	5	HS	86	<b>222</b>
Phenyl-GE	122-60-1	-	3	HS	>100	<b>170</b>
Cyclohexandimethanol- diglycidylether	14228-73-0	7	10	U	53	<b>153</b>
(Isomerengemisch Kresyl-GE) Glycidyl 2-methylphenylether	2210-79-9	-	4	HS	>100	<b>139</b>
Trimethylolpropan-TGE	3454-29-3	6	9	U	50	<b>75</b>

Insgesamt lassen sich drei Gruppen bzgl. der Zytotoxizität unterscheiden:

Schwach:

Butyl-GE

Moderat:

Neopentylglykol-DGE; C12/C14-Mono-GE (Dodecyl and tetradecylglycidyl ethers);  
Polypropylenglykol-DGE; 1,6-Hexandiol-DGE; 1,4-Butanol-DGE

Stark:

Phenyl-GE; Cyclohexandimethanol-diglycidylether; (Isomerengemisch Kresyl-GE)  
Glycidyl 2-methylphenylether; Trimethylolpropan-TGE

Oberflächenmarker (Einzelwerte s. Anhang)

Zusammenfassend ergibt sich die folgende Ergebnistabelle für alle Testsubstanzen:

Substanz	CAS-Nr.	Kategorie	CV80 ( $\mu\text{M}$ ) weitere Titration	Sensibili- sierend (CD86)	Sensibili- sierend (CD54)
Butyl-GE	2426-08-06	GMS	<b>808</b>	nein	nein
Neopentylglykol-DGE	17557-23-2	U	<b>364</b>	(ja)	nein
C12/C14-Mono-GE (Dodecyl and tetradecylglycidyl ethers)	68609-97-2	U $\rightarrow$ GMS	<b>304</b>	nein*	nein*
Polypropylenglykol-DGE	26142-30-3	U	<b>300</b>	nein	nein
1,6-Hexandiol-DGE	16096-31-4	U $\rightarrow$ HS	<b>234</b>	ja	nein
1,4-Butanol-DGE	2425-79-8	HS	<b>222</b>	ja	nein
Phenyl-GE	122-60-1	HS	<b>170</b>	nein*	nein*
Cyclohexandimethanol- diglycidylether	14228-73-0	U	<b>153</b>	nein	nein
(Isomeregemisch Kresyl-GE) Glycidyl 2-methylphenylether	2210-79-9	HS	<b>139</b>	nein	nein
Trimethylolpropan-TGE	3454-29-3	U	<b>75</b>	ja	nein

\*: Cytotox &lt;80% nicht erreicht

## 5. Diskussion und Bewertung

Bei zwei Testsubstanzen wurde der IC80-Wert bei dem Expressionsexperiment nicht erreicht. Allerdings sind die Expression der Oberflächenmarker Cd86 und CD54 in beiden Fällen bis zu der höchsten eingesetzten Dosierung aber auch unauffällig. Trotzdem kann eine positive Reaktion bei einer etwas stärkeren Reduktion der Viabilität nicht vollkommen ausgeschlossen werden.

Bei den beiden Substanzen handelt es sich um

C12/C14-Mono-GE (Dodecyl and tetradecylglycidyl ethers) und Phenyl-GE

Die übrigen Testsubstanzen zeigten nur für den CD86-Marker z. Tl. deutlich positive Reaktionen. Bei CD54 wurde in keinem Fall ein positiver Level von einem Induktionsfaktor 2,0 erreicht.

Der positive Level beim CD86 wurde erreicht von

1,6-Hexandiol-DGE; 1,4-Butanol-DGE; Trimethylolpropan-TGE und knapp von Neopentylglykol-DGE

Demnach wären alle anderen Substanzen zwar cytotoxisch bzw. irritierend, aber nicht sensibilisierend:

Butyl-GE; Polypropylenglykol-DGE; Cyclohexandimethanol-diglycidylether; (Isomerengemisch Kresyl-GE) Glycidyl 2-methylphenylether.

Für C12/C14-Mono-GE (Dodecyl and tetradecylglycidyl ethers) und Phenyl-GE ist diese Aussage wahrscheinlich, aber nicht endgültig abgesichert.


Eine valide Bestimmung des sensibilisierenden Potentials (Wirkstärke) lässt sich mit dem hCLAT-Test bisher nicht durchführen. Trotzdem kann eine Skalierung anhand der Induktionshöhen der Expression und zugehörigen Substanzkonzentrationen (wie früh vor dem IC80-Wert) abgeleitet werden. Ob eine solche Skalierung tatsächlich auch einen Rückschluss auf die Wirkstärke zulässt, ist nicht sicher.



Kennziffer FP-0324, Anhang 3 Endbericht h-CLAT

Unter den o.a. Einschränkungen ergibt sich für die CD86 positiven Substanzen folgende Reihenfolge von „schwach“ bis „deutlich“:

Neopentylglykol-DGE << 1,4-Butanol-DGE < 1,6-Hexandiol-DGE und  
Trimethylolpropan-TGE

  
12.11.12  
\_\_\_\_\_  
(H.-W. Vohr)

## 6. Referenzen

1. Maxwell, G.; Aeby, P.; Ashikaga, T.; Bessou-Touya, S.; Diembeck, W.; Gerberick, F.; Kern, P.; Marrec-Fairley, M.; Ovigne, J.M.; Sakaguchi, H.; Schroeder, K.; Tailhardat, M.; Teissier, S.; Winkler, P. (2011). Skin sensitisation: the Colipa strategy for developing and evaluating non-animal test methods for risk assessment  
*ALTEX*, 28 (1), 50-55
2. Sakaguchi, H.; Ashikaga, T.; Miyazawa, M.; Yoshida, Y.; Ito, Y.; Yoneyama, K.; Hirota, M.; Itagaki, H.; Toyoda, H.; Suzuki, H. (2006). Development of an in vitro skin sensitization test using human cell lines; human Cell Line Activation Test (h-CLAT). II. An inter-laboratory study of the h-CLAT.  
*Toxicology In Vitro*, 20, 774-784
3. Sakaguchi, H.; Ashikaga, T.; Miyazawa, M.; Kosaka, N.; Ito, Y.; Yoneyama, K.; Sono, S.; Itagaki, H.; Toyoda, H.; Suzuki, H. (2009). The relationship between CD86/CD54 expression and THP-1 cell viability in an in vitro skin sensitization test - human cell line activation test (h-CLAT).  
*Cell Biology and Toxicology*, 25, 109-126
4. Tsuchiya, S.; Yamabe, M.; Yamaguchi, Y.; Kobayashi, Y.; Konno, T.; Tada, K. (1980). Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (THP-1).  
*International Journal of Cancer*, 26, 171-176

## 7. Appendix

### 8. Tabelle 1 Zytotoxizität auf hCLAT-Zellen (enge Titration)

Zytotoxizität von Butyl-glycidylether nach 24h Inkubation auf THP1 Zellen

	Konz. [µM]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
	Vehikle Kontrolle	2,3	97,7	100
	4000	58,4	41,6	43
	2000	51,3	48,7	50
	1000	31,8	68,2	70
Butyl- glycidylether	500	6,6	93,4	96
	250	3,8	96,2	98
	125	3,1	96,9	99
	62,5	3,0	97	99

Zytotoxizität von 1,4-Butanediol diglycidyl ether nach 24h Inkubation auf THP1 Zellen

	Konz. [µM]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
	Vehikle Kontrolle	2,3	97,7	100
	1000	40,2	59,8	61
	500	30	70	72
	250	23,8	76,2	78
1,4-Butanediol diglycidyl ether	125	15	85	87
	62,5	4,9	95,1	97
	31,25	3,2	96,8	99
	15,63	3,2	96,8	99

Kennziffer FP-0324, Anhang 3 Endbericht h-CLAT

Toxizität von 1,4-Cyclohexanedimethanol diglycidylether mix... nach 24h Inkubation auf THP1 Z

	Konz. [ $\mu$ M]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
Vehikle Kontrolle		2,5	97,5	100
1,4- Cyclohexanedime thanol diglycidylether mix...	4000	99,3	0,7	1
	2000	98,8	1,2	1
	1000	89,1	10,9	11
	500	38	62	64
	250	36,1	63,9	66
	125	18,2	81,8	84
	62,5	6,0	94	96

Zytotoxizität von Glycidyl 2-methylphenylether nach 24h Inkubation auf THP1 Zellen

	Konz. [ $\mu$ M]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
Vehikle Kontrolle		2,5	97,5	100
Glycidyl 2- methylphenylethe r	4000	99,8	0,2	0
	2000	96,9	3,1	3
	1000	93,6	6,4	7
	500	91,3	8,7	9
	250	74,7	25,3	26
	125	15,2	84,8	87
	62,5	8,1	91,9	94

Zytotoxizität von Dodecyl and tetradecylglycidyl ethers nach 24h Inkubation auf THP1 Zellen

	Konz. [ $\mu$ M]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
Vehikle Kontrolle		2,5	97,5	100
Dodecyl and tetradecylglycidyl ethers	4000	99,6	0,4	0
	2000	93	7	7
	1000	79,6	20,4	21
	500	39,3	60,7	62
	250	17,3	82,7	85
	125	5,1	94,9	97
	62,5	3,3	96,7	99

Kennziffer FP-0324, Anhang 3 Endbericht h-CLAT

Zytotoxizität von Poly(propylene glycol) diglycidyl ether nach 24h Inkubation auf THP1 Zellen

	Konz. [ $\mu$ M]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
	Vehikle Kontrolle	2,0	98,0	100
	4000	99,0	1,0	1
	2000	97,7	2,3	2
	1000	84,9	15,1	15
Poly(propylene glycol) diglycidyl ether	500	33,8	66,2	68
	250	18,3	81,7	83
	125	6,4	93,6	96
	62,5	3,0	97,0	99

Zytotoxizität von Trimethylolpropane triglycidyl ether nach 24h Inkubation auf THP1 Zellen

	Konz. [ $\mu$ M]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
	Vehikle Kontrolle	4,1	95,9	100
	100	37,1	62,9	66
	50	10,3	89,7	94
	25	5,5	94,5	99
Trimethylolpropane triglycidyl ether	13	4,4	95,6	100
	12,5	3,4	96,6	101
	6,25	3,7	96,3	100
	3,13	3,6	96,4	101
	0,78	3,3	96,7	101
	0,39	3,3	96,7	101

Zytotoxizität von 1,6-Hexandiol-diglycidylether nach 24h Inkubation auf THP1 Zellen

	Konz. [ $\mu$ M]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
	Vehikle Kontrolle	4,1	95,9	100
	1000	86,8	13,2	14
	500	44,7	55,3	58
	250	3,4	96,6	101
1,6-Hexandiol-diglycidylether	125	14,3	85,7	89
	62,5	6,4	93,6	98
	31,25	5	95	99
	15,63	4,5	95,5	100

Kennziffer FP-0324, Anhang 3 Endbericht h-CLAT

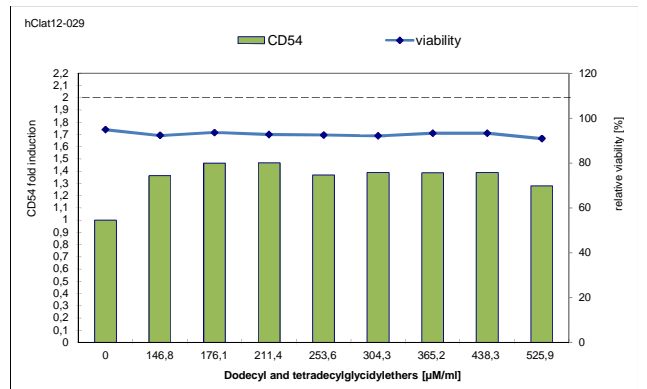
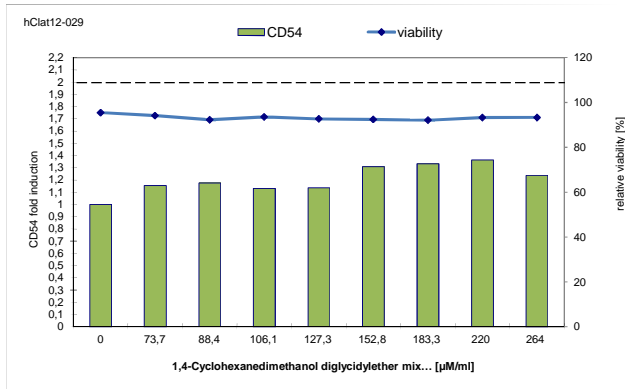
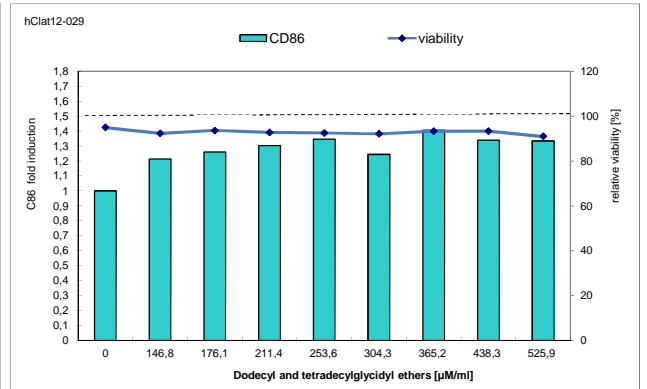
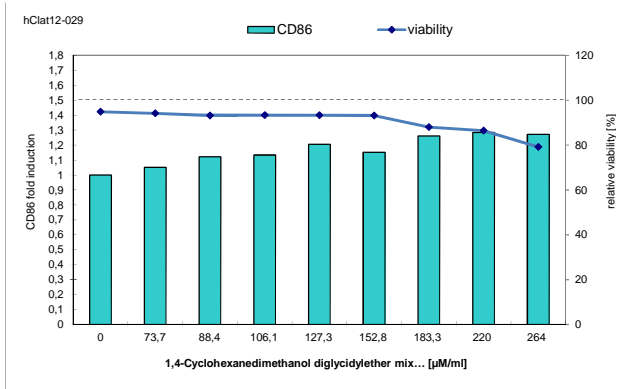
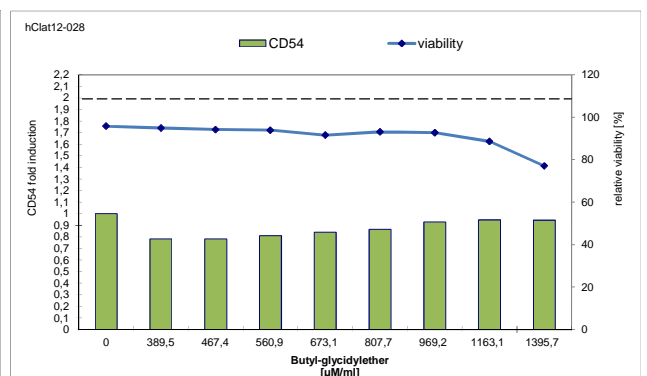
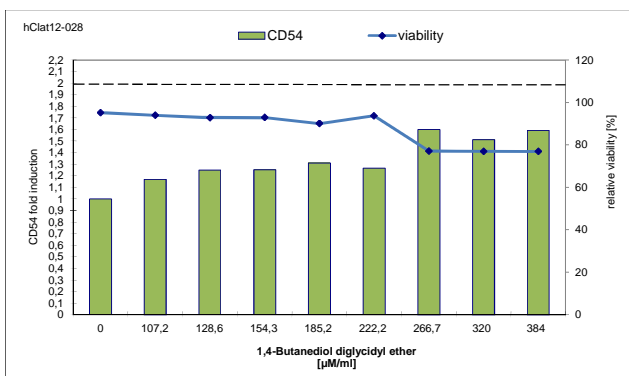
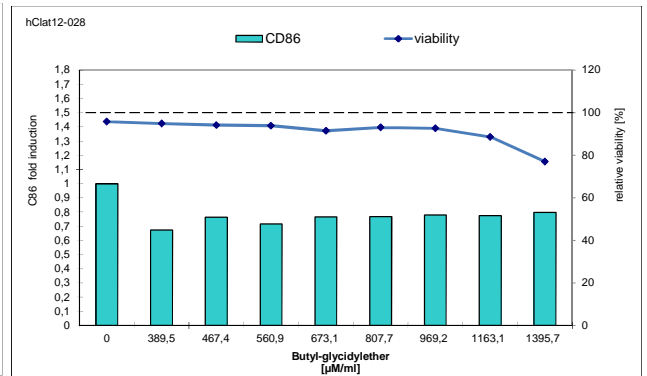
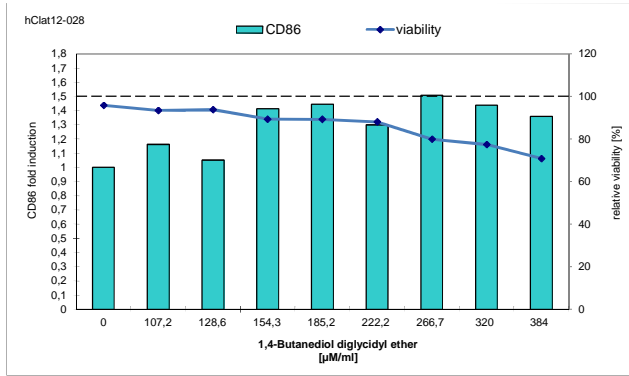
Zytotoxizität von Phenyl-glycidether nach 24h Inkubation auf THP1 Zellen

	Konz. [ $\mu$ M]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
	Vehikle Kontrolle	2,4	97,6	100
Phenyl- glycidether	4000	95,6	4,4	5
	2000	92,9	7,1	7
	1000	82,6	17,4	18
	500	73,3	26,7	27
	250	48,6	51,4	53
	125	7,6	92,4	95
	62,5	3,9	96,1	98

Zytotoxizität von Neopentyl glycol diglycidyl ether nach 24h Inkubation auf THP1 Zellen

	Konz. [ $\mu$ M]	tote Zellen[%] PJ positive Zellen	lebende Zellen[%] PJ negative Zellen	rel Viabilität [%]
	Vehikle Kontrolle	2,4	97,6	100
Neopentyl glycol diglycidyl ether	1000	95,3	4,7	5
	500	33,3	66,7	68
	250	11,9	88,1	90
	125	5,4	94,6	97
	62,5	3,5	96,5	99
	31,25	3,6	96,4	99
	15,63	3,1	96,9	99

### 9. CD86 und CD54 Expression auf hCLAT-Zellen nach Substanzinkubation



Kennziffer FP-0324, Anhang 3 Endbericht h-CLAT

