

BIA-Report 2/98
Fasern — Tests zur Abschätzung
der Biobeständigkeit
und zum Verstaubungsverhalten



HVBG
Hauptverband der
gewerblichen
Berufsgenossenschaften

Das Projekt wurde vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie (BMBF), Bonn, Projektträger Arbeit und Technik, und vom Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften (HVBG) gefördert.

Verantwortlich für den Inhalt dieses Berichtes sind die Autoren.

BMBF und HVBG übernehmen keine Gewähr, insbesondere für die Richtigkeit, die Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie die Beachtung privater Rechte Dritter.

Förderkennzeichen: 01 HP 154/7

Verfasser: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Hartwig Muhle,
Dr. rer. nat. Bernd Bellmann
Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung
(Fraunhofer ITA), 30625 Hannover

Dr.-Ing. Klaus Sebastian, Dr. rer. nat. Thure Böhm
Fraunhofer-Institut für Silicaforschung (Fraunhofer ISC),
97877 Wertheim

Dr. rer. nat. Eberhard Nies, Dr.-Ing. Axel Barig
Berufsgenossenschaftliches Institut für
Arbeitssicherheit — BIA, 53754 Sankt Augustin

Federführung und
Bearbeitung: Dr. rer. nat. Eberhard Nies, Dr. rer. nat. Helmut Blome,
Dr.-Ing. Axel Barig
Berufsgenossenschaftliches Institut für
Arbeitssicherheit — BIA, 53754 Sankt Augustin

Herausgeber: Hauptverband der gewerblichen
Berufsgenossenschaften (HVBG)
Alte Heerstraße 111, 53754 Sankt Augustin
Tel.: 0 22 41 / 2 31 - 01
Fax: 0 22 41 / 2 31 - 13 33
Internet: www.hvbg.de

— Februar 1998 —

Satz und Layout: HVBG, Abteilung Öffentlichkeitsarbeit

Druck: DCM — Druck Center Meckenheim

ISBN: 3-88383-462-9

ISSN: 0173-0387

Kurzfassung

Dosis, Geometrie und Biobeständigkeit werden als die entscheidenden Einflußgrößen für die krebserzeugende Wirkung von Mineralfasern angesehen. Die Bewertung des gesundheitlichen Gefährdungspotentials von künstlichen Mineralfasern (KMF) „kritischer“ Abmessungen erfordert standardisierte Prüfverfahren zur raschen und zuverlässigen Abschätzung der Biobeständigkeit und des Verstaubungsverhaltens einzelner Produkte.

Im Rahmen des Forschungsprojekts „Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern in vivo und in vitro und Entwicklung von Beurteilungskriterien für die Biobeständigkeit“ wurden sieben verschiedene Faserspezies (B-01-0.9, Glaswolle C, MMVF 11, RCF 1, HT 7, Wollastonit, Zetwool) vergleichend untersucht. Die Persistenz identischer Faserproben im Rattengewebe („in vivo“) wurde nach Inhalation, intratrachealer Instillation und intraperitonealer Injektion ermittelt. Parallel dazu wurden die Auflösungsgeschwindigkeiten dieser Fasern in einer physiologischen Modellflüssigkeit („in vitro“) bei den pH-Werten 4,5 und 7,5 sowie drei verschiedenen Durchflußrate-zu-Oberfläche-Verhältnissen durch Analyse der gelösten Komponenten bestimmt.

Die Halbwertszeit von KMF im Tierversuch ist abhängig von verschiedenen experimentellen Variablen wie Verabreichungs-

form, Menge der applizierten Fasern, ihre Längen- und Dickenverteilung, Länge des Beobachtungszeitraums und Art der statistischen Auswertung. Die vorliegende Studie zeigte, daß die intratracheale Instillation ein geeignetes Verfahren zur Bestimmung der Biopersistenz darstellt und unter standardisierten Testbedingungen für regulatorische Zwecke empfohlen werden kann.

Im In-vitro-Versuch beeinflusste die Alkalität der Modellösung stark die Auflösungsgeschwindigkeiten der Fasern. Für amorphe silicatische Fasern ergab sich eine gute Korrelation zwischen der nach intratrachealer Instillation gefundenen Halbwertszeit und der Auflösungsgeschwindigkeit in vitro, wenn die Auflösungsgeschwindigkeiten bei pH 7,5 bzw. bei pH 4,5 unterschiedlich gewichtet wurden. Das In-vitro-Versuchsmodell erscheint — nach weiterer Optimierung — als Screening-Test zur Abschätzung der Biobeständigkeit erfolgversprechend.

Neben der Biobeständigkeit gilt das Verstaubungsverhalten als relevante Materialeigenschaft zur Klassifikation und Risikobewertung von KMF. Die zur quantitativen Charakterisierung der Faseremissions-Eigenschaften von Mineralfaserprodukten z.Z. diskutierten Verstaubungstests (Labor-schnelltests, Prüfung im Vollmaßstab) werden vorgestellt und kritisch gewürdigt.

Abstract

The crucial variables affecting the carcinogenic effect of mineral fibres are taken to be dose, geometry and biodurability. Assessing the potential of adverse health effects by man-made mineral fibres (MMMF) of "critical" dimensions requires standardised testing procedures designed to provide a rapid and realistic picture of the biodurability and the dust-producing behaviour of individual products.

As part of the research project entitled "Examination of the persistence of mineral fibres in vivo and in vitro, and the development of biodurability assessment criteria", seven different types of fibre (B-01-0.9, glass fibre C, MMVF 11, RCF 1, HT 7, wollastonite, zetwool) were subjected to comparative investigations. The persistence of identical fibre samples in rat tissue (in vivo) was recorded following inhalation, intratracheal instillation and intraperitoneal injection. At the same time, the dissolution rate of the same fibres in a typical physiological liquid (in vitro) at pH 4.5 and at pH 7.5, as well as three different flow rate to surface area ratios, were determined by analysing the dissolved components.

The half-time value of MMMFs during animal experiments is dependent on a range of experimental variables such as the

method of administering the fibres, the quantity of fibre applied, their length and diameter distribution, duration of observation period and method of statistical evaluation. The current study shows that intratracheal instillation is an appropriate procedure for determining the biopersistence and that it can be recommended, under standardised test conditions, for regulatory purposes.

During the in vitro investigations, the alkalinity of the typical solution had a major effect on the dissolution rates of the fibres. With regard to amorphous silicate fibres, a good correlation was found between the half-time values noted after intratracheal instillation and the in vitro dissolution rate when these rates were weighted differently for pH 7.5 and pH 4.5. The in vitro experiment model would appear to offer a promising option as a screening test to assess biodurability, provided that the process is optimised.

In addition to biodurability, dust-producing behaviour is a relevant physical property for use in classifying and assessing the risk of MMMFs. Critical tribute is paid to the dust-producing tests (laboratory short-time tests, full-scale tests) currently being discussed as a means of characterising in quantitative terms the fibre-emitting qualities of mineral fibre products.

Résumé

La dose, la géométrie et la biodurabilité sont considérées comme étant les facteurs décisifs dans l'effet cancérigène des fibres minérales. L'évaluation du potentiel de risque médical des fibres minérales artificielles (FMA) de «dimensions» critiques exige des procédés de contrôle standardisés pour une estimation rapide et fiable de la biodurabilité et du comportement d'empoussiérement des différents produits.

Dans le cadre du projet de recherche «Études de persistance sur des fibres minérales in vivo et in vitro et élaboration de critères d'évaluation de la biodurabilité», sept variétés de fibres (B-01-0.9, fibre de verre C, MMVF 11, RCF 1, HT 7, wollastonite, Zetwool) ont été examinées de façon comparative. La persistance d'échantillons de fibres identiques dans les tissus du rat (in vivo) a été déterminée après inhalation, instillation intratrachéale et injection intrapéritonéale. On a déterminé parallèlement la vitesse de dissolution de ces fibres dans un liquide physiologique type (in vitro) avec des valeurs de pH de 4,5 et de 7,5.

La demi-vie des FMA déterminée lors d'essai sur des animaux dépend de différentes variables d'expérimentation. La pré-

sente étude a montré que l'instillation intratrachéale constitue un procédé adéquat pour déterminer la persistance biologique et qu'elle peut être recommandée à des fins de régulation dans des conditions de test standardisées.

Dans l'essai in vitro, l'alcalinité de la solution type influence fortement la vitesse de dissolution des fibres. Pour les fibres siliceuses amorphes, on obtient une bonne corrélation entre la demi-vie déterminée après instillation intratrachéale et la vitesse de dissolution in vitro, lorsque les vitesses de dissolution sont pondérées différemment pour des pH de 7,5 ou de 4,5. Le modèle d'essai in vitro semble, avec une optimisation supplémentaire, très prometteur comme essai sélectif d'évaluation de la biodurabilité.

Outre la biodurabilité, le comportement d'empoussiérement est considéré comme une propriété de matériau importante pour la classification et l'évaluation du risque des FMA. Les tests d'empoussiérement actuellement envisagés pour une caractérisation quantitative des propriétés d'émission de fibres des produits à base de fibres minérales font l'objet d'une appréciation critique.

Resumen

La dosis, la geometría y la bioresistencia son consideradas como los parámetros que influyen de modo decisivo sobre el efecto cancerígeno de las fibras minerales. La evaluación del potencial nocivo de las fibras minerales artificiales (KMF) de medidas «críticas» requiere unos métodos de prueba normalizados para poder evaluar la bioresistencia y el comportamiento de empolvoramiento de los diferentes productos de modo rápido y fiable.

En el marco del proyecto de investigación «Estudios de persistencia de fibras minerales in vivo e in vitro y desarrollo de criterios para valorar la bioresistencia» se realizó un estudio comparativo de siete especies de fibras (B-01-0.9, fibra de vidrio C, MMVF 11, RCF 1, HT 7, volastonita, zetwool). Se ha determinado la persistencia de pruebas de fibras idénticas en el tejido de ratas (in vivo) tras los procesos de inhalación, instilación intratraqueal e inyección intraperitoneal. Paralelamente se han determinado las diferentes velocidades con que se disuelven tales fibras en un líquido fisiológico modelo (in vitro) para los valores de pH de 4,5 y de 7,5.

En los ensayos animales el semiperíodo de las fibras minerales artificiales depende de diferentes variables experimentales. El presente estudio demuestra que la instilación

intratraqueal representa un método adecuado para determinar la biopersistencia y que puede recomendarse para objetivos reglamentarios en unas condiciones de ensayo estandarizadas.

En el ensayo in vitro la alcalinidad del líquido modelo ejerce una fuerte influencia sobre la velocidad de disolución de las fibras. Efectuando una ponderación diferenciada de las velocidades de disolución que se dan con los valores de pH 7,5 ó 4,5 se obtiene una buena correlación entre el semiperíodo determinado tras la instilación intratraqueal y la velocidad de disolución in vitro para las fibras amorfas de silicato. Tras un proceso de optimización, el modelo de ensayo in vitro parece ser un método prometedor de test de screening para evaluar la bioresistencia.

Además de la bioresistencia, el comportamiento de empolvoramiento es considerado como una propiedad de material relevante a la hora de clasificar y evaluar los riesgos inherentes de las fibras minerales artificiales. Se realiza una reseña crítica de los ensayos de empolvoramiento actualmente discutidos en la descripción cuantitativa de las propiedades de emisión de fibras de los productos con fibras minerales.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I Vorbemerkung: Künstliche Mineralfasern — Toxikologie und Regulation	
1 Biologische und toxikologische Grundlagen	15
1.1 Bau der Atemorgane	15
1.2 Brust- und Bauchfell	17
1.3 Ablagerung von Fasern im Atemtrakt	17
1.4 Physiologische Lungenreinigung (Clearance)	18
1.5 Krebsentstehung durch Faserstäube	19
2 Regulatorische Ansätze	21
2.1 Fasergeometrie	21
2.2 Biobeständigkeit	23
2.3 Konzentration	25
II Abschlußbericht zur Studie „Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern in vivo und in vitro und Entwicklung von Beurteilungskriterien für die Biobeständigkeit“	
Zusammenfassung	29
1 Einleitung	37
1.1 Problemstellung des Gesamtprojektes	40
1.2 Ziel der Prüfung	44
1.3 Lösungsweg	44
2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen	47
2.1 Einführung	47
2.2 Material und Methoden	49
2.2.1 Prüfsubstanzen/Referenzsubstanz	49
2.2.2 Sicherheitsvorschriften, Lagerung und Handhabung	52

	Seite
2.2.3	Sichtung der Prüfsubstanzen 52
2.2.4	Prüfsystem 57
2.2.4.1	Tiermodell 57
2.2.4.2	Akklimatisierung 57
2.2.4.3	Randomisierung 58
2.2.4.4	Identifizierung 58
2.2.4.5	Haltung der Tiere 58
2.2.4.6	Entsorgung 59
2.2.4.7	Tägliche und wöchentliche Beobachtungen 59
2.2.4.8	Körpergewichte 59
2.2.4.9	Datenaufzeichnung und Dokumentation 59
2.2.4.10	Statistische Methoden 59
2.2.4.11	Lagerung und Aufbewahrung von Materialien 60
2.2.5	Durchführung der Inhalationsprüfung 60
2.2.5.1	Gruppeneinteilung 60
2.2.5.2	Inhalation 60
2.2.5.3	Prüfungsdauer 62
2.2.5.4	Aerosolzeugung 63
2.2.5.5	Messung der Expositionsatmosphäre 63
2.2.5.6	Bestimmung der Faserretention in Lunge, LALN und Trachea 63
2.2.5.7	Beeinflussung der alveolären Clearance durch inhalierte Fasern ... 66
2.2.5.8	Untersuchungen zur Lokalisation von Fasern 67
2.2.5.9	Bestimmung der Faserretention im Pleuraspalt 67
2.2.5.10	Sektion für die Histologie 68
2.2.5.11	Sektion mit bronchoalveolärer Lavage 68
2.2.6	Durchführung der Prüfung mit intratrachealer Instillation 70
2.2.6.1	Gruppeneinteilung 70
2.2.6.2	Applikation 70
2.2.6.3	Prüfungsdauer 71
2.2.6.4	Retentionsmessungen 71

	Seite	
2.2.7	Durchführung der Prüfung mit intraperitonealer Injektion	71
2.2.7.1	Gruppeneinteilung	71
2.2.7.2	Applikation	71
2.2.7.3	Prüfungsdauer	72
2.2.7.4	Retentionsmessungen	72
2.3	Ergebnisse	72
2.3.1	Ergebnisse der Inhalationsprüfung	72
2.3.1.1	Expositionsatmosphäre	72
2.3.1.2	Körpergewichtsentwicklung	73
2.3.1.3	Lungenfeuchtgewichte	74
2.3.1.4	Faserretention in der Lunge	74
2.3.1.5	Faserretention in den Lungen-assoziierten Lymphknoten (LALN)	75
2.3.1.6	Faserretention in der Tracheaspülung	77
2.3.1.7	Faserretention im Pleuraspalt	77
2.3.1.8	Clearancemessungen	77
2.3.1.9	Bronchoalveoläre Lungenspülung	78
2.3.1.10	Histopathologie	80
2.3.2	Ergebnisse der Prüfung mit intratrachealer Instillation	82
2.3.2.1	Körpergewichtsentwicklung	82
2.3.2.2	Lungenfeuchtgewichte	82
2.3.2.3	Faserretention in der Lunge	83
2.3.3	Ergebnisse der Prüfung mit intraperitonealer Injektion	86
2.3.3.1	Körpergewichtsentwicklung	86
2.3.3.2	Feuchtgewichte des Großen Netzes (Omentum maius)	86
2.3.3.3	Faserretention im Großen Netz	87
2.3.4	Ergebnisse aus früheren Prüfungen mit intratrachealer Instillation	88
2.4	Diskussion	90
2.4.1	Anforderungen an das Testsystem	90
2.4.2	Deposition und Clearance von Fasern nach Inhalation	91

	Seite	
2.4.3	Definition Biopersistenz und Biobeständigkeit	96
2.4.4	Ergebnisse der Faserretention des Inhalationsversuchs	96
2.4.5	Die biologische Wirkung der Fasern nach Inhalation	99
2.4.6	Bewertung der Ergebnisse nach intratrachealer Instillation	100
2.4.6.1	Instillierte Fasermasse	100
2.4.6.2	Faserdicke	101
2.4.6.3	pH-Wert der Fasersuspension	102
2.4.6.4	Korrelation zwischen KI-Wert und Halbwertszeit	103
2.4.7	Vergleich der Applikationsmethoden	103
2.4.7.1	Vergleich der Ergebnisse nach intratrachealer Instillation und Inhalation	103
2.4.7.2	Vergleich der Ergebnisse nach intratrachealer Instillation und intraperitonealer Injektion	106
2.4.8	Schlußfolgerungen	109
3	Teil II: In-vitro-Untersuchungen	113
3.1	Grundlagen	113
3.1.1	Problemstellung	114
3.1.2	Einflußfaktoren bei In-vitro-Versuchen	115
3.1.3	Vorgehensweise	116
3.2	Experimentelle Arbeiten	117
3.2.1	Probenmaterial	117
3.2.2	Charakterisierung der Ausgangsproben	117
3.2.3	Versuchsdurchführung und Versuchsparameter	118
3.2.4	Charakterisierung der Proben nach dem In-vitro-Test	119
3.3	Ergebnisse	119
3.3.1	Direkte Versuchsergebnisse	119
3.3.1.1	Morphologie der Proben nach dem In-vitro-Test	119
3.3.1.2	Massenverlust	120
3.3.1.3	Auflösungsgeschwindigkeit	122

	Seite	
3.3.2	Korrelation der In-vitro-Ergebnisse mit denen der intratrachealen Instillation	126
3.3.2.1	Wichtung der Auflösungsgeschwindigkeit	126
3.3.2.2	Simulationsrechnungen	130
3.4	Diskussion	134
4	Gemeinsame Diskussion beider Teilprojekte	137
4.1	Vergleichende Bewertung des In-vitro-Versuchs und der intratrachealen Instillation	137
4.2	Weiterer Forschungsbedarf	138
5	Anhang zum Abschlußbericht	
	Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen	
	Tabellen A 1 bis A 21	145
	Abbildungen A 1 bis A 22	167
	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (unkorrodierte Prüfaufnahmen)	191
	Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen	
	Tabellen A 22 bis A 32	207
	Abbildungen A 23 bis A 57	221
	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (unkorrodierte und korrodierte Prüfaufnahmen)	257
6	Stellungnahmen zum Abschlußbericht	273
6.1	Einführung	273
6.2	Stellungnahme R.C. Brown, U. Nebe European Ceramic Fibres Industry Association, Paris	275
6.3	Stellungnahme U. Draeger Deutsche Rockwool Mineralwoll-GmbH, Gladbeck	281
6.4	Stellungnahme F. Pott Medizinisches Institut für Umwelthygiene, Düsseldorf	285

		Seite
III	Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern	297
1	Allgemeines	299
2	Übersicht über die Tests zum Verstaubungsverhalten	300
3	Analyse des Fasermaterials	302
4	Laborschnelltests (<i>bench-scale tests</i>)	305
5	Prüfungen im Vollmaßstab	310
5.1	Allgemeines	310
5.2	<i>Full-scale test</i> für Mineralwolldämmstoffe	313
5.3	<i>Full-scale test</i> für keramische Fasern	322
6	Abschlußbemerkung	323
IV	Nachtrag: Relevante Entwicklungen im Regelwerk	325
V	Literatur	329
VI	Glossar	341
VII	Anschriften der Autoren	367

I Vorbemerkung:
Künstliche Mineralfasern — Toxikologie und Regulation

I Vorbemerkung:

Künstliche Mineralfasern — Toxikologie und Regulation

E. Nies

Unter künstlichen Mineralfasern (KMF) versteht man aus mineralischen Rohstoffen synthetisch hergestellte glasige Fasern. Der Begriff beinhaltet Endlosfasern (Textilglasfasern), Mineralwolle (Glas-, Stein-, Schlackenwolle), glasige keramische Fasern und bestimmte Fasern für Spezialanwendungen (Glasmikrofasern).

Aus Tierexperimenten wurde ein krebs-erzeugendes Potential für bestimmte Vertreter dieser sehr heterogenen Substanzgruppe abgeleitet. Zur Einführung sollen stichwortartig die wichtigsten toxikologischen Erfahrungen zum Thema zusammengetragen und Trends der Präventionsanstrengungen zum Schutze KMF-exponierter Beschäftigter skizziert werden.

1 Biologische und toxikologische Grundlagen [1]

1.1 Bau der Atemorgane

Der Atemtrakt (Abbildung 1, siehe Seite 16) läßt sich in drei Hauptabschnitte unterteilen:

- nasopharyngealer Bereich (obere Atemwege)
- tracheobronchialer Bereich (mittlere Atemwege)
- alveolärer Bereich (terminale Atemwege)

Der nasopharyngeale Bereich (Nasen-Rachen-Region) umfaßt die im Kopf befindlichen Luftwege von den Nasenhöhlen bis zum Kehlkopf. In diesem Abschnitt durchströmt die Luft ein kompliziert gewundenes Röhrensystem, wobei es bereits zur „Aussiebung“ größerer Partikeln kommt.

Mit der Trachea (Lufttröhre) gelangt die Luft in die mittleren Atemwege. An der „Bifurcatio tracheae“ teilt sich die Lufttröhre in die beiden Hauptbronchien. Beim Menschen verzweigt sich jeder Hauptbronchus zunächst sukzessiv in ca. 15 Generationen von Luftkanälen (Bronchien und Bronchiolen), deren Durchmesser immer kleiner werden. Bronchien und Bronchiolen sind innen bewimpert und mit einer Schleimschicht (Mucus) ausgekleidet. Die Wimpern (Zilien) transportieren den Schleim kontinuierlich in Richtung Schlund, wo er meist durch Verschlucken in den Magen gelangt.

Im alveolären Bereich findet schließlich der Gasaustausch statt. Diese terminale Region der Lunge setzt sich beim Menschen aus über einem halben Dutzend Generationen fast unbewimperter „respiratorischer“ Bronchiolen zusammen sowie den Alveolargängen und -säcken, die aus traubig angeordneten Lungenbläschen (Alveolen) bestehen. Die respiratorischen Bronchiolen sind ebenfalls mit

I Vorbemerkung: Künstliche Mineralfasern – Toxikologie und Regulation

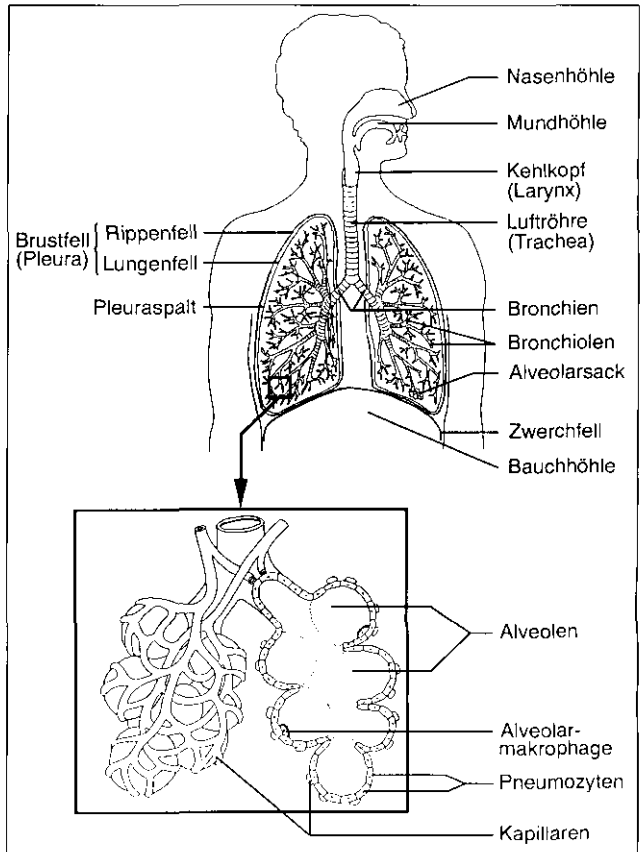


Abbildung 1:
Schematische Darstellung der Atemorgane des Menschen (erstellt unter Verwendung einer Kopiervorlage des Ernst Klett Schulbuchverlags, Stuttgart)

Alveolen besetzt. Die Wände der Alveolen werden aus als „Pneumozyten“ bezeichneten Zellen gebildet. Spezialisierte Pneumozyten produzieren den sog. „Surfactant“, ein Gemisch aus Eiweißen und oberflächenaktiven

Lipiden, mit dem die innere Oberfläche der Alveolen beschichtet ist.

In den Alveolen patrouillieren gewebetypische bewegliche Freßzellen, die Alveolarmakrophagen. Sie nehmen

aktiv Fremdkörper auf und vermögen als Bestandteile des Immunsystems auch infektiöse Keime zu inkorporieren und zu vernichten.

Die Lunge ist das Organ der äußeren Atmung und schließt Bronchien, Bronchiolen und Alveolen ein. Sie gliedert sich beim Menschen in zwei Lungenflügel, von denen der rechte aus drei, der linke aus zwei Lappen besteht.

Die Atemorgane von Mensch und Ratte unterscheiden sich in mancher Hinsicht voneinander. So verfügt die Ratte über ein wesentlich wirksameres Nasenfilter und kann als obligatorischer Nasenatmer nicht wie der Mensch durch Mundatmung das Filtersystem der Nase umgehen. Das Verzweigungsmuster von Bronchien und Bronchiolen ist bei Nagetieren im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Menschen asymmetrisch und zeigt einen geringeren Aufteilungsgrad. Respiratorische Bronchiolen fehlen in der Rattenlunge, deren rechter Flügel in vier Lungenlappen unterteilt werden kann, während der linke nur einlappig ist.

1.2 Brust- und Bauchfell

Brustfell (Pleura) und Bauchfell (Peritoneum) bestehen aus dem gleichen Gewebe, einer Art Haut, für die der Ober-

begriff „Serosagewebe“ verwendet wird. Da Mineralfasern an Brust- oder Bauchfell einen besonders bösartigen Tumortyp (Mesotheliom) hervorrufen können, soll auf deren Lage im Körper und ihre Funktion kurz eingegangen werden.

Das Brustfell überzieht alle Lungenlappen („Lungenfell“) und das Herz („Herzbeutel“) von außen sowie den Brustkorb von innen („Rippenfell“). Seine Oberfläche ist mit einem Flüssigkeitsfilm bedeckt, der während der Atembewegungen eine leichte Verschiebbarkeit der Lungenlappen gegeneinander wie auch gegen den Brustkorb gewährleistet. In analoger Weise sind im Bauchraum die Eingeweide vom Bauchfell bedeckt und können sich bei unterschiedlichen Füllungszuständen des Magen-Darm-Trakts sowie bei Darmbewegungen gut gegeneinander verschieben und an der mit Bauchfell ausgekleideten Bauchwand vorbeigleiten.

1.3 Ablagerung von Fasern im Atemtrakt

Bei der Abscheidung (Deposition) von Fasern im Bereich der Atemwege spielen vier wichtige Vorgänge eine Rolle:

- Interzeption
- Impaktion

- Sedimentation
- Diffusion

Unter Interzeption versteht man die Abscheidung von Fasern durch Kontakt eines Faserendes mit den Wänden des Atemtrakts.

Impaktion bedeutet „Aufprall“ und Ablagerung von Partikeln aufgrund ihrer Trägheit bei abrupten Richtungsänderungen des Luftstroms in den oberen und z.T. mittleren Atemwegen, namentlich an den Verzweigungsstellen. Dies gilt vor allem für die größeren, vom Menschen einatembaren Partikeln (aerodynamischer Durchmesser $> 5 \mu\text{m}$). Vorrangig im bronchialen Bereich schlagen sich überwiegend Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser zwischen 1 und $5 \mu\text{m}$ unter dem Einfluß der Schwerkraft nieder, was man als Sedimentation bezeichnet. Noch kleinere Partikeln scheiden sich insbesondere in den terminalen Atemwegen infolge von Diffusionsprozessen ab, die man sich durch den Zusammenstoß mit Gasmolekülen erklärt.

1.4 Physiologische Lungenreinigung (Clearance)

Die Beseitigung („Clearance“) fester Fremdstoffe aus der Lunge kann entweder durch Auflösung oder durch Abtransport erfolgen. Gelöste Bestandteile wer-

den ständig durch den Blut- bzw. Lymphstrom entfernt. Der physikalische Abtransport nicht gelöster Partikeln wird im wesentlichen durch folgende unterschiedliche Prozesse bestimmt:

- mucoziliäre (ziliäre) Clearance
- Makrophagen-vermittelte Clearance
- lymphatische Clearance

Von dem bewimperten und schleimüberzogenen „Flimmerepithel“ der Bronchien und Bronchiolen war bereits im Abschnitt „Bau der Atemorgane“ die Rede. In der Schleimschicht abgefangene Fremdkörper werden durch die Wimpernbewegung aus der Lunge herausbefördert („mucoziliäre Clearance“). Kleinere Partikeln, die bis zu den Alveolen vorge-drungen sind, können von den Makrophagen aufgespürt werden, die grundsätzlich in der Lage sind, Partikeln bis zu einer Länge von ca. $10 \mu\text{m}$ aufzunehmen und in einem besonderen Kompartiment im Zellinnern, dem Phago-lysosom, zu deponieren. Die Flüssigkeit im Phago-lysosom weist einen pH-Wert von 4,5 bis 5,0 (schwach sauer) auf, während das Milieu im Zwischengewebe der Lunge neutral bis schwach alkalisch ist (pH 7,4 bis 7,6). Durch aktive Bewegung können beladene Makrophagen das Flimmerepithel der Bronchiolen erreichen, welches für ihren weiteren Abtransport sorgt. Längere Fasern werden

nur noch partiell von diesen Freßzellen umschlossen und behindern deren Mobilität erheblich.

Schließlich können Staubteilchen auch in das Stützgewebe zwischen den Alveolen (Interstitium) übertreten und mit der Lympflüssigkeit in die regionalen („Lungen-assoziierten“) Lymphknoten gelangen.

1.5 Krebsentstehung durch Faserstäube

Zahlreiche Staubarten können entzündliche Prozesse in den Atemwegen hervorrufen, wenn sie in größeren Mengen inhaliert wurden. Dabei wandern weiße Blutzellen (Makrophagen, Granulozyten, Lymphozyten) aus dem Stützgewebe oder den Blutgefäßen in das Lungeninnere und produzieren vermehrt reaktive Sauerstoffspezies (z.B. Peroxidionen, Hydroxylradikale) und eine Reihe von Botenstoffen. Wiederholen sich solche Ereignisse, kann es zu einem narbigen Umbau der Lunge kommen, der als Fibrose bekannt ist. Man beobachtet eine abnorme Vernetzung von Kollagenfasern, was eine zunehmende Versteifung des Lungengewebes bewirkt. Es bilden sich Ansammlungen von Makrophagen mit gespeicherten Staubpartikeln, die sich vergrößern und zu Schwielen zusammenwachsen. Fibrosen werden beispielsweise von nichtfaserigen Quarz-

stäuben („Quarzstaublunge“, „Silikose“) hervorgerufen, aber auch von Asbestfasern („Asbestose“).

Bestimmte natürliche Mineralfasern (Asbest, Erionit) erzeugen beim Menschen nachweislich Tumoren, und zwar überwiegend Lungenkarzinome sowie Mesotheliome des angrenzenden Brustfells (Pleura) und – seltener – des Bauchfells (Peritoneum). Darüber hinaus erwies sich eine Reihe weiterer faserförmiger Stäube im Tierexperiment als krebserzeugend.

Bevorzugtes Tiermodell für die faserinduzierte Krebsentstehung ist die Ratte, wobei im wesentlichen zwei Verabreichungsformen miteinander konkurrieren [2]:

- Inhalation
- intraperitoneale Injektion

Die Inhalation stellt zweifellos den „natürlichen“ Aufnahmeweg dar. Bedingt durch den effizienten Reinigungsmechanismus und das wirksame Nasenfilter der Ratte dringen jedoch auf diese Weise nur relativ wenige und kleine Fasern in die terminalen Atemwege vor. Fasern mit einem geometrischen Durchmesser von etwa $1,5 \mu\text{m}$ (aerodynamischer Durchmesser ca. $5 \mu\text{m}$) vermögen die Rattennase praktisch nicht zu passieren, während beim Menschen noch ein

I Vorbemerkung:

Künstliche Mineralfasern — Toxikologie und Regulation

erheblicher Anteil von Fasern mit einem geometrischen Durchmesser über $3 \mu\text{m}$ (aerodynamischer Durchmesser ca. $10 \mu\text{m}$) in die Lunge gelangt und dort abgeschieden wird.

Einen Ansatz zur Überwindung dieser Beschränkungen eröffnet die direkte Einspritzung der Fasern in die Bauchhöhle. Gelegentlich bringen die Toxikologen ihre Prüfstäube auch „intrapleural“ in die Brusthöhle ein, d.h. in den Pleuraspalt zwischen Lunge und Brustkorb. Intrapleurale und intraperitoneale Studien faßt man unter dem Begriff „Serosatests“ zusammen. Mit mehreren Fasertypen konnten experimentell sowohl in der Pleura als auch im Peritoneum bösartige Tumoren, die bereits erwähnten Mesotheliome, induziert werden.

Die intraperitoneale Injektion ist eine sehr empfindliche Methode zur Ermittlung der krebserzeugenden Potenz von Faserstäuben. Dennoch ist sie in der Fachwelt nicht unumstritten. Besonders die unphysiologische Verabreichungsweise und die hohe Dosierung werden von den Gegnern dieses Modells ins Feld geführt, die eine Übertragbarkeit der so gewonnenen Ergebnisse auf die Situation des am Arbeitsplatz exponierten Menschen bezweifeln. Von der Senatskommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe

(„MAK-Kommission“) und dem Ausschuß für Gefahrstoffe (AGS) wird ein positiver Intraperitonealtest als einstufigsrelevant anerkannt, weil das experimentell vermittelte Lungenkrebsrisiko durch Einatmen von humankanzerogenen Faserstäuben bei der Ratte niedriger war als das aus epidemiologischen Daten für den Menschen abgeschätzte Risiko.

Über den Mechanismus der Krebsentstehung durch Mineralfasern ist noch wenig bekannt. Möglicherweise spielen dabei reaktive Sauerstoffspezies eine Rolle, die mit zellulären Molekülen reagieren und die Erbsubstanz im Zellkern schädigen können. Reaktive Sauerstoffspezies werden nicht nur im Rahmen entzündlicher Prozesse produziert (z.B. von Makrophagen); ihre Bildung könnte auch durch Übergangsmetallionen auf der Faseroberfläche physikochemisch katalysiert werden. Möglicherweise stören Fasern auch die Teilung von Zellen in ihrer Umgebung. Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß gerade mechanisch oder chemisch verletztes Gewebe, dessen Heilungsprozeß mit einer erhöhten Zellteilungsaktivität einhergeht, generell sehr empfänglich für mutagene Ereignisse ist, die in das Wachstum eines Tumors einmünden können.

Inwieweit Oberflächeneigenschaften einen Einfluß auf die krebserzeugende Wirkstärke von Fasern ausüben, ist noch

ungeklärt. Nach heutigem Kenntnisstand entscheiden drei Faktoren über das Krebsrisiko, das von einem Faserstaub ausgeht. Nach den Anfangsbuchstaben dieser Parameter spricht man auch scherzhaft vom „KGB-Kriterium“:

- Konzentration
- Geometrie
- Biobeständigkeit

Epidemiologische Untersuchungen vermögen in ihrer Gesamtheit bisher keinen klaren Zusammenhang zwischen Krebs (speziell Lungentumoren, vgl. [3]) beim Menschen und KMF-Exposition zu belegen. Einen solchen Nachweis zweifelsfrei zu führen, dürfte aus statistischen Gründen angesichts der hohen Hintergrundrate für Lungentumoren nicht leichtfallen. Es gilt ferner zu bedenken, daß die Latenzperiode zwischen Expositionsbeginn und Ausbruch einer Krebserkrankung mehrere Jahrzehnte betragen kann, einige KMF-Arten (Keramikfasern!) aber erst seit relativ kurzer Zeit breitere Anwendung finden.

Dennoch scheint es unter präventivmedizinischen Aspekten dringend erforderlich, die Quantifizierung der einzelnen „KGB“-Parameter vor der Folie gesicherten Wissens durch reproduzierbare Meßvorschriften zu standardisieren, um auf dieser Basis sinnvolle

Einstufungskriterien und Höchstgrenzen für den beruflichen Umgang etablieren zu können.

2 Regulatorische Ansätze

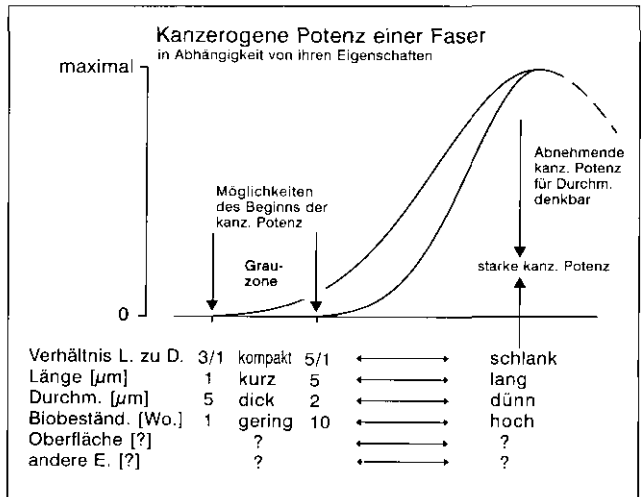
2.1 Fasergeometrie

Eingeatmete Fasern mit einem aerodynamischen Durchmesser $> 12 \mu\text{m}$ (geometrischer Durchmesser ca. $> 4 \mu\text{m}$) werden zu mehr als 50 % bereits in Nase, Rachen oder Kehlkopf des Menschen abgeschieden. Bei entsprechend geringem geometrischen Durchmesser können Fasern bis zu einer Länge von $100 \mu\text{m}$ die Lunge erreichen. Allerdings sind die meisten Fasern, die in der menschlichen Lunge gefunden werden, kürzer als $5 \mu\text{m}$ [4]. Faserlängen von mehr als $10 \mu\text{m}$ scheint die größte kanzerogene Potenz zuzukommen; diese verringert sich mit abnehmender Länge und ist bei 2 bis $3 \mu\text{m}$ vermutlich zu vernachlässigen [5]. Lange Partikeln mit einem geometrischen Durchmesser unter $3 \mu\text{m}$, die ein Länge-zu-Durchmesser-Verhältnis zwischen $> 5 : 1$ und $3 : 1$ aufweisen, müssen als „kritisch“ angesehen werden (Abbildung 2, siehe Seite 22).

Nach der Empfehlung einer Arbeitsgruppe der Weltgesundheitsorganisation (WHO) sollten zur Vorbeugung

I Vorbemerkung: Künstliche Mineralfasern — Toxikologie und Regulation

Abbildung 2:
Vereinfachtes Modell zur
kanzerogenen Potenz einer
Faser in Abhängigkeit
von ihren Abmessungen
und ihrer Beständigkeit.
Im Bereich der „Grauzone“
liegen noch keine gesicherten
wissenschaftlichen Erkenntnisse
darüber vor, inwieweit mit
einer krebserzeugenden Wir-
kung zu rechnen ist (aus [6])



von Lungenkrankheiten Fasern folgen-
der Abmessungen berücksichtigt wer-
den:

- Länge-zu-Durchmesser-Verhältnis:
> 3 : 1
- Länge: > 5 µm
- Durchmesser: < 3 µm

Für die Beurteilung von Faserkonzentrationen am Arbeitsplatz genießt diese Übereinkunft seit den 60er Jahren internationale Anerkennung; Partikeln, welche die geometrischen Kriterien gemäß o.a. Definition erfüllen, werden kurz als „WHO-Fasern“ bezeichnet.

Die Faserspektren (Durchmesser-Längen-Verteilung) handelsüblicher KMF unterscheiden sich grundlegend von den Prüfsubstanzen der meisten toxikologischen Studien, für welche WHO-Fasern ange-reichert werden. Mit Ausnahme der Endlofasern besitzen alle KMF herstellungsbedingt ein breites Durchmesserspektrum, wobei der mittlere Durchmesser von max. ca. 20 µm für Endlofasern bis herunter zu ca. 0,1 µm für Spezialfasern reicht. Nur ein Teil dieser Fasern sind WHO-Fasern; bei den Mineralwollen sind dies z.B. ca. 0,5 % des Staubes [7]. Der Anteil von WHO-Fasern im Produkt und damit die Faserfreisetzung (Verstaubungsverhalten) ist um so größer, je

kleiner der mittlere Faserdurchmesser ist, d.h. um so größer ist auch die Faserstaubkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz. Für regulatorische Zwecke (Einstufung, Klassifizierung) der einzelnen Faserarten wurde deshalb vorgeschlagen, den mittleren Faserdurchmesser als einen entscheidenden Parameter heranzuziehen [8].

2.2 Biobeständigkeit

Je länger eine Faser ihre Reizwirkung in einem empfindlichen Areal der Lunge oder des Brustfells entfalten kann, um so höher ist die Wahrscheinlichkeit, daß das Gewebe an der betroffenen Stelle entartet und sich in der Folge ein Tumor ausbildet. Deshalb muß darauf hingewirkt werden, für kommerzielle Zwecke Fasertypen zu entwickeln, die eine geringe Biobeständigkeit besitzen, d.h. wenig widerstandsfähig sind gegen Angriffe des biologischen Milieus in den Zellen und in den Flüssigkeiten außerhalb der Zellen.

Die Biobeständigkeit ist also eine Materialeigenschaft und wird im Falle der Fasern von der Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit bestimmt. Sie ist nicht direkt meßbar, sondern kann nur aus Daten zur Biopersistenz erschlossen werden. Unter Biopersistenz versteht man in unserem Kontext die Aufenthaltsdauer im

Körper, namentlich in der Lunge. „Biopersistenz“ ist der umfassendere Begriff gegenüber der „Biobeständigkeit“ und schließt nicht nur Auflösungs- und Zerfallsprozesse ein, sondern auch den physikalischen Abtransport, z.B. durch das Flimmerepithel der Bronchien und Bronchiolen.

Hinsichtlich Konzeption und Bewertung von Tiermodellen gilt es zu berücksichtigen, daß sich die Geschwindigkeit des physikalischen Abtransports aus der Menschen- und Rattenlunge offenbar voneinander unterscheidet, während das relevante biologische Milieu in Mensch und Ratte, welches die Biobeständigkeit beeinflußt, von den meisten Inhalationstoxikologen als vergleichbar angesehen wird.

Zur Bestimmung der Biopersistenz, aus der wiederum auf die Biobeständigkeit geschlossen werden soll, stehen im Tierexperiment zwei Darreichungsformen im Vordergrund [9]:

intratracheale Instillation

Inhalation

Bei der intratrachealen Instillation werden relativ große Fasermengen ohne Verletzung des Gewebes in die Lufttröhre eingeträufelt. Diese „Überladung“ der Lunge mit Staub führt zu einer deutlichen Verlangsamung der Makrophagenver-

I Vorbemerkung:

Künstliche Mineralfasern — Toxikologie und Regulation

mittelten Lungenreinigung. Von den Befürwortern der Methode ist dieser Effekt gewollt, da Transportvorgänge in der Lunge ja die Löslichkeits- und Zerfallsprozesse überlagern und damit eine Ermittlung der Biobeständigkeit erschweren. Kritiker der intratrachealen Instillation weisen auf die unzutraglich hohe Dosierung hin, die über Verklumpungen des verabreichten Staubes und sekundäre Störeffekte (z.B. entzündliche Prozesse) zu unrealistischen Resultaten führe.

Läßt man die Tiere Faserstäube einatmen (Inhalation), kommt es zu einer gleichmäßigeren Verteilung der Partikeln in der Lunge. Es werden aber vergleichsweise wenige und kleine Partikeln in die Lunge aufgenommen, wo sie wegen der intakt bleibenden physikalischen Reinigungsmechanismen auch nur relativ kurzfristig verweilen. Damit wird mit dieser Methode eine geringere „Trennschärfe“ bei der Differenzierung einzelner Faserarten erzielt als mit der intratrachealen Instillation, von der sich der Inhalationstest zusätzlich durch höhere Kosten unterscheidet.

Derzeit bemühen sich EU-Gremien um eine Bewertung und Standardisierung dieser Methoden, und das in den nächsten Kapiteln beschriebene Forschungsprojekt sollte einen Beitrag zur Entscheidungshilfe leisten.

Der deutsche Ausschuß für Gefahrstoffe (AGS) hat im Jahre 1994 mit dem Algorithmus des Kanzerogenitätsindex (KI) einen pragmatischen Weg zur Abschätzung der Biobeständigkeit glasiger Mineralfasern anhand der chemischen Zusammensetzung vorgeschlagen. Der KI, der auch Eingang in die TRGS 905 [10, 11, 12] gefunden hat, errechnet sich aus der Summe der Oxide von Natrium, Kalium, Bor, Calcium, Magnesium und Barium, vermindert um die doppelte Menge der Aluminiumoxide (jeweils in Gewichts-%) einer Faserart. Nach TRGS 905 gilt eine Faser nicht als krebserzeugend, wenn

- der KI mindestens 40 beträgt oder
- sich das Material im Langzeit-Tierexperiment nach intraperitonealer Verabreichung von $\geq 5 \cdot 10^9$ Fasern als nicht krebserzeugend erwies oder
- negative Ergebnisse aus anderen Tierversuchen vorliegen, die im Vergleich zum Intraperitoneal-Test eine ähnliche oder höhere Empfindlichkeit gegenüber der krebserzeugenden Wirkung von Fasern zeigen, oder
- Daten vorhanden sind, die aufgrund experimenteller Ergebnisse eine sehr geringe Biobeständigkeit belegen (z.B. vergleichbar mit Gipsfasern).

Wünschenswert wäre eine weitere Konkretisierung der vom AGS geforderten „sehr geringen Biobeständigkeit“ und geeigneter Nachweismethoden. Hier setzte die nunmehr abgeschlossene Studie „Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern in vivo und in vitro und Entwicklung von Beurteilungskriterien für die Biobeständigkeit“ an, die gemeinsam vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie sowie dem Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften finanziell gefördert wurde. Die Projektnehmer Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, Hannover, und Fraunhofer-Institut für Silicatiforschung, Würzburg, wurden begleitet von einem Beratungsgremium, in dem Repräsentanten der Auftraggeber, der Wissenschaft, der Faserhersteller, Bundesoberbehörden und der Berufsgenossenschaften vertreten waren.

Sowohl mit Faserchargen, die bereits in Langzeit-Tierversuchen eingesetzt worden waren, als auch mit innovativen Produkten wurden Persistenzuntersuchungen am Rattenmodell nach intratrachealer, inhalativer und intraperitonealer Verabreichung durchgeführt und die Eignung der einzelnen Testsysteme für die Beurteilung der Biobeständigkeit untersucht. Parallel dazu sollte geprüft werden, unter welchen Bedingungen die Messung der Auflösungsgeschwindigkeit

von Fasern in physiologischen Modellflüssigkeiten eine valide Alternative gegenüber einer tierexperimentellen Abschätzung der Biobeständigkeit darstellt.

2.3 Konzentration

KMF bergen für den Menschen dann ein Krebsrisiko, wenn sie ausreichend lang, dünn und biobeständig sind. Dabei wächst die Wahrscheinlichkeit einer Tumorerkrankung mit der Anzahl der in die Lunge eingedrungenen Fasern, die diese Eigenschaften aufweisen. Da eine Wirkschwelle nach gegenwärtigem Kenntnisstand nicht angegeben werden kann, sollte die Zahl „kritischer“ Fasern in der Atemluft minimiert werden.

Nach TRGS 900 [13] gilt für KMF, die in ihren Abmessungen der WHO-Definition genügen (siehe Abschnitt 2.1), seit 1995 ein allgemeiner Luftgrenzwert von $500\ 000\ \text{F}/\text{m}^3$. Wegen des hohen Anteils an — toxikologisch unbedenklichen, weil wenig biobeständigen — Gipsfasern an Baustellen gilt dort der Luftgrenzwert als eingehalten, wenn die Gesamtfaserzahl lichtmikroskopisch nachgewiesen unter $1\ 000\ 000\ \text{F}/\text{m}^3$ liegt. Zur Zeit wird im AGS diskutiert, ob der Luftgrenzwert für krebserzeugende KMF der Kategorien 1 bis 3 noch weiter abgesenkt werden kann.

Praktische Hinweise zur risikoarmen Handhabung von KMF-Produkten gibt die TRGS 521 „Faserstäube — Teil 1: Anorganische Faserstäube“ [14]. In dieser Technischen Regel werden die geforderten Schutzmaßnahmen, gestaffelt nach der Einstufung der Faserstäube (krebserzeugend, krebverdächtig), aufgeführt. Zu den primären Schutzmaßnahmen gehört dabei die Auswahl von „Produkten mit einem günstigen Verstaubungsverhalten“. Es wird darauf hingewiesen, daß „Verfahren zur Beurteilung des Verstaubungsverhaltens von Mine-

ralwolle- und Keramikfaserprodukten in Vorbereitung sind“. Diesen Forderungen liegt die Erfahrung zugrunde, daß das Verstaubungsverhalten — die „Eigenschaft von Produkten im Hinblick auf die mögliche Freisetzung von Faserstäuben“ — entscheidend die Faserstaubkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz bestimmt. Das Verstaubungsverhalten wird somit neben der Biobeständigkeit als relevante Materialeigenschaft zur Klassifikation und Risikoeinschätzung von KMF angesehen [8, 15, 16, 17].

II Abschlußbericht zur Studie
„Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern
in vivo und in vitro
und Entwicklung von Beurteilungskriterien
für die Biobeständigkeit“

II Abschlußbericht zur Studie „Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern in vivo und in vitro und Entwicklung von Beurteilungskriterien für die Biobeständigkeit“

H. Muhle, K. Sebastian, B. Bellmann, T. Böhm

Zusammenfassung

In der Technischen Regel für Gefahrstoffe „Verzeichnis krebserzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe“ (TRGS 905) [10] sind künstliche glasige Mineralfasern (KMF) innerhalb eines bestimmten Bereichs von Längen und Durchmessern (sog. WHO-Fasern) und in Abhängigkeit von chemischen Zusammensetzungen in die Kategorien 2 oder 3 nach Anhang I Nr. 1.4.2.1 der Gefahrstoffverordnung (GefStoffV) [18] als krebserzeugend eingestuft. Als weiteres Kriterium für eine Einstufung wird die Biobeständigkeit genannt, allerdings ohne konkrete Angabe von Grenzwerten für eine Differenzierung zwischen den Kategorien 2, 3 oder „keine Einstufung als krebserzeugend“. Die unzureichende Standardisierung von Methoden zur Bestimmung der Biopersistenz war der Anlaß für das Projekt „Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern in vivo und in vitro und Entwicklung von Beurteilungskriterien für die Biobeständigkeit“.

Ziel dieses Projektes war eine Erarbeitung von Standardmethoden zur Bestimmung der Biopersistenz von KMF. Die Bewertungskriterien bezüglich Biobeständigkeit im Organismus hängen von einer Reihe von Versuchsbedingungen ab, z.B. Art der Behandlung von Versuchstieren, Inhalation oder intratracheale

Instillation, retinierte Fasermasse, Faserlängen- und -dickenverteilung, Fasertypus, Dauer der Exposition der Versuchstiere gegenüber Fasern, so daß die aus der Literatur vorliegenden Daten nur eingeschränkt untereinander vergleichbar sind. Darüber hinaus sollte das Auflösungsverhalten von Fasern in physiologischen Modellflüssigkeiten („in vitro“) an bereits in vivo geprüften Mineralfasern untersucht werden.

In-vivo-Untersuchungen

Inhalation

Geprüft wurden die experimentelle Glasfaser B-01-0.9, die Steinwolle MMVF 21 und die Keramikfaser RCF 1. Weibliche Wistar-Ratten wurden in „Nose-only“-Röhren an sechs Stunden pro Tag für eine bzw. drei Wochen gegenüber dem Faserstaub exponiert. Für die einwöchige Exposition betrug die Aerosolkonzentration 30 mg/m^3 , für die dreiwöchige 40 mg/m^3 . Die Keramikfaser RCF 1 wurde nur für eine Versuchsgruppe mit der hohen Aerosolkonzentration eingesetzt. Als Referenzmaterial wurden Glaskugeln verwendet. Alle eingesetzten Stäube lagen in einer Größenfraktion vor, die für Ratten weitgehend inhalierbar war. Nach Expositionsende wurden die Versuchstiere bis zu einem Jahr in gefilterter Luft gehalten und die Lungen der in be-

II Abschlußbericht zur Studie

„Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern
in vivo und in vitro
und Entwicklung von Beurteilungskriterien
für die Biobeständigkeit“

stimmten Zeitabständen getöteten Tiere
herauspräpariert und schonend verascht.

Anhand von rasterelektronenmikroskopi-
schen Aufnahmen wurden die retinierten
Faserzahlen und die bivariate Größen-
verteilung zu jedem Untersuchungszeit-
raum bestimmt. Die Halbwertszeiten der
Faserelimination für Fasern mit einer
Länge $> 5 \mu\text{m}$ betragen (Expositions-
dauer) 23 Tage (B-01-0.9, eine Woche),
33 Tage (B-01-0.9, drei Wochen),
103 Tage (RCF 1, drei Wochen),
82 Tage (MMVF 21, eine Woche) und
96 Tage (MMVF 21, drei Wochen).

Die mit radioaktiven Partikeln gemessene
Lungenreinigung, die durch Makrophagen
vermittelt wird, war nach dreiwöchiger
Exposition gegenüber 40 mg/m^3
Keramikfasern RCF 1 und Steinwolle
MMVF 21 verlangsamt. In diesen beiden
Versuchsgruppen waren entzündliche
Reaktionen und interstitielle Fibrosen
signifikant erhöht.

Intratracheale Instillation

Geprüft wurden eine Zementwolle (Zet-
wool), Glaswolle C, Steinwolle HT 7
und drei Proben, die einen dickeren Fa-
serdurchmesser aufwiesen, aber für den
Menschen noch inhalierbar waren, und
zwar die Glaswolle CS*, die Stein-
wolle HT 7* und die Glaswolle TL*. Die
Applikation bei weiblichen Wistar-Ratten

erfolgte an vier aufeinanderfolgenden
Tagen durch viermalige intratracheale
Instillation von je 0,5 mg Fasermaterial,
suspendiert in je 0,3 ml einer physiologi-
schen Kochsalzlösung. Bei der Zement-
wolle wurde eine gepufferte Lösung ver-
wendet.

Nach seriellen Sektionen der Ratten, die
im Verlauf einer Untersuchungsperiode
von bis zu sechs Monaten nach Behand-
lung der Versuchstiere durchgeführt wur-
den, wurden die noch in der Lunge
präsenen Fasern nach einem schonen-
den Aufschluß der Lunge untersucht.

Die Fasern wurden im Elektronenmikro-
skop ausgezählt und die bivariate Grö-
ßenverteilung analysiert. Als Kenngröße
für die Kinetik des Abtransports der Fa-
sern wurden Halbwertszeiten bestimmt.

Die Halbwertszeiten für Fasern mit einer
Länge $> 5 \mu\text{m}$ betragen in Tagen 82
{Zementwolle}, 28 {Glaswolle C}, 64
{Steinwolle HT 7}, 37 {Glaswolle CS*},
141 {Glaswolle TL*}. Für die dickere
Fraktion der Prüfsubstanz HT 7* ließ sich
vermutlich wegen einer in der Lunge auf-
getretenen Agglomeratbildung keine
Halbwertszeit ermitteln.

Intraperitoneale Injektion

Geprüft wurden die Steinwolle MMVF 21,
Schlackenwolle MMVF 22, Glaswolle

MMVF 11, Keramikfaser RCF 1 und die Glasfaser B-01-0.9. Pro Ratte wurden 10 mg der Prüfsubstanz in 2 ml einer physiologischen Kochsalzlösung suspendiert und einmalig unter Halothan-narkose intraperitoneal injiziert.

Nach seriellen Sektionen der Ratten bis zu einem Zeitraum von zwölf Monaten nach der Behandlung wurde das Große Netz (Omentum maius) der Versuchstiere isoliert, schonend verascht und die Faserzahl im Raster-Elektronenmikroskop bestimmt. Die Halbwertszeit der Faserelimination entsprach in etwa der nach intratrachealer Instillation. Diese Daten lagen aus früheren Untersuchungen vor.

In-vitro-Untersuchungen

Im In-vitro-Versuch wurden die Faserproben Wollastonit, Glasfaser B-01-0.9, Glaswolle C, Steinwolle HT 7, Keramikfaser RCF 1, Glaswolle MMVF 11 sowie Zetwool untersucht. Für diese Faserproben liegen Untersuchungen zur In-vivo-Beständigkeit vor. Die Versuche wurden bei pH 7,5 (Modell für extrazelluläre physiologische Lösungen) und pH 4,5 (Modell für den pH-Wert in den Lysosomen von Makrophagen) durchgeführt. Die eingestellten Verhältnisse von Durchflußrate zu Faseroberfläche (F/A-Verhältnisse) betragen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$. Die Faserproben zeigten je

nach Zusammensetzungstyp und pH-Wert erheblich unterschiedliche Auflösungsgeschwindigkeiten. Für pH 4,5 ergab sich die folgende Reihenfolge:

Zetwool > HT 7 >> Wollastonit >> Glaswolle C > Glasfaser B-01-0.9 \approx RCF 1 >> MMVF 11

und für pH 7,5:

Glasfaser B-01-0.9 \geq Glaswolle C > Wollastonit \geq MMVF 11 >> HT 7 > Zetwool \approx RCF 1

Die Ergebnisse zur Auflösungsgeschwindigkeit in vitro wurden mit In-vivo-Untersuchungen nach intratrachealer Instillation verglichen. Für amorphe silicatische Fasern mußten dabei die Durchmesser der Fasern sowie die Auflösungsgeschwindigkeiten bei beiden pH-Werten in unterschiedlicher Gewichtung (pH 4,5: 11 %; pH 7,5: 89 %) berücksichtigt werden. Bei Wollastonit, einem kristallinen Material, sowie für die Zetwool, die sich in Kontakt mit Wasser chemisch umwandelt, ergab sich keine sinnvolle Korrelation.

Schlußfolgerungen aus diesen Untersuchungen

Die Ergebnisse zeigen, daß die Versuchsmethoden zur Bestimmung der Biopersistenz von Fasern sowohl nach inhalativer als auch nach intratrachealer

II Abschlußbericht zur Studie „Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern in vivo und in vitro und Entwicklung von Beurteilungskriterien für die Biobeständigkeit“

Applikation von Fasern inhärente Schwächen aufweisen, die die Aussagekraft einschränken können. Diese „Schwächen“ werden in den nachfolgenden Absätzen genannt. Trotzdem liefert vor allem die Methode nach intratrachealer Instillation relativ konsistente Daten, so daß die resultierenden Ergebnisse für Regulationszwecke eingesetzt werden können.

Nach kurzzeitiger inhalativer Exposition liegt bei der beobachteten Clearance von Fasern eine zeitliche Überlagerung zwischen einer Faserauflösung und dem Transport intakter Fasern vor, z.B. durch physikalischen Abtransport durch Makrophagen und mucoziläre Clearance. Für einen Vergleich der In-vitro-Beständigkeit von Mineralfasern mit den aus dem Tierversuch gewonnenen Daten zum Abtransport von Fasern sollte der Abtransport intakter Fasern jedoch minimal sein, da sich sonst keine sinnvolle Korrelation ergeben kann. Genauere Kenntnisse über die Depositionswahrscheinlichkeiten in den verschiedenen Abschnitten des Respirationstraktes und die Kinetik des physikalischen Abtransports (in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren wie z.B. Fasermasse und Fasergeometrie) könnten in Zukunft zu einer genaueren Differenzierung beitragen.

Nach intratrachealer Instillation von gesichteten ratteninhalierbaren Fasern ist

unter den gewählten experimentellen Bedingungen der physikalische Abtransport intakter Fasern wesentlich geringer ausgeprägt als nach Kurzzeitinhalation. Dies ist ein erheblicher Vorteil des Versuchsmodells nach intratrachealer Applikation, da das Akkumulationsverhalten von Fasern beim Menschen vor allem durch die Auflösung bestimmt wird. Es ist jedoch noch nicht ausreichend untersucht, inwieweit die entzündlichen Reaktionen bei einer hohen Lungenbelastung mit Fasern die Faserauflösung in der Lunge beeinflussen. Analoge Probleme könnten aber auch bei chronischen Inhalationsexperimenten mit wenig löslichen Fasern auftreten, da auch dann die retinierte Fasermasse im gleichen Bereich von 2 mg oder höher liegen kann. Bei der intratrachealen Instillation langer Fasern „inhalierbar für den Menschen“ besteht die Gefahr einer ungleichmäßigen Verteilung und einer Agglomeratbildung von Fasern in der Lunge.

Die neuentwickelten Fasern (Zetwool, Glaswolle C und Steinwolle HT 7) zeigen deutlich geringere Halbwertszeiten als herkömmliche Mineralfasern.

Eine Regressionsanalyse der Halbwertszeiten unter Einschluß früherer Untersuchungen des Fraunhofer-Instituts für Toxikologie und Aerosolforschung

(Fraunhofer ITA) liefert für KMF eine relativ gute Korrelation mit dem Kanzerogenitätsindex KI nach TRGS 905. Bestimmte Steinwoll- und Keramikfasern passen weniger gut zu der Korrelationsgeraden. Für Mineralfasern mit einem KI-Wert ≥ 40 wurden Halbwertszeiten < 30 Tage gefunden.

Eine Gegenüberstellung der Halbwertszeiten nach inhalativer und intratrachealer Applikation unter Heranziehung publizierter Daten zeigt, daß die Korrelation mit der Faserfraktion Länge $> 20 \mu\text{m}$ deutlich besser ist als bei Fasern mit einer Länge $> 5 \mu\text{m}$. Das hängt wahrscheinlich damit zusammen, daß die Makrophagenvermittelte Clearance bei den Fasern länger $20 \mu\text{m}$ keine wesentliche Rolle mehr spielt. Würde man den Kurzzeitinhalationstest als das alleinige Kriterium für die Bestimmung der Biopersistenz heranziehen, würden die Fasern mit einer Länge zwischen 5 und $20 \mu\text{m}$ nicht berücksichtigt, weil bisher noch keine Korrektur für den relativ schnellen physikalischen Abtransport dieser Faserfraktion bei der Ratte nach Kurzzeitinhalation möglich ist. Dieser Aspekt spricht daher für die Verwendung eines Tests nach intratrachealer Instillation, da der physikalische Abtransport von ungelösten Fasern wesentlich geringer ist.

Das relativ gute Übereinstimmen der Halbwertszeiten nach intraperitonealer Injektion (i.p. Inj.) und intratrachealer Instillation (i.tr. Inst.) zeigt an, daß in beiden Fällen das „Verschwinden“ von Fasern im wesentlichen durch die Auflösung von Fasern bestimmt wird, da im Fall der intraperitonealen Injektion kein Abtransport über die Luftröhre stattfindet.

Die Bedeutung der Untersuchungen nach intraperitonealer Injektion von Fasern liegt insbesondere darin, daß die Kanzerogenität von Fasern vor allem in diesem Versuchsmodell getestet wurde und diese Ergebnisse in der TRGS 905 für die Einstufung von Fasern verwendet wurden. Durch den nunmehr vorliegenden Vergleich der Biopersistenz in verschiedenen Kompartimenten des Körpers konnte die bisher erfolgte Einstufung abgesichert werden.

Zum Vergleich mit der Auflösungs geschwindigkeit in physiologischen Flüssigkeiten wurden die Kinetikdaten nach intratrachealer Instillation herangezogen, da unter den gewählten Versuchsmethoden der physikalische Abtransport intakter Fasern minimal ist.

Die Ergebnisse nach intratrachealer Applikation zeigen für die Glaswollen C und TL keinen wesentlichen Einfluß der Faserdicke auf die Halbwertszeit der

II Abschlußbericht zur Studie „Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern in vivo und in vitro und Entwicklung von Beurteilungskriterien für die Biobeständigkeit“

Faserclearance. Eine mögliche Erklärung ist, daß dickere Fasern nur zu einem geringeren Anteil von alveolären Makrophagen phagozytiert werden und somit ein größerer Anteil einem neutralen pH-Milieu ausgesetzt ist. Verschiedene Untersuchungen in vitro zeigen, daß Fasern vom Typ Alkali-Erdalkali-Silicate bei einem neutralen pH-Wert eine höhere Löslichkeit aufweisen als bei saurem pH-Wert, der in den Phagolysosomen der Makrophagen vorliegt. Weiterhin ist möglich, daß bei phagozytierten Fasern, die von lipidhaltigen Zellmembranen umgeben sind, der Abtransport gelöster Ionen im Vergleich zum außerzellulären Milieu verlangsamt ist. Auf der anderen Seite beinhaltet der physikalisch-chemische Ansatz, daß die Auflösung einer Faser von der Dicke abhängt. Aus der obigen Betrachtung der In-vivo-Auflösung stehen beide Ansätze jedoch nicht im Widerspruch.

Eine Regressionsanalyse zeigte, daß eine Korrelation der Ergebnisse der *intratrachealen Instillation* und der In-vitro-Untersuchungen unter der Annahme einer Gewichtung der Auflösungs-geschwindigkeiten bei pH 7,5 mit $89 \pm 2 \%$ und bei pH 4,5 mit $11 \pm 2 \%$ am besten möglich war. Dabei erwies sich ein niedriges F/A-Verhältnis von $0,003 \mu\text{m/s}$ als günstigste Versuchsbedingung zum Abgleich mit den In-vivo-Daten.

Das In-vitro-Versuchsmodell erscheint bereits jetzt zum Einsatz als Screening-Test für glasige Fasern geeignet. Zur Optimierung des quantitativen Vergleiches mit den Daten der intratrachealen Instillation wird noch eine größere Datenmenge benötigt. Weiterer Forschungsbedarf besteht bezüglich der Optimierung der Vergleichslösungen, besonders beim niedrigen pH-Wert, und des einzu-stellenden F/A-Verhältnisses.

Schlußfolgerungen auf der Basis von Literaturdaten

Es liegt eine Reihe von Publikationen zur Untersuchung der Biopersistenz von künstlichen Mineralfasern nach fünftägiger inhalativer Applikation vor [19 - 24]. Bei diesen Untersuchungen wurde in den letzten Jahren die Methodik fortentwickelt, z.B. im Hinblick auf die ausgewertete Zahl der retinierten Fasern in der Lunge, der statistischen Methode der Berechnungen der Halbwertszeiten der Faserretention und der Berücksichtigung verschiedener Faserlängenfraktionen bei der Halbwertszeit der Clearance. Diese Weiterentwicklungen sind in einem Entwurf der Europäischen Kommission (European Chemicals Bureau, Ispra, Italien) niedergelegt. In analoger Weise wurde auch die Methode nach intratrachealer Applikation einer Suspension

von Mineralfasern als Standardtestmethode vorgeschlagen.

Bernstein et al. [21] kommen zum Schluß, daß nur Retentionsdaten für Fasern mit einer Länge von $> 20 \mu\text{m}$ für Regulationszwecke geeignet sind. Für diese Faserlängenfraktion bekommen die Autoren eine gute Korrelation mit In-vitro-Untersuchungen bei pH 7,4 (Korrelationskoeffizient $r = 0,97$).

Die Korrelation der In-vivo-Biopersistenz nach Inhalation für Fasern $> 20 \mu\text{m}$ mit In-vitro-Untersuchungen allein bei pH 7,4 ist verschieden von dem Befund, der in diesem Projekt beobachtet wurde. Es zeigte sich, daß die Berücksichtigung von zwei verschiedenen pH-Werten zu einer Verbesserung der Korrelation von In-vivo- und In-vitro-Daten führt. Ob dieser Befund im Widerspruch zu den Ergebnissen von Bernstein et al. [21] steht oder ob sie durch unterschiedliche Versuchsmethoden (z.B. Berücksichtigung von Fasern $> 5 \mu\text{m}$ und intratracheale Instillation in diesem vorliegenden Projekt) bedingt sind, läßt sich zur Zeit nicht sagen.

Würde man den Kurzzeitinhalationstest als das alleinige Kriterium für die Bestimmung der Biopersistenz heranziehen, würden die Fasern mit einer Länge zwischen 5 und $20 \mu\text{m}$ nicht berücksichtigt, weil bisher noch keine Korrektur für den

relativ schnellen physikalischen Abtransport dieser Faserfraktion bei der Ratte nach Kurzzeitinhalation möglich ist. Üblich ist jedoch, für Regulationszwecke von Fasern eine Längenfraktion $> 5 \mu\text{m}$ zu verwenden, da es eine Vielzahl von Hinweisen gibt, daß für die Beurteilung der Kanzerogenität diese Fraktion von Bedeutung ist.

Umsetzungsmöglichkeit

In der TRGS 905 sind künstliche glasige Mineralfasern (KMF) innerhalb eines bestimmten Bereichs von Längen und Durchmessern (sog. WHO-Fasern) und eines bestimmten Bereichs von chemischen Zusammensetzungen in die Kategorien 2 oder 3 des Anhangs I Nr. 1.4.2.1 GefStoffV als krebserzeugend eingestuft. Als weiteres Kriterium für eine Einstufung wird die Biobeständigkeit genannt, allerdings ohne konkrete Angabe von Grenzwerten für eine Differenzierung zwischen den Kategorien 2, 3 oder „keine Einstufung als krebserzeugend“. Der Grund war eine unzureichende Standardisierung von Methoden zur Bestimmung der Biobeständigkeit.

Auf der Basis der vorliegenden Werte und der von anderen Arbeitsgruppen durchgeführten Untersuchungen ist es nunmehr möglich, eine Korrelation zwischen Biopersistenz und tierexperimen-

II Abschlußbericht zur Studie „Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern in vivo und in vitro und Entwicklung von Beurteilungskriterien für die Biobeständigkeit“

tellen Ergebnissen zur Kanzerogenität durchzuführen. Die Methode nach intratrachealer Instillation liefert in der Regel relativ konsistente Daten, so daß die resultierenden Ergebnisse für Regulationszwecke eingesetzt werden können.

Da es sich bei der Bestimmung der Biopersistenz von Mineralfasern (nach inha-

lativer oder intratrachealer Applikation) um eine Methode handelt, die von einer Reihe von Randparametern abhängt, die in unterschiedlichem Maße das Versuchsergebnis beeinflussen können, sollte immer eine Überprüfung der Validität der Ergebnisse durch eine Heranziehung aller zu dieser Faser vorliegenden Daten erfolgen.

1 Einleitung

Die Biobeständigkeit von künstlichen Mineralfasern stellt eine wesentliche Größe zur Charakterisierung ihres Gefahrenpotentials dar. Eine Vielzahl von intraperitonealen Kanzerogenitätsstudien bei der Ratte mit unterschiedlich beständigen Fasern zeigt, daß neben der Fasergröße auch die Biobeständigkeit mit der krebserzeugenden Potenz dieser Fasern positiv korreliert. Bisher fehlen allerdings Meßmethoden für die direkte Bestimmung der Beständigkeit von Fasern an den verschiedenen Orten in der Lunge, an denen sie sich mehr oder weniger lange aufhalten können: in der Schleimschicht auf den mit Flimmerhärcchen versehenen Bronchien und Bronchiolen der Bronchialschleimhaut, in den Endverzweigungen der Atemwege, in Alveolarmakrophagen und schließlich im Gewebe zwischen den Alveolen. Meßbar sind nur die Faserkonzentrationen in der Rattenlunge zu verschiedenen Zeiten nach einer Verabreichung von Fasern durch Inhalation oder Einträufelung (Instillation) einer Fasersuspension in die Luftröhre. Mit solchen Meßdaten aus der Gesamtlunge, ohne z.B. zwischen Bronchien und Alveolen differenzieren zu können, läßt sich die mittlere Verweildauer der Fasern in der Lunge berechnen. Diese Verweildauer — die Biopersistenz — wird in der Regel als Halbwertszeit dargestellt. Aus den Biopersistenzdaten kann die Biobeständigkeit

unter Berücksichtigung weiterer Einflußfaktoren interpretiert werden. Wichtige Einflußfaktoren bei einem Vergleich von Persistenzdaten im Hinblick auf die Biobeständigkeit sind unterschiedliche Fasergrößen und die physiologische Lungenreinigung von nicht aufgelösten Fasern. Diese Einflußgrößen spielen bei der Extrapolation auf den Menschen eine zusätzliche Rolle, weil sich das Depositions- und Eliminationsverhalten von Partikeln zwischen Mensch und Ratte stark unterscheidet.

Da die Begriffe Biobeständigkeit und Biopersistenz häufig fälschlicherweise synonym verwendet werden, folgt noch einmal eine kurze Erläuterung:

□ **Biobeständigkeit** (festgelegt durch die Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit im Gewebe) ist die Materialeigenschaft eines Fasertyps. Für sehr kleine nicht-faserige Partikeln mit Durchmessern unter $1\ \mu\text{m}$ gibt es Hinweise, daß die Auflösungsgeschwindigkeit in Makrophagen bei bestimmten chemischen Zusammensetzungen wegen des niedrigen pH-Werts in Lysosomen größer ist als außerhalb von Makrophagen. Inwieweit dieses Phänomen auch bei Fasern mit mehr als $5\ \mu\text{m}$ Länge eine Rolle spielt, ist nicht bekannt. Bisher wird davon ausgegangen, daß die Biobeständigkeit von Fasern in der Lunge von Mensch und Ratte gleich ist.

1 Einleitung

□ **Biopersistenz** ist die Verweildauer von Fasern in der Lunge. Sie ergibt sich aus der Materialeigenschaft Biobeständigkeit und aus weiteren, von den jeweiligen Umständen abhängigen Faktoren. Eine lange persistierende Faser muß eine entsprechend hohe Biobeständigkeit besitzen, aber eine biobeständige Faser persistiert unter Umständen nur kurze Zeit, wenn sie die Lunge durch den physiologischen Abtransport (Clearance) bald wieder verläßt. Diese physiologische Lungenreinigung verläuft bei der Ratte viel schneller als beim Menschen und erschwert daher den Rückschluß auf die Biobeständigkeit.

Ziel des Projektes

Ziel dieses Projekts war eine Erarbeitung von Standardmethoden zur Bestimmung der Biopersistenz mineralischer Fasern. Die Bewertungskriterien bezüglich Faserpersistenz im Organismus hängen von einer Reihe von Versuchsbedingungen ab (z.B. Art der Behandlung von Versuchstieren — Inhalation oder intratracheale Instillation —, retinierte Faser- masse, Faserlängen- und -dickenverteilung, Fasertypus, Dauer der Exposition der Versuchstiere gegenüber Fasern), so daß die vorliegenden Daten aus der Literatur nur eingeschränkt vergleichbar sind. Darüber hinaus sollte das Auflösungsverhalten von Fasern in physiologischen

Modellflüssigkeiten („in vitro“) an bereits in vivo geprüften Mineralfasern untersucht werden. Diese so gewonnenen Erkenntnisse sollen dazu dienen, Kenngrößen für eine Quantifizierung der Biobeständigkeit in der Technischen Regel für Gefahrstoffe (TRGS 905) [10] einzuführen. Auf diese Weise können Fasern bezüglich ihres kanzerogenen Potentials differenziert werden. Durch die Standardisierung möglichst einfacher und schneller Untersuchungsmethoden soll die Entdeckung eines gesundheitsgefährdenden Potentials von Mineralfasern, die schon auf dem Markt sind oder neu entwickelt werden, beschleunigt werden. Ein weiteres Ziel war, die In-vitro-Methoden so weit zu entwickeln, daß Tierversuche zur Beurteilung des kanzerogenen Potentials von Fasern eingeschränkt werden können.

Kurzbeschreibung des Projektes

Im Rahmen des Projektes wurden identische Faserproben nach Inhalation, intratrachealer Instillation, intraperitonealer Injektion und in physiologischen Modellflüssigkeiten untersucht. Aus früheren Projekten lagen Teilergebnisse zu einzelnen Faserproben vor, die aber noch keinen systematischen Vergleich erlaubten. Die Untersuchungen haben diese bisher mehr inselartig vorliegenden Ergebnisse verknüpft.

Teilprojekt In-vivo-Untersuchungen

Nach *inhalativer Applikation* an Ratten wurden eine gut lösliche Glasfaser und je eine relativ schwer lösliche Steinwoll- und Keramikfaser untersucht. Als Referenzmaterial wurden Glaskugeln verwendet. Alle eingesetzten Stäube lagen in einer Größenfraktion vor, die für Ratten weitgehend inhalierbar war. Nach Expositionsende (max. drei Wochen) wurden die Versuchstiere bis zu einem Jahr in gefilterter Luft gehalten und die Lungen der in bestimmten Zeitabständen getöteten Tiere herauspräpariert und schonend verascht. Anhand von raster-elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden die Anzahl und die bivariate Größenverteilung der in den Lungen retierten Fasern zu jedem Untersuchungszeitraum bestimmt. Es wurden Halbwertszeiten der Faser clearance für Fasern verschiedener Längenfraktionen ermittelt.

Eine viermalige *intratracheale Instillation* wurde bei Ratten mit sechs verschiedenen Faserproben durchgeführt, die zuvor mittels technischer Prozesse in spezifischen Größenverteilungen hergestellt worden waren. Nach seriellen Sektionen der Ratten, die im Verlauf einer Untersuchungsperiode von bis zu sechs Monaten nach Behandlung der Versuchstiere durchgeführt wurden, wurden die noch in der Lunge präsenten Fasern

nach einem schonenden Gewebeaufschluß der Lunge untersucht. Die Fasern wurden im Elektronenmikroskop gezählt und die bivariate Größenverteilung analysiert. Als Kenngröße für die Kinetik des Abtransports der Fasern wurden Halbwertszeiten bestimmt.

Analoge Untersuchungen wurden nach *intrapitonealer Injektion* von fünf Faserproben durchgeführt. Nach seriellen Sektionen der Ratten bis zu einem Zeitraum nach zwölf Monaten der Behandlung wurde das Große Netz (Omentum maius) der Versuchstiere isoliert, schonend verascht und die Faserzahl im Raster-Elektronenmikroskop bestimmt. Die Halbwertszeit der Faserelimination entsprach in etwa der nach intratrachealer Instillation. Diese Daten lagen aus früheren Untersuchungen vor.

Teilprojekt In-vitro-Untersuchungen

Das Auflösungsverhalten in physiologischen Modellflüssigkeiten (In-vitro-Versuch) wurde an sieben Faserproben untersucht. Für diese Materialien lagen Untersuchungen zur In-vivo-Beständigkeit vor. Die Versuche wurden bei pH 7,5 (Modell für extrazelluläre physiologische Lösungen) und pH 4,5 (Modell für den pH-Wert in den Lysosomen von Makrophagen) durchgeführt. Es wurden drei verschiedene Verhältnisse von

Durchflußrate zu Faseroberfläche (F/A-Verhältnisse) gewählt. Die Faserproben zeigten je nach Zusammensetzungstyp und pH-Wert erheblich unterschiedliche Auflösungsgeschwindigkeiten.

Die Ergebnisse zur Auflösungsgeschwindigkeit *in vitro* wurden mit *In-vivo*-Untersuchungen nach intratrachealer Instillation verglichen. Dabei mußten die Durchmesser der Fasern sowie die Auflösungsgeschwindigkeiten bei beiden pH-Werten in unterschiedlicher Gewichtung berücksichtigt werden.

1.1 Problemstellung des Gesamtprojektes

Die Produktionsmenge künstlicher Mineralfasern (KMF) beträgt in Deutschland zur Zeit etwa 500 000 t/Jahr. Der größte Anteil wird zur Wärmedämmung eingesetzt. Teilweise dienen diese Fasern auch als Ersatzstoffe für früher verwendete Asbestfasern. Beim Umgang mit KMF können inhalierbare Faserstäube freigesetzt werden. Die Zahl der exponierten Arbeiter bei Produktion und Verwendung dieser Fasern beträgt ca. 500 000 (Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit — BIA) [25].

Die Erkennung einer möglichen Kanzerogenität von künstlichen Mineralfasern ist schwierig:

Epidemiologische Untersuchungen zur Klärung dieser Frage sind relativ unempfindlich, da die Basisrate für Lungentumoren relativ hoch ist, z.B. bedingt durch das Rauchen von Zigaretten.

Bei der Ratte findet man im Inhalationsversuch sogar mit Asbest erst bei sehr hohen Konzentrationen Lungentumoren.

In dem relativ empfindlichen Versuchsmodell nach intraperitonealer Injektion bei Ratten wurden in der Regel Mesotheliome beobachtet, falls folgende Bedingungen erfüllt waren:

Faserlänge ausreichend groß ($>5 \mu\text{m}$)

Faserdicke gering ($<3 \mu\text{m}$)

Dosis im Bereich von 10^7 bis 10^9 Fasern der oben genannten Abmessungen

Fasern ausreichend beständig (z.B. Halbwertszeit $T_{1/2} > 80$ Tage nach intratrachealer Instillation)

Deshalb ergibt sich die Frage, ob Mineralfasern nach Inhalation beim Menschen eine qualitativ gleiche Wirkung wie Asbest haben können. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Faserlänge von luftgetragenen Mineralfasern am Arbeitsplatz größer ist als bei Asbestfasern (Messungen des BIA) [25].

Die mittlere Faserdicke von Mineralwollen, der nach Produktionsmenge mit Abstand größten Gruppe der KMF, ist häufig größer als $3 \mu\text{m}$. Die Fasern besitzen aber ein breites Dickenspektrum und enthalten einen — wenn auch massenmäßig geringen — Anteil an Fasern mit Durchmessern $< 3 \mu\text{m}$. An typischen Arbeitsplätzen der Mineralwollindustrie und auch im Anwendungsbereich findet man in der Atemluft mittlere Faserdicken von etwa $1 \mu\text{m}$, weil die dickeren Fasern, die im Ausgangsprodukt vorherrschen, durch Sedimentation relativ schnell verschwinden.

Es bestand ein Mangel an parallel durchgeführten Untersuchungen mit identischen Faserproben bezüglich Kanzerogenität, Biopersistenz nach verschiedenen Applikationsarten (Inhalation, intratracheale Instillation, intraperitoneale Injektion) und zum Auflösungsverhalten in physiologischen Modellflüssigkeiten (In-vitro-Untersuchung). Ein Vergleich verschiedener Untersuchungsbedingungen und Meßmethoden war deshalb bisher nur bedingt möglich. Eine quantitative Angabe der Biobeständigkeit von Fasern ist von einer Reihe von Bedingungen abhängig (z.B. retinierte Fasermasse in der Lunge und Fasergeometrie). Das vorliegende Projekt zielte darauf ab, die bisher teilweise inselartigen Untersuchungen so zu ergänzen, daß Standardbedingungen für zukünftige In-vivo- und

In-vitro-Untersuchungen und Bewertungskriterien zur Kanzerogenität beschrieben werden können.

In der Technischen Regel für Gefahrstoffe „Verzeichnis krebserzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe“ (TRGS 905) [10] sind KMF innerhalb eines bestimmten Bereichs von Längen und Durchmessern (sog. WHO-Fasern) und in Abhängigkeit von chemischen Zusammensetzungen in die Kategorien 2 oder 3 nach Anhang I Nr. 1.4.2.1 Gefahrstoffverordnung (GefStoffV) [18] als krebserzeugend eingestuft. Die für die Regulation relevanten Fasergrößen wurden nach einer WHO-Definition folgendermaßen festgelegt:

Länge/Durchmesser-Verhältnis $> 3/1$,
Länge $> 5 \mu\text{m}$, Durchmesser $< 3 \mu\text{m}$.

Der Bereich der chemischen Zusammensetzungen ist durch den sog. Kanzerogenitätsindex (KI) definiert; er ergibt sich aus der Differenz zwischen der Summe der Massengehalte (in %) der Oxide von Natrium, Kalium, Bor, Calcium, Magnesium, Barium und dem doppelten Massengehalt (in %) von Aluminiumoxid.

Daraus folgt die Gleichung

$$\text{KI} = \text{Oxide aus Na, K, B, Ca, Mg, Ba} \\ - 2 \cdot \text{Al-oxid}$$

Die Einstufungen gemäß KI sind folgendermaßen festgelegt:

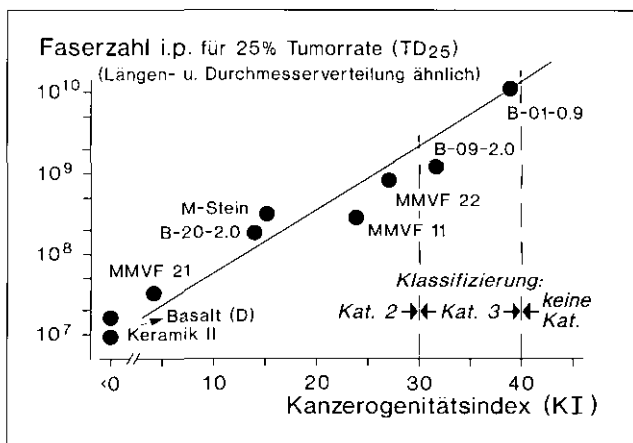
1 Einleitung

- Kategorie 2:
Fasern mit einem KI ≤ 30
- Kategorie 3:
Fasern mit einem KI > 30 bis < 40
- keine Einstufung:
Fasern mit einem KI ≥ 40

Diese Einstufung nach der chemischen Zusammensetzung von Fasern basiert auf der Assoziation von Ergebnissen aus intraperitonealen Kanzerogenitätstests an Ratten mit KMF-Proben ähnlicher Größenverteilung und deren chemischer Zusammensetzung. Diese Beziehungen veranschaulicht Abbildung 3. Eine Erklärung für diese Assoziation ergibt sich aus der unterschiedlichen Faserbeständigkeit im Gewebe. Mit der Auf-

lösung oder dem Zerfall der Fasern endet der kanzerogene Reiz. Mit der Abnahme der Beständigkeit einer Faserprobe im biologischen Milieu sinkt die Wahrscheinlichkeit, daß während ihrer Verweildauer im Körper Zellen in einer Weise verändert werden, daß sie auch ohne weitere Anwesenheit von Fasern schließlich zur Tumorbildung führen. Mit dieser Arbeitshypothese wurden zahlreiche intraperitoneale Kanzerogenitätstests unterschiedlich beständiger glasiger Fasern durchgeführt und aus den Ergebnissen der KI abgeleitet. Aus Abbildung 3 geht auch hervor, daß in Fällen mit negativen KI-Werten keine weitere Differenzierung der kanzerogenen Potenz zu erwarten ist.

Abbildung 3:
Assoziation zwischen Kanzerogenitätsindex (KI) von glasigen Fasern und der Faserzahl, die zur Erzeugung einer Tumorfähigkeit von 25 % im Intra-peritonealtest nötig ist (Daten weitgehend aus *Roller et al.* [26]; Berechnung der TD_{25} in *Pott et al.* [27])



Die Anwendung des KI soll prinzipiell Tierversuche, soweit sinnvoll, reduzieren, aber auch die Zeit und den Aufwand für Kanzerogenitätsversuche sparen. Da jedoch — wie exemplarisch im Tierversuch (Intratrachealtest) gezeigt — die Biobeständigkeit offensichtlich nicht bei jedem Fasertyp durch den KI mit hinreichender Zuverlässigkeit ermittelt werden kann, ist in der TRGS 905 neben dem intraperitonealen Kanzerogenitätstest z.B. auch die Möglichkeit erwähnt, daß ein Faserhersteller geeignete Daten vorlegt, die eine geringe Biobeständigkeit belegen, und die zu einer anderen Einstufung führen als der KI. Da jedoch zur Zeit der Verabschiedung der TRGS 905 noch kein ausge-reiftes Testverfahren vorlag, mit dem die Biopersistenz geprüft werden sollte, konnte auch noch kein Maßstab mit Grenzwerten für eine Einstufung in Kategorie 2 oder 3 oder für eine Nicht-Einstufung angegeben werden. Diese Lücke sollte mit dem vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie (BMBF) gemeinsam mit dem Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften (HVBG) geförderten Projekt geschlossen werden. Da die Auflösungs- oder Zerfallsgeschwindigkeit von KMF dort, wo Fasern die Entstehung von Tumorzellen induzieren, nicht direkt gemessen werden kann, wurden verschiedene Versuchsmodelle

entwickelt, aus deren Testergebnissen die Auflösungs- oder Zerfallsgeschwindigkeit von glasigen Fasern durch Schlußfolgerungen ermittelt wird. Dabei handelt es sich um In-vivo- und In-vitro-Modelle, die wesentlich unterschiedliche technische Voraussetzungen erfordern und infolgedessen in zwei Berichtsteilen aus zwei Instituten dargestellt werden.

Bezüglich der Meßparameter kommt das In-vitro-Modell dem Prüfziel viel näher als die Retentionsdaten von Fasern in der Lunge, weil während des In-vitro-Versuches kein mehr oder minder großer Anteil an Fasern unmeßbar verlorengeht und die Menge der gelösten Stoffe im Medium analysiert wird.

Änderungen der Fasergrößenverteilungen sind nur auf die Einwirkung der sogenannten physiologischen Flüssigkeit zurückzuführen. Die Löslichkeitsbedingungen in der Rattenlunge haben jedoch gegenüber der wäßrigen sog. physiologischen Flüssigkeit des In-vitro-Modells den Vorteil, daß in der Lunge die Gesamtheit des komplexen physiologischen Milieus vorliegt. In Ermangelung von Daten, die hier für wesentliche Unterschiede zwischen Ratte und Mensch sprechen, wird davon ausgegangen, daß die Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit von Fasern in der Ratten- und Menschenlunge — im Gegensatz

1 Einleitung

zur Lungenreinigungsgeschwindigkeit — gleich sind.

1.2 Ziel der Prüfung

Ziel dieses Projekts war eine Erarbeitung von Standardmethoden zur Bestimmung der Biopersistenz von KMF. Die Bewertungskriterien bezüglich Faserbeständigkeit im Organismus hängen von einer Reihe von Versuchsbedingungen ab, z.B. Art der Behandlung von Versuchstieren (Inhalation oder intratracheale Instillation), retinierte Fasermasse, Faserlängen- und -dickenverteilung, Fasertypus, Dauer der Exposition der Versuchstiere gegenüber Fasern, so daß die vorliegenden Daten aus der Literatur nur eingeschränkt vergleichbar sind. Darüber hinaus wurden bei Untersuchungen zum Auflösungsverhalten von Fasern in physiologischen Modellflüssigkeiten („in vitro“) in der Regel andere Materialien verwendet als bei In-vivo-Untersuchungen.

Im Rahmen des Projektes sollten parallel möglichst identische Faserproben nach Inhalation, intratrachealer Instillation, intraperitonealer Injektion und auch in vitro untersucht werden. Es sollten die Aussagefähigkeit der In-vitro-Löslichkeit im Vergleich zu der In-vivo-Beständigkeit und Kanzerogenität geprüft und die Rahmenbedingungen für Standardtests (so-

wohl in vivo als auch in vitro) festgelegt werden. Durch die Standardisierung möglichst einfacher und schneller Untersuchungsmethoden sollte die Entdeckung eines möglichen gesundheitsgefährdenden Potentials von Mineralfasern, die schon auf dem Markt sind oder neu entwickelt werden, beschleunigt werden.

Ein wesentliches Ziel war, die In-vitro-Methoden soweit zu entwickeln, daß mit ihnen die In-vivo-Methoden in dem Maße simuliert werden können, daß Tierversuche zur Beurteilung des kanzerogenen Potentials von Fasern wesentlich eingeschränkt werden können.

1.3 Lösungsweg

Innerhalb dieses Projektes wurden vier verschiedene Untersuchungsmethoden getestet:

Inhalation

Es sollten Rahmenbedingungen für Standardtests zur Untersuchung der Biopersistenz von Fasern im Organismus festgelegt werden. Dazu mußten Untersuchungen der verschiedenen in der Lunge stattfindenden Clearanceprozesse nach Faserinhalation als Grundlage dienen.

Intratracheale Applikation

Die Untersuchung der Persistenz von künstlichen Mineralfasern nach intra-

trachealer Instillation hat sich als eine Standardmethode bewährt. Verschiedene neu entwickelte Mineralfasern wurden mit dieser Methode untersucht.

Intrapertoneale Applikation
Intrapertoneale Untersuchungen hatten sich als sensitive Applikationsmethode zur Beurteilung der kanzerogenen Potenz von Fasern erwiesen. Es war zu klären, ob sich die Beständigkeit von Fasern im Bauchraum von derjenigen in der Lunge unterscheidet.

In-vitro-Löslichkeit

Es sollten die Einflußparameter pH-Wert (7,5 und 4,5) der simulierten Lungenflüssigkeit und das Durchflußrate/Faseroberflächen-Verhältnis (F/A-Verhältnis) mit verschiedenen Faserproben untersucht werden. Durch eine Korrelation mit den Biopersistenzdaten aus geeigneten In-vivo-Untersuchungen sollten die Bedingungen für einen Standardtest der In-vitro-Löslichkeit ermittelt werden.

2.1 Einführung

Wie bereits in der Problemstellung zum Gesamtprojekt beschrieben, ist in der TRGS 905 [10] die Möglichkeit erwähnt, daß eine Einstufung von glasigen künstlichen Mineralfasern (KMF) bezüglich ihrer Kanzerogenität von derjenigen abweichen kann, die sich zunächst aus der chemischen Zusammensetzung und dem daraus berechneten Kanzerogenitätsindex (KI-Wert) ergibt, wenn z.B. geeignete Daten vorgelegt werden, „die eine sehr geringe Biobeständigkeit belegen“. Mit Biobeständigkeit von Fasern ist das Bestehenbleiben der länglichen Partikelgestalt unter dem Einfluß des biologischen Milieus im Körper gemeint. Dementsprechend endet die Biobeständigkeit in dem Augenblick, in dem die Fasergestalt durch Auflösung oder Brüche (Zerfall) verschwindet. Während die Auflösung kontinuierlich mehr oder minder langsam innerhalb von Tagen, Monaten oder Jahren abläuft, geschehen Brüche plötzlich. Korrosionen oder Auslaugung von Elementen aus Fasern sind zwar Zeichen der Instabilität, werden aber im Sinne der TRGS 905 so lange nicht als Merkmale einer begrenzten Biobeständigkeit bewertet, wie die Fasergestalt noch besteht. Zur Zeit der Ausarbeitung der TRGS 905 stand dem Ausschuß für Gefahrstoffe (AGS) noch kein Maßstab für die Festlegung von Einstufungen nach der Biobeständigkeit in

die Kategorien 2 und 3 für krebserzeugende Stoffe oder für eine Nicht-Einstufung zur Verfügung. Zwar lagen zahlreiche Veröffentlichungen über experimentelle Befunde vor, die im Hinblick auf die Frage nach der Biobeständigkeit von Fasern und ihre Bedeutung für die kanzerogene Wirkungsstärke interpretiert wurden; dem gegenüber standen jedoch erhebliche Unsicherheiten, die zu klären waren:

- der grundsätzliche Mangel einer direkten Meßbarkeit der Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit von Fasern in der Lunge (messen läßt sich nur die Zahl der retinierten Fasern [Maß für die Faserpersistenz] und die Größenverteilung)
- die Unterschiede der angewandten Methoden bei der Faserverabreichung in die Rattenlunge (Inhalation und intratracheale Instillation) sowie viele experimentelle Details, die für die Prüfergebnisse wichtig sein könnten, von denen auf die Auflösungs geschwindigkeit geschlossen wird
- die Uneinigkeit über die anzuwendenden Auswertungsverfahren der erhaltenen Daten
- die Beziehungen zwischen der Biobeständigkeit von Fasern in der Lunge und im Bauchraum, also in dem Milieu, das

die deutlichsten und umfangreichsten Hinweise auf die Abhängigkeit der Faserkanzerogenität von der Faserbeständigkeit gegeben hat und dessen krebserzeugende Reaktion auf Fasern nach der TRGS 905 einstufigsrelevant ist, und — nicht weniger bedeutsam —

□ die Entwicklung von Fasertypen, mit denen im Bereich der KMF Neuland betreten wurde

Aus diesen Gründen waren weitere Untersuchungen erforderlich mit dem Ziel, Methoden und ihre Ergebnisse vergleichend gegenüberzustellen, Auswertungsverfahren zu optimieren und schließlich einen Maßstab für die Biobeständigkeit von Fasern in der Lunge zu entwickeln, mit dem zukünftig die Biobeständigkeit von Fasern beurteilt werden kann und der sich für die Festlegung von Grenzwerten für eine regulatorische Bewertung eignet.

Ein methodisch prinzipiell nicht zu lösender Teil der Problematik ist der Mangel, daß die Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit von Fasern in der Lunge nicht gemessen, sondern nur durch Interpretationen aus den Halbwertszeiten von Retentionsdaten erschlossen werden kann. Diese Halbwertszeiten werden als Maß der Biopersistenz von Fasern verwendet. Hierbei wird aber meist nicht deutlich gemacht, daß ein grundsätz-

licher Unterschied zwischen Biobeständigkeit und Persistenz besteht, so daß Biobeständigkeit und Persistenz häufig fälschlicherweise synonym verwendet werden. Daher sei hervorgehoben:

□ *Biobeständigkeit* (gleichbedeutend mit Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit) ist die Materialeigenschaft eines Fasertyps. Es wird davon ausgegangen, daß sie in der Lunge von Ratte und Mensch gleich ist.

□ *Biopersistenz* ist eine von den jeweiligen vielfältigen Umständen abhängige biologische Größe, in die die Materialeigenschaft Biobeständigkeit mit eingeht, denn eine über lange Zeit persistierende Faser muß beständig sein. Die Biopersistenz eines Fasertyps beschreibt die Persistenz (das Verbleiben) der applizierten Fasern in der Lunge und wird durch eine Analyse der in der Lunge zu verschiedenen Zeitpunkten verbliebenen Fasern gemessen. Dabei spielt neben der Biolöslichkeit der Abtransport von intakten Fasern aus der Lunge eine wichtige Rolle. Beim Vorliegen einer Eliminationskinetik 1. Ordnung kann die Biopersistenz quantitativ durch eine Halbwertszeit beschrieben werden.

Insbesondere im Inhalationsmodell werden die Halbwertszeiten durch die physiologische Lungenreinigung von ungelösten Fasern erheblich verkürzt. Außer-

dem besteht ein großer Unterschied in der Lungenreinigungsgeschwindigkeit von Partikeln zwischen Ratte und Mensch [28]. Auch dieser Faktor wirkt in die gleiche Richtung und führt zu stark verkürzten Halbwertszeiten. Das Inhalationsmodell hat darüber hinaus den Nachteil, daß dickere Fasern bei der Ratte zu einem wesentlich kleineren Anteil bis in die Alveolen vordringen als beim Menschen. Diese Nachteile sind nach intratrachealer Instillation von Fasersuspensionen deutlich kleiner, aber bei dieser Verabreichungsart entstehen leichter Entzündungen, deren Einfluß auf die Faserlöslichkeit nicht genau untersucht ist. Nach Instillation einer Fasersuspension kann beim Vorliegen langer Fasern (einzelne Fasern mit einer Länge $> 200 \mu\text{m}$) eine Agglomeratbildung von Fasern auftreten. Ob es hierdurch zu einer nennenswerten Verschlechterung der Löslichkeitsverhältnisse kommt, ist bisher nicht erwiesen. Durch die intratracheal üblicherweise instillierten Faseremengen wird die durch Makrophagen vermittelte alveoläre Lungenreinigung verlangsamt und dadurch der Abtransport intakter Fasern, der das Prüfergebn verfälscht, reduziert.

Die Einstufung von Fasern als krebserzeugend richtet sich laut TRGS 905 in erster Linie nach den Ergebnissen aus intraperitonealen Kanzerogenitätsver-

suchen. Wie erwähnt, wurde der Kanzerogenitätsindex so entwickelt, daß er mit diesen Ergebnissen gut korreliert (siehe Abbildung 3 auf Seite 42). Infolgedessen sollte man sich auch bei der Entwicklung eines Testverfahrens für die Biobeständigkeit an diesen Daten orientieren, so daß auch die Biopersistenz von Fasern im Großen Netz nach intraperitonealer Injektion einer Fasersuspension eine relevante Fragestellung bedeutet.

2.2 Material und Methoden

2.2.1 Prüfsubstanzen/Referenzsubstanz

Die Herkunft und die Behandlung der Prüfsubstanzen im Fraunhofer ITA sind in den Tabellen 1, 3 und 5 (siehe Seiten 50, 51 und 53) für die Prüfungen nach Inhalation, intratrachealer Instillation und intraperitonealer Injektion angegeben.

Als Prüfsubstanzen für den Inhalationsversuch wurden Glasfasern B-01-0.9, Steinwolle MMVF 21 und Keramikfasern RCF 1 verwendet [29, 30]. Bei der in diesem Versuch verwendeten Glasfaser B-01-0.9 handelt es sich um einen experimentellen Fasertyp, der vor etwa zehn Jahren mit dem Ziel einer geringen Biopersistenz hergestellt wurde; die Stein-

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

wolle und die Keramikfaser sind handelsübliche, aber für diesen Versuch gesichtete Proben. Als Partikelkontrolle dienen Glaskugeln mit einer

typischen Natron-Kalk-Glaszusammensetzung. Die chemische Zusammensetzung ist in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 1:
Herkunft der Prüfsubstanzen für den Inhalationsversuch

Material	Herkunft	Liefer-Datum	Behandlung im Fraunhofer ITA
Glasfaser B-01-0.9	Bayer AG (über Prof. Pott)	14.03.94	Retschmühle (0,5-mm-Sieb)
Steinwolle MMVF 21 Batch 6419-59	Mountain Technical Center	17.02.95	—
Keramikfaser RCF 1	Carborundum Co.	06.03.95 08.05.95	—
Glaskugeln (0 - 20 μm)	Dragon-Werke Georg Wild		—

Tabelle 2:
Chemische Zusammensetzung der Prüfsubstanzen für den Inhalationsversuch (Gewichtsprozent)

Material	Chemische Zusammensetzung									
	SiO ₂	Al ₂ O ₃	B ₂ O ₃	TiO ₂	FeO _x	MgO	CaO	BaO	Na ₂ O	K ₂ O
B-01-0.9	61,0		3,3		< 0,5	3,2	16,5		15,4	< 1,0
Glaskugeln	71,4	0,7		< 0,1	0,2	3,5	8,4	< 0,1	12,9	0,2
RCF 1	47,7	48,0		2,0	1,0	0,1	0,1		0,5	0,2
MMVF 21	46,0	13,0		2,8	6,3	9,2	16,8		2,8	1,2

Im Projektteil Persistenzuntersuchungen nach intratrachealer Instillation wurden verschiedene neu entwickelte Mineralfasern verwendet (siehe Tabelle 3). Die Faserproben Zetwool, Steinwolle HT 7, Steinwolle HT 7* und Glaswolle TL* wurden aus kommerziellen Produkten durch Sichtung im Fraunhofer ITA (siehe Abschnitt 2.2.3) erhalten. Die Faserproben Glaswolle C und Glaswolle CS* wurden in der erforderlichen Dickenverteilung direkt von Isover Saint Gobain geliefert und im Fraunhofer ITA keiner weiteren Behandlung unterworfen.

Bei den mit * markierten Materialien handelt es sich um Faserproben, die für den Menschen inhalierbar sind. Diese Proben enthalten einen höheren Anteil

dickerer Fasern, die für die Ratte nicht inhalierbar sind. Durch intratracheale Instillation lassen sich solche Fasern aber bei der Ratte auch in die Lunge applizieren. Die Unterschiede in der Faserdicke und der Faserlänge zu den entsprechenden dünneren Faserproben sind in Tabelle 8 (siehe Abschnitt 2.2.3., Seite 56) zu erkennen.

Die chemische Zusammensetzung dieser Fasermaterialien ist in Tabelle 4 (siehe Seite 52) aufgeführt. Die in Deutschland hergestellte Glaswolle TL ist in der chemischen Zusammensetzung nahezu identisch mit der Glaswolle MMVF 11 (vom amerikanischen Markt), die im Versuchsteil nach intraperitonealer Injektion und bei den In-vitro-Untersuchungen verwendet wurde.

Tabelle 3:
Herkunft der Prüfsubstanzen für die intratracheale Instillation

Material	Herkunft	Datum	Behandlung im Fraunhofer ITA
Zetwool	Didier Forschungsinstitut	08.09.94	Retschmühle, Sichtung
Glaswolle C	Isover Saint-Gobain	13.01.95	—
Steinwolle HT 7	Rockwool International A/S	23.11.94	Retschmühle, Sichtung
Glaswolle CS*	Isover Saint-Gobain	10.02.95	—
Steinwolle HT 7*	Rockwool International A/S	23.11.94	Retschmühle, Sichtung
Glaswolle TL*	Baumarkt	17.01.92	Retschmühle, Sichtung

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Tabelle 4:

Chemische Zusammensetzung der Prüfsubstanzen für die intratracheale Instillation (Gewichtsprozent)

Material	Chemische Zusammensetzung									
	SiO ₂	Al ₂ O ₃	B ₂ O ₃	TiO ₂	FeO _x	MgO	CoO	BaO	Na ₂ O	K ₂ O
Zetwool	0,5	56,0	0,1			0,4	42,8		0,1	
Glaswolle C	61,0	0,9	9,4			2,7	6,7		15,1	0,6
Steinwolle HT 7	38,8	22,1		2,0		10,6	14,7		1,8	0,8
Glaswolle TL	64,9	3,1	4,7	0,1	0,3	2,9	7,0	0,1	15,3	1,5

Im Projektteil Persistenzuntersuchungen nach intraperitonealer Injektion wurden verschiedene Mineralfasern verwendet (siehe Tabelle 5), bei denen schon die Biopersistenz nach intratrachealer Instillation und die Kanzerogenität nach intraperitonealer Injektion untersucht worden war. Bei der Faserprobe MMVF 22 handelt es sich um dasselbe Fasermaterial, das in früheren Versuchen als Schlackenwolle M bezeichnet wurde [31]. Die chemische Zusammensetzung dieser Fasermaterialien ist in Tabelle 6 aufgeführt.

2.2.2 Sicherheitsvorschriften, Lagerung und Handhabung

Persistente künstliche KMF-Stäube gelten als kanzerogen. Aus diesem Grunde waren spezifische Sicherheitsmaßnahmen erforderlich, wie z.B. im Inhalationsver-

such das Tragen von Staubmasken (Klasse P2) bei der Entnahme der Tiere aus den Expositionsrohren am Expositionsende. Zu Sicherheitsvorkehrungen, Lagerung und Handhabung der Prüfsubstanzen wurden gesonderte Vorschriften verfaßt. Routinemäßige Hygienevorschriften wurden befolgt, um sicherzustellen, daß keine schädlichen Einflüsse auf Gesundheit und Sicherheit der Personen, die die Prüfsubstanzen handhabten, möglich waren.

2.2.3 Sichtung der Prüfsubstanzen

Die entsprechenden Prüfsubstanzen für die intratracheale Instillation (siehe Tabelle 3) wurden zunächst in einer Retschmühle zerkleinert. Aus dem gemahlene Fasermaterial wurde jeweils mit einem Trockendispergiersystem ein Aerosol erzeugt, das in einer Misch-

Tabelle 5:

Herkunft der Prüfsubstanzen für die intraperitoneale Injektion

Material	Herkunft	Datum	Behandlung im Fraunhofer ITA
Steinwolle MMVF 21	Mountain Technical Center	17.02.95	—
Schlackenwolle MMVF 22	Mountain Technical Center (über Prof. Pott)	12.02.92	—
Glaswolle MMVF 11	Mountain Technical Center	12.12.94	—
Keramikfaser RCF 1	Carborundum Co.	06.03.95	—
Glasfaser B-01-0.9	Bayer AG (über Prof. Pott)	14.03.94	Retschmühle (0,5-mm-Sieb)

Tabelle 6:

Chemische Zusammensetzung der Prüfsubstanzen für die intraperitoneale Injektion (Gewichtsprozent)

Material	Chemische Zusammensetzung									
	SiO ₂	Al ₂ O ₃	B ₂ O ₃	TiO ₂	FeO _x	MgO	CaO	BaO	Na ₂ O	K ₂ O
MMVF 21	46,0	13,0		2,8	6,3	9,2	16,8		2,8	1,2
MMVF 22	38,2	10,3		0,5	0,3	10,0	37,4		0,4	0,4
MMVF 11	63,4	3,9	4,4	0,1	0,2	2,8	7,4	0,0	15,4	1,3
RCF 1	47,7	48,0		2,0	1,0	0,1	0,1		0,5	0,2
B-01-0.9	61,0		3,3		< 0,5	3,2	16,5		15,4	< 1,0

box mit gefilterter Luft verdünnt und mit einem Ventilator durch einen zweistufigen Partikelabscheider gesaugt wurde (siehe Abbildungen 4 und 5, Seite 54). Dabei wurde auf der ersten Stufe der Grobanteil des Faserstaubes und auf der zweiten Stufe der benötigte Feinstaubanteil abgeschieden. Der Durchfluß durch

den Partikelabscheider wurde so eingestellt, daß der 50%-Wert der Abscheideeffizienz bei einem aerodynamischen Durchmesser von etwa 10 µm lag. Um die Faserfraktionen mit größerem Durchmesser zu erhalten (inhalierbar für den Menschen, in Tabelle 3 mit * markiert) wurden Fasern aus dem unteren

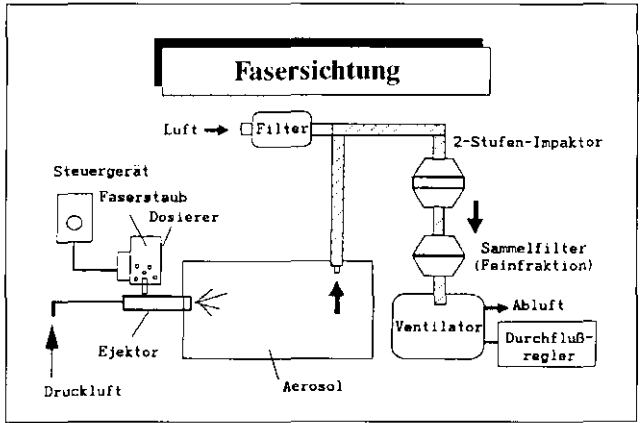


Abbildung 4:
Schematischer Versuchsaufbau für die Sichtung von Faserproben

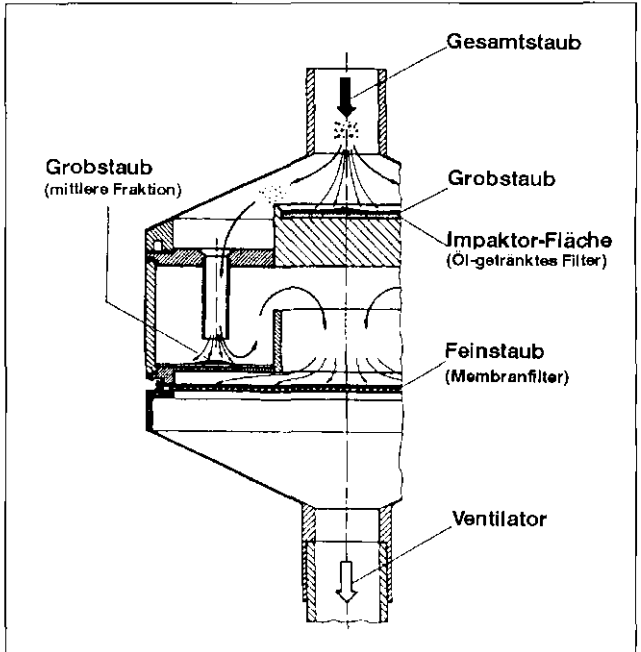


Abbildung 5:
Schematischer Aufbau des zweistufigen Partikelabscheiders

Bereich der ersten Stufe des Partikelabscheiders verwendet (mittlere Fraktion in Abbildung 5). Bei diesem Material sind sowohl die ganz dicken Fasern als auch die sehr dünnen Fasern abgetrennt. Die Unterschiede zwischen der dünnen Fraktion und dieser dickeren Fraktion sind am deutlichsten am massengewichteten aerodynamischen Durchmesser in Tabelle 8 (siehe Seite 56) zu erkennen. Auch der anzahlgewichtete Durchmesser der Fasern ist bei der dickeren Faserfraktion deutlich höher.

Charakterisierung der Prüfsubstanzen

Für jede Prüfsubstanz wurde eine kleine Menge in doppelt destilliertem Wasser suspendiert, mit Ultraschall behandelt und auf ein Nucleoporefilter (Porengröße $0,2 \mu\text{m}$) gesaugt. Eine Überprüfung der Faserprobe Glaswolle C nach Suspendierung ohne Ultraschallbehandlung sowie mit einer halben und fünf Minuten Ultraschallbehandlung ergab, daß eine Ultraschallbehandlung bis zu einer Dauer von fünf Minuten keinen Einfluß auf die gemessene Faserlänge und Faserdicke hat. Ein Teil dieses Filters wurde auf ein Aluminiumtellerchen geklebt und mit ungefähr 30 nm Gold besputtert. Diese Proben wurden in einem Raster-Elektronenmikroskop (REM) untersucht (siehe Anhang: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen). Die Ver-

größerung wurde so gewählt, daß sowohl die Länge der längsten Fasern als auch die Dicke der dünnsten Fasern mit ausreichender Genauigkeit gemessen werden konnten. Dazu wurden zwei oder drei verschiedene Vergrößerungen verwendet. Da unterschiedlich große Objektfelder bei den verschiedenen Vergrößerungen ausgemessen wurden, so wurden die unterschiedlichen Flächen für die Größenverteilung über einen Bewertungsfaktor berücksichtigt. Um eine doppelte Zählung von Fasern mittlerer Länge zu vermeiden, wurden Grenzen der Faserlänge für die Auszählung bei den verschiedenen Vergrößerungen festgelegt. Für etwa 400 Fasern wurden Länge und Dicke vermessen. Die Verteilung von Länge, Durchmesser und aerodynamischem Durchmesser (berechnet nach Harris und Fraser [32]) wird durch die 10-, 50-, 90- und 99-Perzentile der Häufigkeit, gewichtet nach Faseranzahl bzw. nach Fasermasse (beim aerodynamischen Durchmesser), für jede Prüfsubstanz angegeben. Tabelle 7 (siehe Seite 56) enthält die Angaben für den Inhalationsversuch, Tabelle 8 (Seite 56) für den Intratrachealversuch und Tabelle 9 (Seite 57) für den Intraperitonealversuch.

Durch die Aufnahme eines Energie-dispersiven Röntgenspektrums (EDX-Spektrum) im REM wurde die chemische Zusammensetzung der Prüfsubstanzen qualitativ überprüft.

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Tabelle 7:

Fasergrößenverteilung der zur Aerosolherzeugung verwendeten Faserproben (angegeben sind die Perzentile der Summenhäufigkeit nach Anzahlgewichtung bzw. Massengewichtung beim aerodynamischen Durchmesser)

Material	Faserzahl	Verteilung											
		Faserlänge [μm]				Faserdurchmesser [μm]				berechneter aerodynamischer Durchmesser [μm]			
		10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %
B-01-0.9	486	3,4	9,4	31,5	91,5	0,32	0,70	1,21	1,79	2,5	4,5	7,7	10,2
MMVF 21	392	3,4	9,1	27,5	82,6	0,56	1,08	1,89	2,88	3,9	7,8	14,8	19,1
RCF 1	408	2,9	8,3	26,8	72,8	0,52	1,03	2,11	3,66	4,0	8,1	13,2	15,7

Tabelle 8:

Fasergrößenverteilung der zur intratrachealen Instillation verwendeten Faserproben (angegeben sind die Perzentile der Summenhäufigkeit nach Anzahlgewichtung bzw. Massengewichtung beim aerodynamischen Durchmesser)

Material	Faserzahl	Verteilung											
		Faserlänge [μm]				Faserdurchmesser [μm]				berechneter aerodynamischer Durchmesser [μm]			
		10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %
Zetwool	416	2,2	7,1	35,4	120,6	0,26	0,56	1,33	2,32	2,7	6,1	9,8	11,8
Glaswolle C	396	2,4	7,2	27,3	73,4	0,30	0,47	1,29	2,84	3,6	8,9	21,9	22,7
HT 7	376	2,2	6,1	32,7	103,6	0,34	0,77	2,15	3,61	4,6	8,9	20,4	25,2
Glasw. CS*	359	3,5	14,6	59,1	118,8	0,45	0,97	4,52	9,55	10,0	20,4	31,7	36,2
HT 7*	442	5,6	18,8	93,9	235,6	0,71	1,94	4,40	6,80	9,4	16,0	29,6	43,8
TL*	412	3,7	16,0	39,2	116,4	0,65	1,42	3,83	8,76	9,6	23,9	47,5	49,5

* spezielle Faserfraktion (inhalierbar für den Menschen); diese Fasern besitzen einen größeren Durchmesser als die übrigen Prüfsubstanzen

Tabelle 9:

Fasergrößenverteilung der zur intraperitonealen Injektion verwendeten Faserproben (angegeben sind die Perzentile der Summenhäufigkeit nach Anzahlgewichtung bzw. Massengewichtung beim aerodynamischen Durchmesser)

Material	Faserzahl	Verteilung											
		Faserlänge [μm]				Faserdurchmesser [μm]				berechneter aerodynamischer Durchmesser [μm]			
		10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %
MMVF 21	392	3,4	9,1	27,5	82,6	0,56	1,08	1,89	2,88	3,9	7,8	14,8	19,1
MMVF 22	437	3,3	7,8	24,3	68,7	0,38	0,77	1,35	2,31	2,9	5,2	10,1	12,1
MMVF 11	411	3,5	10,7	32,1	77,8	0,39	0,82	2,11	4,00	4,3	8,9	13,8	16,2
RCF I	408	2,9	8,3	26,8	72,8	0,52	1,03	2,11	3,66	4,0	8,1	13,2	15,7
B-01-0.9	486	3,4	9,4	31,5	91,5	0,32	0,70	1,21	1,79	2,5	4,5	7,7	10,2

2.2.4 Prüfsystem

2.2.4.1 Tiermodell

Es wurden weibliche Wistar-Ratten (Stamm CrI:(WI)BR) der Firma Charles River Deutschland, Sulzfeld, verwendet. Das Alter der Tiere betrug zu Beginn der Prüfung etwa neun Wochen im Inhalationsversuch, etwa zehn bis elf Wochen im Intratrachealversuch und etwa zehn Wochen im Intraperitonealversuch. Da weibliche Ratten des gleichen Stammes schon in früheren Faserbeständigkeitsstudien nach intratrachealer Instillation verwendet wurden [31, 33 - 36], ist ein Vergleich mit Ergebnissen dieser Studien möglich.

2.2.4.2 Akklimatisierung

Vor Beginn der Prüfung wurden folgende Maßnahmen durchgeführt:

1. Die Ratten wurden ca. drei Wochen vor Beginn der Prüfung in den vorgesehenen Raum gebracht, um eine Akklimatisierung an die Haltungsbedingungen im Institut zu erreichen. Bei der Prüfung mit inhalativer Exposition wurden die Tiere in dieser Zeit mit einem speziellen Trainingsprogramm an die Expositionsröhren gewöhnt.
2. In dieser Zeit wurde das Körpergewicht bestimmt.

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Die Tiere wurden während der Akklimatisationsphase täglich auf klinische Veränderungen durchgesehen. Während der Akklimatisierungszeit wurden keine auffälligen Befunde festgestellt.

2.2.4.3 Randomisierung

Vor Beginn der Prüfungen wurden die Ratten gewogen, randomisiert und den Prüfungsgruppen auf Körpergewichtsbasis durch das DATATOX-System (Management of Toxicology Laboratory Data, Instem Computer System Ltd., Walton Industrial Estate, Stone, Staffs, ST 15 0LT, Großbritannien) zugeordnet. Dieser Vorgang stellte sicher, daß alle Tiere der jeweiligen Teilprüfung zum Zeitpunkt der Randomisierung innerhalb $\pm 20\%$ des Gesamtmittelwertes des Körpergewichts lagen.

2.2.4.4 Identifizierung

Jedem Tier wurde eine eindeutige sechs-stellige Identifikationsnummer zugeordnet, die aus der Gruppennummer und einer fortlaufenden individuellen Nummer bestand. Diese sechs-stellige Zahl GGNNNN ist für die Datenspeicherung im Computer notwendig; GG ist die zwei-stellige Gruppennummer, O eine Zwischenzahl und NNN eine drei-stellige fortlaufende Tierzahl. Jedes Tier wurde

durch eine korrespondierende Nummer, die auf einer Metallplatte am Käfig angebracht war, identifiziert. Alle Daten über das jeweilige Tier wurden unter dieser Nummer abgespeichert.

Bei jedem Tier wurde ein Ohr mit der Gruppennummer und das andere Ohr mit einer zwei-stelligen individuellen Nummer tätowiert.

2.2.4.5 Haltung der Tiere

Die Tiere wurden zu zweit in Makrolon-käfigen Typ III gehalten. Käfige und Einstreu wurden zweimal wöchentlich oder, falls notwendig, häufiger gewechselt. Eine Einstreuprobe wurde alle drei Monate durch die Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt in Kiel untersucht. Trinkwasser wurde wöchentlich oder, falls nötig, häufiger frisch in einer Makrolonflasche mit einer Edelstahlkappe mit einem Loch von etwa 0,5 mm im Durchmesser angeboten. Vierteljährlich wurde das Wasser auf seine chemische Zusammensetzung und alle sechs Monate auf Kontaminationen untersucht.

Als Futter wurden Pellets „Altromin 1324 N, spezialbehandelt“ der Fa. Altromin, Lage, verwendet. Das Futter wurde in Raum T1.015 bei einer Temperatur von $18 \pm 5^\circ\text{C}$ und einer relativen Luftfeuch-

tigkeit von 40 ± 15 % gelagert und nur bis zu drei Monaten nach Herstellungsdatum verwendet. Alle drei Monate wurde es durch die Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt, Kiel, auf Kontaminationen untersucht. Wöchentlich oder, falls notwendig, häufiger wurde es den Tieren frisch angeboten.

2.2.4.6 Entsorgung

Biologische Abfälle wie Futter, Einstreu und andere verbrauchte Materialien, die im Tierhaus bei Durchführung dieser Prüfung anfielen, wurden in speziellen Behältern gesammelt und den örtlichen Vorschriften entsprechend entsorgt.

2.2.4.7 Tägliche und wöchentliche Beobachtungen

Der Tierbestand wurde täglich mindestens einmal durchgesehen. Tiere, die Veränderungen aufwiesen, wurden vom zuständigen Tierarzt oder seinem Stellvertreter untersucht. Die Käfige dieser Tiere wurden gekennzeichnet und die Tiere besonders beobachtet. Einmal wöchentlich wurde der Gesundheitszustand aller Tiere vom Tierarzt oder seinem Stellvertreter untersucht. Während der Prüfung wurden Tiere nur dann getötet, wenn es zu einer hochgradigen

Verschlechterung des Gesundheitszustandes gekommen war.

2.2.4.8 Körpergewichte

Das Körpergewicht der Tiere wurde in den ersten drei Monaten wöchentlich und anschließend alle vier Wochen aufgenommen. Die Wägungen erfolgten on line mit Hilfe eines Datenerfassungsprogramms (DATATOX) auf Waagen, die direkt mit einem Computer verbunden waren.

2.2.4.9 Datenaufzeichnung und Dokumentation

Alle anfallenden Daten wurden mit EDV-Systemen erfaßt oder auf Formblättern eingetragen. Die Speicherung und Auswertung von Körpergewichtsdaten erfolgte mit Hilfe des DATATOX-Systems (Version rC.8-1, INSTEM, Stone, Großbritannien) auf dem Zentralcomputer des Fraunhofer ITA (VAX mit OpenVMS VAX V6.1, seit 9. März 1996 OpenVMS VAX V6.2).

2.2.4.10 Statistische Methoden

Alle Auswertungen der Rohdaten und statistischen Analysen wurden entweder mit dem DATATOX-System oder mit Hilfe

des Statistik-Pakets SAS (SAS Institute I.N.C., Cary, NC, USA, Version 6.08) auf dem VAX-Zentral-Computer (VAX mit OpenVMS VAX V6.1, seit 9. März 1996 OpenVMS VAX V6.2) durchgeführt. Zum Vergleich der Behandlungsgruppe mit der Kontrollgruppe wurde beim Körpergewicht und beim Lungengewicht der Dunnett's-Test durchgeführt. Zur Bestimmung der Faser clearance wurde für jede Gruppe eine Regressionsgerade aus dem Logarithmus der Faserzahl bzw. Fasermasse in den einzelnen Lungenaschen und den verschiedenen Sektionszeiten berechnet. Die Regressionsanalyse ergibt die Geschwindigkeitskonstante k für die Faserelimination und den 95%-Vertrauensbereich (VB). Daraus berechnet sich die Halbwertszeit nach:

$$T_{1/2} = \ln 2 / k \quad (1)$$

2.2.4.11 Lagerung und Aufbewahrung von Materialien

Die übriggebliebene Lungenasche und die REM-Tellerchen werden zusammen mit dem Prüfplan, mit Rohdaten, dem Endbericht und anderen Materialien in den Archiven des Fraunhofer ITA aufbewahrt. Alle Materialien der Prüfung wurden katalogisiert. Ohne die schriftliche Zustimmung des Auftraggebers und des Fraunhofer ITA wurden keine Materialien beseitigt.

2.2.5 Durchführung der Inhalationsprüfung

2.2.5.1 Gruppeneinteilung

In der Tabelle 10 ist eine Übersicht über die Versuchsgruppen, die geplanten Expositionskonzentrationen und die Sektionstermine aufgeführt. Die Tabelle 11 beschreibt die durchgeführten Untersuchungen.

2.2.5.2 Inhalation

Die Exposition der Tiere erfolgte in einer sogenannten „Nose-only“-Expositionsanlage (siehe Abbildung 6, Seite 62). Hierzu befanden sich die Tiere in Acrylglas-Expositionsrohren mit schiebbarem Verschuß. Die Expositionsrohren waren ringförmig an einem Zylinder angebracht, der pro Expositionskonzentration bis zu 64 Röhren aufnehmen kann. Dieser Typ der Inhalationskammer war identisch mit der von Bernstein et al. [19] verwendeten Anlage. Die Position der einzelnen Tiere an der Inhalationskammer (Zylinder) wurde täglich verändert, um eventuelle Unterschiede minimieren zu können. Die Expositionsanlage wurde mit einem Durchfluß von jeweils ca. 3,8 m³/h betrieben, was einem Volumenfluß von etwa 1 l/min für jedes Versuchstier entspricht.

Tabelle 10:
Prüfplan mit Anzahl der Tiere (Inhalationsprüfung)

Nr.	Gruppe	Exposition		Anzahl der Tiere für Sektionstermine					
		Dauer [Wochen]	Konz. [mg/m ³]	3 Tage	17 Tage	1 Monat	3 Monate	12 Monate	Summe
1. Expositionsperiode: Beginn 2. Mai bzw. 15. Mai (Gruppe Nr. 22) 1995; Ende 19. Mai 1995									
21	Kontrolle (Reinluft)	3		8	8	8	13	13	50
22	B-01-0.9	1	30	8	8	8	13	13	50
23	B-01-0.9	3	40	8	8	8	13	13	50
24	Glaskugeln	3	40	8	8	8	13	13	50
2. Expositionsperiode: Beginn 12. Juni bzw. 26. Juni (Gruppe Nr. 26) 1995; Ende 30. Juni 1995									
25	Keramikfaser RCF 1	3	40	8	8	8	13	13	50
26	MMVF 21	1	30	8	8	8	13	13	50
27	MMVF 21	3	40	8	8	8	13	13	50
Gesamtzahl									350

Tabelle 11:
Übersicht über die durchgeführten Untersuchungen

Aktion	Termine (Tage)	Anzahl der Tiere (pro Termin und Gruppe)	Individuelle Nummer
BAL Faserretention	3, 17, 31, 93, 365	6	1-30
Histologie (Lokalisation der Fasern)	3, 17, 31, 93, 365	2	31-40
Retention Fasern im Pleuraspalt	93, 365	5	41-50
Clearancemessung	3	8	19-24, 41-42

im Mai 1996 und bei den Gruppen 25 bis 27 im Juli 1996.

2.2.5.4 Aerosolerzeugung

Die Aerosolerzeugung erfolgte für jede Inhalationseinheit (Zylinder) mit einem pneumatischen Zerstäuber, dem die Prüfsubstanz mittels eines rechnergesteuerten Schneckendosierers zugeführt wurde (siehe Abbildung 7 auf Seite 64). Das dosierte Fasermaterial wurde in einer Mischkammer mit durch eine ^{63}Ni -Quelle bipolar ionisierter Verdünnungsluft gemischt und anschließend durch den Ejektor dispergiert. Durch den schon während der Dispergierung sehr hohen Ionisierungsgrad der Luft war es möglich, die elektrische Aufladung der Fasern im Vergleich zu Versuchen ohne Ionisierung weitgehend zu verringern. Nichtdispergierte Faseragglomerate wurden in einem nachgeschalteten Klassifizierer abgetrennt, bevor das Faseraerosol durch die Expositionskammer geleitet wurde.

2.2.5.5 Messung der Expositionsatmosphäre

Die Durchflußrate, die Temperatur ($22 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$), die relative Feuchte und die Aerosolkonzentration wurden kontinuierlich gemessen und die 20-Minu-

ten-Mittelwerte aufgezeichnet. Die kontinuierliche Messung der Aerosolkonzentration erfolgte photometrisch mit Streulichtaerosoldetektoren. Zur Kalibrierung der Photometer wurde die Aerosolkonzentration in jeder Expositionseinheit drei- bis fünfmal pro Woche gravimetrisch bestimmt. Zur Bestimmung der Faserzahlkonzentration und der Fasergrößenverteilung wurden drei- bis fünfmal pro Woche eine Probe auf ein Nucleoporefilter gezogen und bei etwa 200 Fasern im Raster-Elektronenmikroskop Länge und Durchmesser vermessen.

2.2.5.6 Bestimmung der Faserretention in Lunge, LALN und Trachea

Bei jeweils sechs Lungen, die zuvor für die bronchoalveoläre Lavage (BAL) (siehe Abschnitt 2.2.5.11) verwendet wurden, wurde das Lungengewebe mit einer Schere fein zerschnitten und auf Uhrgläsern im Trockenschrank bei $105 \text{ }^\circ\text{C}$ fünf Stunden lang getrocknet. Die abgekühlten Proben wurden daraufhin in einem Tieftemperatur-Plasma-Verascher sechs Stunden im Sauerstoffplasma verascht.

Ein Teil der Lungenasche wurde in faserfreiem Wasser resuspendiert, beschallt und eine geeignete Menge auf Nucleoporefilter (25 mm Durchmesser; $0,4 \text{ }\mu\text{m}$

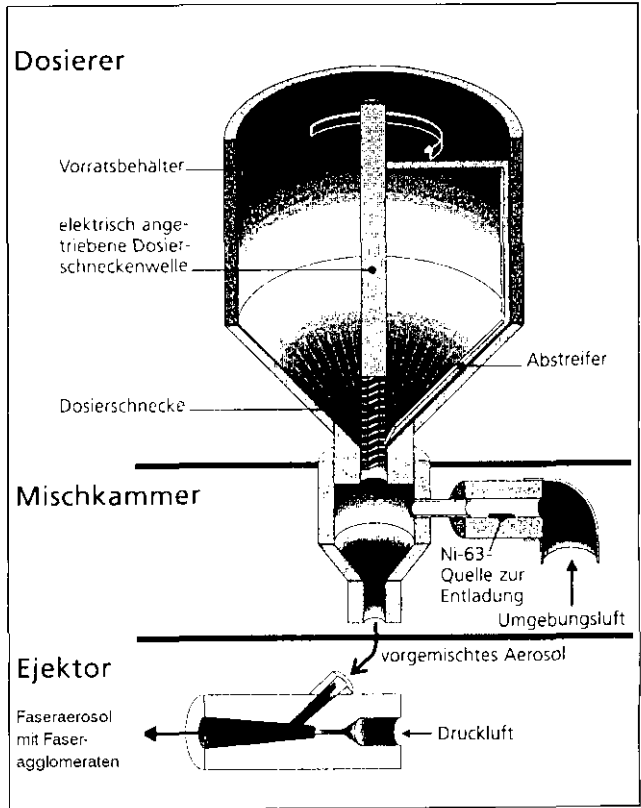


Abbildung 7:
Schemazeichnung
des Aerosolgenerators

Porengröße) gezogen, so daß das Filter hinreichend mit Fasern belegt war.

Nachdem ein Teil des Filters auf ein Aluminiumtellerchen geklebt und mit einer Goldschicht von ungefähr 30 nm belegt worden war (Sputtergerät), wurden

etwa 200 Fasern pro Lunge im Raster-Elektronenmikroskop (REM) ebenso wie bei der Charakterisierung der Prüfsubstanzen beschrieben (siehe Abschnitt 2.2.3) ausgewertet. Fasern mit einer Länge $\leq 20 \mu\text{m}$ wurden bei einer etwa 2300fachen Vergrößerung auf Video-

prints ausgemessen (für jede Faser wurden Länge und Dicke gemessen). Aus der Anzahl der Bilder, der Bildfläche und der effektiven Filterfläche wurde die Anzahl der Fasern auf dem gesamten Filter hochgerechnet. Dabei wurden Fasern mit nur einem Faserende auf dem Bild als halbe Fasern gezählt, und Fasern, die mit beiden Faserenden aus dem Bild herausragten, aber nicht. Die Fasern mit einer Länge $> 20 \mu\text{m}$ wurden auf Videoprints mit einer Vergrößerung von etwa 775mal ausgemessen. Hier wurde ebenfalls eine Hochrechnung auf das gesamte Filter durchgeführt. Die Gesamtfaserzahl ergibt sich anschließend als Summe der beiden Faserlängenfraktionen. Für die Berechnung der Faserzahl pro Lunge wurde zusätzlich berücksichtigt, welcher Anteil der Lungenasche suspendiert und auf das Filter gezogen worden war. Bei den Glaskugeln wurde bei einer 6200fachen Vergrößerung als Länge und als Dicke jeweils der Kugeldurchmesser gemessen.

Zur Berechnung der retinierten Masse wurde aus der Dichte der Prüfsubstanz, der Faserlänge und Faserdicke unter Berücksichtigung einer zylindrischen Geometrie die Masse der einzelnen Fasern berechnet und eine Hochrechnung auf die gesamte Lungenprobe ebenso wie bei der Faserzahl durchgeführt.

Bei sehr geringer Faserbelegung (z.B. beim Zwölfmonatswert) wurde die Messung nach der Auswertung von 50 Bildausschnitten abgebrochen.

Die Sedimente der Lungenspülung (siehe Abschnitt 2.2.5.11) wurden bei zwei Tieren pro Gruppe und Sektionstermin getrennt von den Lungen auf Fasern analysiert. Dazu wurden diese Zellsedimente in kleine Bechergläschen überführt und nach der gleichen Methode wie beim Lungengewebe getrocknet und im Sauerstoffplasma verascht. Der Rückstand wurde in faserfreiem Wasser suspendiert und ein geeigneter Anteil dieser Suspension auf ein Nucleoporefilter (25 mm Durchmesser; $0,4 \mu\text{m}$ Porengröße) gezogen, so daß das Filter hinreichend mit Fasern belegt war.

Zur Bestimmung der Faserretention in den Lungen-assoziierten Lymphknoten (LALN) wurden wegen der geringen erwarteten Faserzahl jeweils drei Tiere eines Sektionstermins gepoolt verarbeitet. Dazu wurden die gepoolten LALN ebenso wie die Lungen getrocknet und im Plasmaverascher verascht. Die verbleibende Gewebeanasche wurde vollständig mit faserfreiem Wasser suspendiert, und 30 bis 100 % dieser Suspension wurden auf ein Nucleoporefilter (25 mm Durchmesser; $0,4 \mu\text{m}$ Porengröße) gezogen.

2.2.5.7 Beeinflussung der alveolären Clearance durch inhalierte Fasern

Durch eine zusätzliche kurzzeitige „Nose-only“-Inhalation mit radioaktiv markierten unlöslichen Partikeln ($^{46}\text{Sc}_2\text{O}_3$) am ersten Tag nach Beendigung der Faserinhalation wurde bei acht Tieren pro Gruppe die Clearancefunktion der alveolären Makrophagen bestimmt [37, 38]. Der Aufbau der Inhalationsanlage für das radioaktive Aerosol ist in Abbildung 8 dargestellt. Die $^{46}\text{Sc}_2\text{O}_3$ -Partikeln (hergestellt durch Neutronenaktivierung aus Scandiumoxid) wurden in 10 ml einer wäßrigen Suspension mit der Dosierpumpe einer Verneblerdüse über

einen Zeitraum von etwa einer Stunde zugeführt und in eine 15-Liter-Mischkammer vernebelt. Aus dieser Mischkammer wurde das Aerosol mit 10 l/min durch die Inhalationskammer gesaugt und die Partikelgrößenverteilung mit einem Kaskadenimpaktor bestimmt. Die hierfür verwendeten acht Tiere pro Gruppe wurden später für die bronchoalveoläre Lavage und Retentionsmessungen in der Lunge und im Pleuraspalt verwendet. Nach einer 90tägigen Messung (ein- bis zweimal pro Woche für ca. 5 min) der γ -Aktivität über dem Lungenfeld zur Bestimmung der Clearance wurden diese Tiere für die Sektion (Dreimonatstermin) verwendet. Die Berechnung der Clearance-Halbwertszeit er-

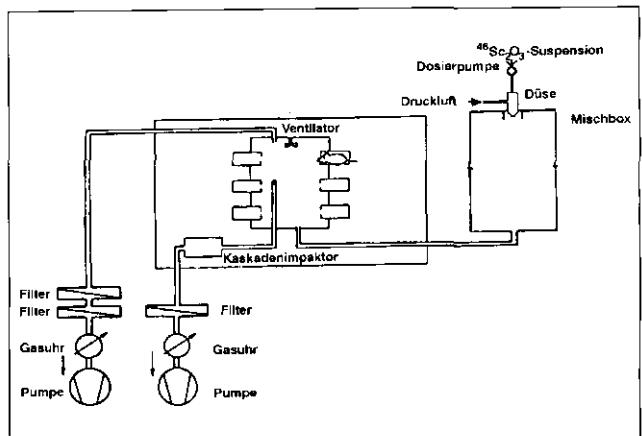


Abbildung 8:
Versuchsaufbau der
Inhalationsanlage für das
radioaktive Testaerosol

folgte aus den Daten von Tag 15 bis 90, um die alveoläre Clearance ohne die tracheobronchiale Clearance zu erhalten. Ein Vergleich dieser Halbwertszeiten zwischen faserexponierten Tieren und Kontrolltieren erlaubt Aussagen zur Verlangsamung der Lungenreinigungskapazität durch Überladung mit retinierten Fasern oder durch zytotoxische Effekte. Es sollte geklärt werden, ob Fasern aufgrund ihrer geometrischen Abmessungen die Migration von alveolären Makrophagen stärker beeinflussen als isometrische Partikel („Dust Overloading“) [39].

2.2.5.8 Untersuchungen zur Lokalisation von Fasern

An histologischen Lungengewebschnitten von zwei Tieren pro Gruppe und Sektionstermin wurde die Lokalisation von Fasern in der Lunge qualitativ untersucht. Die Fasern waren auf den histologischen Schnitten (siehe Abschnitt 2.2.5.10) anhand ihrer Doppelbrechung identifizierbar.

Weitere Hinweise ergaben sich aus der getrennten Veraschung von abgetrennten Teilen des Respirationstraktes (z.B. obere Trachealhälfte und Lungen-assoziierte Lymphknoten) und der oben aufgeführten Untersuchung der BAL auf Fasern in Makrophagen.

2.2.5.9 Bestimmung der Faserretention im Pleuraspalt

Die Migration von Fasern zu den serösen Häuten der Pleura ist wesentlich für die Frage, ob durch künstliche Mineralfasern auch Pleuramesotheliome induziert werden könnten, wie es bei Asbest der Fall ist. Nach der von Bermudez [40] beschriebenen Methode wurden die im Pleuraspalt retinierten Fasern gewonnen. Die erforderlichen Arbeitsschritte sind in der folgenden Liste aufgeführt:

- Ratte mit 120 mg/kg Pentobarbital narkotisieren (= 0,2 ml Nembutal/100 g KG); Tiefnarkose abwarten, d.h. keine Reflexe mehr feststellbar
- zwei Hautschnitte rechts und links im seitlichen Thoraxbereich anbringen
- Trachea kanülieren
- Pleuraraum mit 8 ml einer 0,8%-Agarose/0,1%-SDS-Lösung füllen (jeweils 4 ml; von der Seite durch die Hautöffnungen und Rippen, d.h. ohne Eröffnung des Bauchraums); leicht massieren
- 2 ml Agarose-Lösung in die Lunge spritzen (Gegendruck); dann Kanüle entfernen und gleichzeitig Trachea abbinden

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Ratte über die Venae jugulares (Hals) entbluten

Ratte schräg auf Köfigdeckel fixieren (Kopf nach unten)

zur Aushärtung Ratte 30 min in Kühlraum oder auf Eis legen

Agarose-Abguß herauspräparieren, auf Uhrglas bei 75 °C über Nacht im Trockenschrank trocknen (alternativ: drei Stunden bei 75 °C und 5 Stunden bei 100 °C) und sechs bis zwölf Stunden im Plasmaverascher veraschen

die gesamte Asche in Wasser suspendieren und auf ein 47-mm-Filter ziehen; dieses in einer Glas-Petrischale trocknen lassen und erneut sechs Stunden plasmaveraschen

die Asche auf ein 25-mm-Filter ziehen und REM-Analyse durchführen (siehe Abschnitt 2.2.5.6)

2.2.5.10 Sektion für die Histologie

Die Ratten wurden mit einer Überdosis Nembutal (0,2 ml/100 g Körpergewicht) betäubt. Nach Eintritt der vollen Narkosewirkung wurde der Brustkorb geöffnet und das Tier durch Aufschneiden der Vena cava caudalis entblutet. Die Lunge wurde herauspräpariert, Herz, Ösophagus und Thymus abpräpariert und der

Thymus inclusive der Lungen-assoziierten Lymphknoten in Formalin fixiert. Die Lunge wurde durch Formalininfusion fixiert.

2.2.5.11 Sektion mit bronchoalveolärer Lavage

Zu verschiedenen Zeitpunkten nach Ende der Inhalation wurden Satellitengruppen seziiert (gleiche Ratten wie für Faserretentionsuntersuchungen; pro Sektionstermin wurde bei sechs Tieren pro Gruppe eine bronchoalveoläre Lavage [BAL] durchgeführt). Die Lungen wurden mit Herz, Ösophagus, Trachea und Thymus herauspräpariert. Die Trachea wurde dabei direkt unterhalb des Kehlkopfs abgeschnitten. Anschließend wurden Herz und Ösophagus abgetrennt. Die Trachea wurde dann in der Mitte zwischen Kehlkopf und Bifurkation durchtrennt und die obere Hälfte für Faserretentionsmessungen eingefroren. Vor Beginn der Lungenspülung wurde die Lunge mit halber Trachea und Thymus gewogen (Wägung I). Es wurde nun eine Lungenspülung mit 0,9%iger physiologischer Kochsalzlösung vorgenommen [41]. Dazu wurde die Trachea kanüliert und mit Zwirn abgebunden. In einer ersten Spülserie wurde zweimal mit jeweils 4 ml Salzlösung gespült, ohne die Lunge zu massieren. Diese relativ kon-

zentrierte Lungenspülflüssigkeit eignet sich zur Bestimmung der folgenden Parameter:

Differentialzellbild

Auf Objektträgern wurden Zytopräparate hergestellt, die nach May-Grünwald-Fixierung mit Giemsa-Lösung angefärbt wurden. Die Alveolarleukozyten wurden dann lichtmikroskopisch nach Makrophagen, Granulozyten und Lymphozyten differenziert. Die prozentuale Auswertung lieferte Informationen zur zellulären Entzündungsreaktion in der Lunge.

Biochemische Parameter im Überstand nach Zentrifugation der Lungenspülflüssigkeit

Die *Lactatdehydrogenase* (LDH) ist ein zytosolisches Leitenzym, das allgemein auf zelltoxische Effekte hinweist.

Die *γ -Glutamyltransferase* befindet sich in den Alveolarmakrophagen. Ein Anstieg des Enzymtiters korreliert mit einer gesteigerten Makrophagenaktivität.

Die *Gesamtprotein*-Konzentration ist ein Maß für die alveoläre kapilläre Transsudation und weist auf Schädigungen des Alveolarepithels hin.

In einer nachfolgenden zweiten Serie wurde viermal mit jeweils 5 ml Salz-

lösung gespült. Die Lunge wurde dabei leicht massiert. Mit dieser Spülserie lassen sich bedeutend mehr Leukozyten gewinnen. Eine Gesamtzahl von zwei Millionen Alveolarleukozyten wurde zur Bestimmung der Glutathion-Konzentration in den Leukozyten eingesetzt. Dazu wurden die Zellen zentrifugiert, in Aqua bidest. aufgenommen und durch Ultraschallung lysiert. Mit einem photometrischen Enzymtest läßt sich das Gesamtglutathion (GSH + GSSG) sowie nach vorheriger Maskierung des reduzierten Glutathions (GSH) mit 2-Vinylpyridin auch das oxidierte Glutathion (GSSG) allein bestimmen. Durch Bildung eines oxidativen Streßfaktors GSSG/GSH ergibt sich ein Maß für den Redoxstatus der Lungenleukozyten [42, 43].

Von dieser zweiten Spülserie wurde auch eine kleine Probe für Zytopräparate abgenommen und zur Makrophagenzahlbestimmung benutzt. Die restliche BAL-Flüssigkeit wurde zentrifugiert und anschließend für eine Faserzahlbestimmung mit dem REM verwendet (siehe Abschnitt 2.2.5.6). Der Anteil der Makrophagen, der für die Glutathionmessung entnommen worden war, wurde bei der Hochrechnung der Faserzahl auf die gesamte Lungenspülflüssigkeit berücksichtigt.

Nach Beendigung der Spülung wurde die Lunge feinpräpariert und das abprä-

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

parierte Gewebe (Thymus etc.) zurückgewogen (Wägung II). Die Feuchtgewichtsgewichte wurden durch Subtraktion Wägung I minus Wägung II ermittelt.

2.2.6 Durchführung der Prüfung mit intratrachealer Instillation

2.2.6.1 Gruppeneinteilung

In Tabelle 12 ist eine Übersicht über die Versuchsgruppen und die Sektionstermine aufgeführt.

2.2.6.2 Applikation

Die Applikation erfolgte bei weiblichen Wistar-Ratten unter Halothannarkose durch viermalige intratracheale Instillation an vier aufeinanderfolgenden Tagen von je 0,5 mg Fasermaterial, suspendiert in je 0,3 ml einer physiologischen Kochsalzlösung (bei der Gruppe 2 wurde statt dessen wegen der alkalischen Reaktion der Zetwool Tris-Puffer mit pH 7,3 verwendet). Von der verwendeten Fasersuspension wurde für jede Gruppe ein Aliquot von 0,3 ml entnom-

Tabelle 12:
Prüfplan mit Anzahl der Tiere (Prüfung mit intratrachealer Instillation)

Nr.	Gruppe	Dosis [WHO- Fasern]	Anzahl der Tiere für Sektionstermine						Summe
			1 Std.	3 Tage	14 Tage	1 Monat	3 Monate	6 Monate	
1	Kontrolle (NaCl)	—		6	6	6	6	6	30
2	Zetwool ^{a)}	29 · 10 ⁶	6	6	6 (7 Tage)	6	6	6	30
3	Glaswolle C	24 · 10 ⁶		6	6	6	6	6	30
4	Steinwolle HT 7	5,0 · 10 ⁶		6	6	6	6	6	30
5	Glaswolle CS*	1,6 · 10 ⁶		6	6	6	6	6	30
6	Steinwolle HT 7*	1,6 · 10 ⁶		6	6	6	6	6	30
7	Glaswolle TL*	2,0 · 10 ⁶		6	6	6	6	6	30
	Gesamtzahl								210

^{a)} Aus Vorversuchen war bekannt, daß Zetwool-Fasern in Wasser in einem relativ kurzen Zeitraum zerfallen. Deshalb wurden für diese Fasern frühere Sektionstermine eingeplant.

men, mit 10 ml Wasser verdünnt (zum Mischen nur geschüttelt, keine Ultraschallbehandlung) und auf 47-mm-Nucleoporefilter (vorher gewogen) filtriert. Nach dem Trocknen wurden die Filter zurückgewogen, REM-Präparate hergestellt und qualitativ auf das Vorliegen von Faseragglomeraten im REM überprüft.

In einem Vorversuch mit zwei Tieren pro Gruppe wurde die Verträglichkeit der geplanten Prüfsubstanzmenge überprüft.

2.2.6.3 Prüfungsdauer

Die Applikation der Prüfsubstanzen erfolgte vom 25. April bis zum 12. Mai 1995. Die letzte Sektion fand im November 1995 statt. Gegenüber dem ursprünglichen Prüfplan wurde der geplante Sektionstermin zwölf Monate nach Applikation auf sechs Monate vorgezogen, weil die Lungenretentionswerte für WHO-Fasern schon beim Dreimonatstermin im Bereich von 10 bis 36 % des Anfangswertes (drei Tage nach Applikation) lagen.

2.2.6.4 Retentionsmessungen

Zu den in Tabelle 12 angegebenen Terminen wurden Tiere seziiert und

die Lungen herauspräpariert. Nach Trocknung und Plasmaveraschung der Lungen (siehe Abschnitt 2.2.5.6) wurden pro Probe etwa 200 retinierte Fasern in der Lungenasche im REM analysiert.

2.2.7 Durchführung der Prüfung mit intra-peritonealer Injektion

2.2.7.1 Gruppeneinteilung

Über die im Prüfplan vorgesehenen Faserproben liegen zum größten Teil Kanzerogenitätsuntersuchungen nach intraperitonealer Injektion vor (siehe toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung der MAK-Werte für Faserstäube [44]).

In Tabelle 13 (siehe Seite 72) ist eine Übersicht über die Versuchsgruppen und die Sektionstermine aufgeführt.

2.2.7.2. Applikation

Pro Ratte wurden 10 mg der Prüfsubstanzen in 2 ml einer physiologischen Kochsalzlösung suspendiert und einmalig unter Halothannarkose intraperitoneal injiziert.

Tabelle 13:
Prüfplan mit Anzahl der Tiere (Prüfung mit intraperitonealer Injektion)

Nr.	Gruppe	Dosis [WHO- Fasern]	Anzahl der Tiere für Sektionstermine					Summe
			2 Tage	14 Tage	1 Monat	3 Monate	12 Monate	
31	Kontrolle (NaCl)	—	6	6	6	6	6	30
32	Steinwolle MMVF 21	$82 \cdot 10^6$	6	6	6	6	6	30
33	Schlackenwolle MMVF 22	$200 \cdot 10^6$	6	6	6	6	6	30
34	Glaswolle MMVF 11	$70 \cdot 10^6$	6	6	6	6	6	30
35	Keramikfaser RCF 1	$73 \cdot 10^6$	6	6	6	6	6	30
36	Glasfaser B-01-0.9	$192 \cdot 10^6$	6	6	6	6	6	30
	Gesamtzahl							180

2.2.7.3 Prüfungsdauer

Die Applikation der Prüfsubstanzen erfolgte am 9. Mai 1995. Die letzte Sektion fand im Mai 1996 statt.

2.2.7.4 Retentionsmessungen

Zu den in Tabelle 13 angegebenen Terminen wurden Tiere seziiert und das Große Netz herauspräpariert. Die Trocknung und Plasmaveraschung des Großen Netzes und die Analyse der retinierten Fasern in der Gewebsasche im REM er-

folgte analog zur Behandlung des Lungengewebes im Inhalationsversuch (siehe Abschnitt 2.2.5.6).

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Ergebnisse der Inhalationsprüfung

2.3.1.1 Expositionsatmosphäre

Die gemessenen Faserkonzentrationen sind in Tabelle 14 zusammengefaßt, der zeitliche Verlauf ist in Abbildung A 1 (siehe Seite 167 im Anhang) dargestellt.

Die Größenverteilung der Fasern und der Glaskugeln ist in Tabelle 15 (siehe Seite 74) gezeigt. Der massengewichtete aerodynamische Durchmesser im Aerosol ist für alle Faserproben mit einem Medianwert von etwa $6 \mu\text{m}$ relativ ähnlich. Nur bei der Keramikfaser RCF 1 war der Medianwert mit $6,84 \mu\text{m}$ etwas höher und bei den Glaskugeln mit etwa $5 \mu\text{m}$ etwas niedriger. Der aerodynamische Durchmesser ist für das Depositionsverhalten von Partikeln im Respirationstrakt entscheidend. Nach diesen Daten ist für die mit MMVF 21 und B-01-0.9 exponierten Tiere eine ähnliche Depositionsrate zu erwarten, während bei RCF 1 eine etwas geringere Lungendeposition und bei den Glaskugeln eine

geringfügig höhere Depositionsrate angenommen werden muß.

2.3.1.2 Körpergewichtsentwicklung

Die Körpergewichtsentwicklung ist in Abbildung A 2 (Seite 168 im Anhang) dargestellt. Signifikant niedrigere Körpergewichte im Vergleich zur Kontrolle wurden bei der Steinwollgruppe MMVF 21 und den Keramikfasern RCF 1 beobachtet. Da diese Gruppen jedoch mit einem Abstand von sechs Wochen gegenüber den übrigen Gruppen exponiert wurden, wiesen sie andere, in diesem Fall geringere Ausgangsgewichte auf. Bei den festgestellten Signifikanzen dürfte es sich

Tabelle 14:
Konzentration der Fasern in den Expositionskammern

Material	Expositions- dauer	Inhalations- schema	Konzentration [mg/m^3]	Partikeln [1/ml]	WHO-Fasern [1/ml]
Kontrolle (Reinluft)	3 Wochen	15 · 6 Std.	—	—	—
B-01-0.9	1 Woche	5 · 6 Std.	30,1	1 125	723
B-01-0.9	3 Wochen	15 · 6 Std.	38,0	1 324	902
Glaskugeln	3 Wochen	15 · 6 Std.	43,9	5 032	—
Keramikfaser RCF 1	3 Wochen	15 · 6 Std.	51,2	1 298	679
MMVF 21	1 Woche	5 · 6 Std.	38,7	1 113	695
MMVF 21	3 Wochen	15 · 6 Std.	43,8	1 423	879

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Tabelle 15:

Fasergrößenverteilung in den Expositionskammern (angegeben sind die Perzentile der Summenhäufigkeit nach Anzahlgewichtung bzw. Massengewichtung beim aerodynamischen Durchmesser)

Material	Expositions- dauer	Faser- zahl	Verteilung								
			Faserlänge [μm]			Faserdurchmesser [μm]			aerodynamischer Durchmesser [μm]		
			10 %	50 %	90 %	10 %	50 %	90 %	10 %	50 %	90 %
Glaskugeln	3 Wochen	2 819	0,5	0,9	2,2	0,49	0,90	2,17	2,24	5,00	10,00
B-01-0.9	1 Woche	1 068	3,4	7,9	26,1	0,56	0,99	1,55	3,28	5,87	8,88
B-01-0.9	3 Wochen	2 982	3,5	8,6	27,4	0,60	0,95	1,55	3,27	6,04	8,52
MMVF 21	1 Woche	1 041	3,2	7,7	25,4	0,52	0,99	1,59	3,32	5,89	9,26
MMVF 21	3 Wochen	2 439	3,1	7,6	24,6	0,52	0,95	1,68	3,22	5,88	8,90
RCF 1	3 Wochen	2 514	2,4	6,3	22,2	0,34	0,82	1,81	3,68	6,84	10,69

daher nicht um behandlungsbedingte Effekte handeln. In allen Gruppen wurde eine stetige Zunahme des Körpergewichts verzeichnet. Schwankungen zum Ende der Studie hin beruhen auf der dann bereits stark reduzierten Anzahl der Tiere pro Gruppe.

2.3.1.3 Lungenfeuchtgewichte

In Tabelle A 1 (Seite 145 im Anhang) sind die Mittelwerte der Lungenfeuchtgewichte 3, 17, 31, 93 und 365 Tage nach Expositionsende zusammengefaßt, die bei der bronchoalveolären Lavage bestimmt wurden. Bei den Gruppen RCF 1 und MMVF 21 (dreiwöchige

Inhalation) waren die Werte gegenüber der Reinluftkontrolle an den ersten Sektionsterminen leicht erhöht (aber nur am Tag 31 signifikant).

2.3.1.4 Faserretention in der Lunge

Die Größenverteilung der Fasern in den Lungenproben zu den verschiedenen Sektionsterminen im Vergleich zu den Aerosolproben ist in Tabelle A 2 (Seite 146 im Anhang) zusammengefaßt. Es zeigt sich eine deutliche Abnahme der Faserdicke vom Aerosol zu den Fasern in der Lunge beim ersten Sektionstermin. Auch die Faserlänge ist bei allen Faserproben beim ersten Sektionstermin in der

Lunge deutlich geringer als im Aerosol. Für die langen und dicken Fasern ist also die Deposition der Fasern in der Lunge geringer als für die Fasern mit einem Durchmesser $< 1 \mu\text{m}$. Die stärkere Dickenabnahme bei der Glasfaser B-01-0.9 im Vergleich zu MMVF 21 und RCF 1 deutet auf einen zusätzlichen Effekt neben der Deposition hin.

Die Faserretentionsdaten in der Lunge sind in Tabelle A 3 (Seite 147 im Anhang) angegeben. Dabei wurde der Fasergehalt im Sediment der Lungen-spülung berücksichtigt. Ein Vergleich der Faserretention in der Lunge und im Sediment der Lungen-spülung ist in Tabelle A 4 (Seite 148 im Anhang) aufgeführt.

Man erkennt in Tabelle A 3 eine dosis-abhängige Faserretention in den Glasfaser- und Steinwollfasergruppen drei Tage nach Ende der Exposition; die Werte betragen 73 und 141 $\mu\text{g/Lunge}$ bzw. 263 und 641 $\mu\text{g/Lunge}$. In den Steinwollgruppen ist die Retention also etwa um das Vierfache größer. Die Hochdosis-Steinwollgruppe und die Keramikfasergruppe mit 666 $\mu\text{g/Lunge}$ zeigen nahezu gleichhohe Retentionswerte. Die Partikelkontrolle (Glaskugeln) liegt mit 472 $\mu\text{g/Lunge}$ in einem ähnlichen Bereich. Nach 90 Tagen gehen die Retentionswerte in den Glasfasergruppen schon fast gegen Null, in

den anderen Gruppen sind die Werte ebenfalls zurückgegangen.

Die Abnahme der WHO-Faserzahl, der Faserzahl $l > 20 \mu\text{m}$ und der Faser-masse mit der Zeit nach Expositionsende ist in den Abbildungen A 3 bis A 8 (Seite 169 ff. im Anhang) in einer halblogarithmischen Auftragung dargestellt. Bei einem linearen Verlauf kann die Ab-nahme durch eine Kinetik erster Ordnung dargestellt werden.

Die nach dieser Methode berechneten Halbwertszeiten sind in Tabelle 16 aufgeführt (siehe Seite 76).

2.3.1.5 Faserretention in den Lungen-assoziierten Lymphknoten (LALN)

Die Faserretentionsdaten in den Lungen-assoziierten Lymphknoten (LALN) sind in Tabelle A 5 (Seite 149 im Anhang) angegeben. Bei den mit Glasfasern B-01-0.9 exponierten Tieren war die Zahl der in den LALN gefundenen Fasern zu gering (< 10 pro Probe) für eine sinnvolle Auswertung. Bei den Glaskugeln war die in den LALN retinierte Anzahl bei den Sektionsterminen bis zu drei Monaten etwa drei Größenordnungen geringer als in der Lunge. Beim Sektionstermin zwölf Monate nach Expositionsende war die Anzahl in den LALN etwa um den Faktor 100 geringer als in der Lunge.

Tabelle 16:
Halbwertszeiten der Faserelimination (Inhalationsversuch)

Material	Expositions- dauer	Halbwertszeit in Tagen berechnet aus			
		Faserzahl	WHO- Faserzahl	Faserzahl (l > 20 µm)	Fasermasse
		Mittel (95%-VB)	Mittel (95%-VB)	Mittel (95%-VB)	Mittel (95%-VB)
B-01-0.9 ^{a)}	1 Woche	26 (19 - 40)	23 (18 - 32)	3 (2 - 9)	26 (18 - 47)
B-01-0.9 ^{a)}	3 Wochen	40 (28 - 70)	33 (24 - 51)	6 (2 - ∞)	32 (23 - 55)
Glaskugeln	3 Wochen	87 (75 - 105)	—	—	97 (82 - 120)
RCF 1	3 Wochen	102 (90 - 117)	103 (91 - 118)	77 (71 - 84)	89 (77 - 104)
MMVF 21	1 Woche	86 (70 - 112)	82 (67 - 104)	50 (45 - 57)	67 (56 - 84)
MMVF 21	3 Wochen	96 (83 - 115)	96 (82 - 114)	71 (64 - 80)	84 (72 - 100)

^{a)} Auswertebereich nur bis drei Monate (Werte des Zwölfmonatstermins < 1 % der Retentionswerte drei Tage)

Nach der RCF-1-Exposition findet man eine ansteigende Faserzahl bis zum letzten Sektionstermin (zwölf Monate). Beim Zwölfmonatstermin betrug die Zahl der WHO-Fasern in den LALN etwa 13 % des entsprechenden Wertes in der Lunge.

Die Fasergrößenverteilung in den LALN zu den verschiedenen Sektionsterminen ist im Vergleich zu den Fasern im Aerosol und in der Lunge (Sektionstermin drei Tage) in Tabelle A 6 (Seite 150 im Anhang) aufgeführt.

Bei den Glaskugeln ist kein deutlicher Unterschied in der Größenverteilung zwischen LALN und Lunge zu erkennen.

Für RCF 1 und MMVF 21 wurden hinsichtlich der Faserlänge in den LALN deutlich geringere Werte im Vergleich zur Lunge gefunden. Besonders deutlich ist der Unterschied bei den 90- und 99-Perzentilwerten. Die Faserdicke ist in der Lunge und in den LALN sehr ähnlich. Nur die Faserdickenwerte für die 90- und die 99-Perzentile sind in den LALN etwas geringer. Die Ergebnisse zeigen, daß die Translokation von Fasern zu den Lymphknoten mit steigender Faserlänge stark abnimmt. Fasern länger als 15 µm werden in den LALN praktisch nicht gefunden.

2.3.1.6 Faserretention in der Tracheaspülung

Die Fasergrößenverteilung zu den verschiedenen Sektionsterminen im Vergleich zu den entsprechenden Daten in der Lunge ist in Tabelle A 7 (Seite 151 im Anhang) aufgeführt. Eine deutliche Anzahl Fasern (> 10) konnte nur bei den mit RCF 1 und MMVF 21 exponierten Tieren bis zum Sektionstermin ein Monat nach Expositionsende analysiert werden.

Beim Sektionstermin drei Tage nach Ende der dreiwöchigen Inhalation ist die Dicke der Fasern aus der Tracheaspülung sehr ähnlich zu den in der Lunge analysierten Fasern. Bis zum Sektionstermin ein Monat nach Expositionsende findet man bei RCF 1 und MMVF 21 einen starken Anstieg der Faserdicke. Die Faserlänge ist bei RCF 1 bei allen Terminen in der Tracheaspülung größer als in der Lunge; ein Monat nach Inhalationsende sogar wesentlich höher. Bei MMVF 21 ist die Faserlänge in der Tracheaspülung nur beim Termin einen Monat nach Inhalationsende deutlich höher als in der Lunge.

2.3.1.7 Faserretention im Pleuraspalt

Eine histologische Untersuchung der Lunge nach Ablösung der Agarose ergab, daß die Mesothelzellen des Rippenfells

weitgehend abgelöst waren, so daß das subepitheliale Bindegewebe sichtbar wurde. Da in den Pleuraspalt gewanderte Fasern an der obersten Zellschicht anhaften sollten, wurden diese durch den Agaroseabguß zusammen mit den Zellen abgelöst und in der anschließenden Faseranalyse erfaßt.

Bei den Tieren mit dreiwöchiger Inhalation von RCF 1 und MMVF 21 wurden am Sektionstermin drei Monate nach Ende der Exposition nur wenige Fasern gefunden. Der Fasergehalt betrug etwa 0,1 % im Vergleich zur Lunge. Die Größenverteilung ist in Tabelle A 8 (Seite 152 im Anhang) angegeben. Bei der Keramikfaser RCF 1 waren die Fasern im Pleuraabguß länger und geringfügig dünner als in der Lunge. Wegen der geringen untersuchten Faserzahl ist dieses Ergebnis aber nur ein erster Hinweis. Bei MMVF 21 zeigt sich zwischen den Fasern im Pleuraabguß und in der Lunge kein Unterschied in der Größenverteilung.

Bei den mit B-01-0.9 exponierten Tieren konnten keine Fasern im Pleuraabguß nachgewiesen werden.

2.3.1.8 Clearancemessungen

Die Messungen der Makrophagenvermittelten Clearance mit radioaktiv

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

markierten Partikeln ergaben bei den Glasfaser- und Glaskugelgruppen Halbwertszeiten im Bereich der mitgeführten Kontrollen; bei den Steinwollgruppen ist eine leichte dosisabhängige Erhöhung der Halbwertszeiten zu erkennen (siehe Tabelle 17). Die Einzeldaten sind in Abbildung A 9 (Anhang, Seite 175 f.) grafisch dargestellt. Die Keramikfasern führten zu einer sehr starken Verlangsamung der Clearance, der Wert für $T_{1/2}$ von 1200 Tagen stellt eine sehr starke Verminderung der Makrophagen-vermittelten Clearance dar.

2.3.1.9 Bronchoalveoläre Lungenspülung

Biochemische Parameter

Die Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen sind aus Tabelle 18 zu ersehen. Die Werte wurden normiert, d.h. die Kontrollen immer gleich 1,0 gesetzt. Die absoluten Daten sind in den Tabellen A 9 bis A 13 im Anhang (Seite 153 ff.) zusammengefaßt.

Laktatdehydrogenase, γ -Glutamyltransferase und Gesamtprotein waren in den

Tabelle 17:
Übersicht über Ergebnisse der Retentions- und Clearancemessungen

Material	Expositions- dauer	Aerodynamischer Durchmesser des Faseraerosols [μm]		Retinierte Fasermasse nach Ende der Exposition [$\mu\text{g/Lunge}$]		Clearance- Halbwertszeit ^{a)} $T_{1/2}$ [95%-VB] [Tage]
		10 % <	50 % <	Tag 3	Tag 93	
Kontrolle	—	—	—	—	—	66 (58 - 76)
B-01-0.9	1 Woche	3,3	6,0	73	6	55 (46 - 69)
B-01-0.9	3 Wochen	3,3	5,9	141	15	57 (48 - 70)
Glaskugeln	3 Wochen	2,2	5,0	472	141	55 (46 - 68)
RCF 1	3 Wochen	3,7	6,8	666	254	1 200 (573 - ∞)
MMVF 21	1 Woche	3,3	5,9	263	69	68 (55 - 88)
MMVF 21	3 Wochen	3,2	5,9	641	135	102 (85 - 128)

^{a)} Messung mit radioaktiv markierten Sc_2O_3 -Partikeln bei acht Tieren pro Gruppe

Tabelle 18:
 Normierte Daten der bronchoalveolären Lavage (Inhalationsversuch)

BAL-Parameter Kontrolle = 1,00	Tag nach Ende der Exposition	Laktat- dehydro- genase	Gesamt- protein	γ -Glutamyl- transferase	Reduziertes Glutathion	Oxidiertes Glutathion	Oxidativer Streibfaktor ^{a)}
Kontrolle	3, 17, 31, 93, 365	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Glasfasern B-01-0.9	3 17 31	1,23 1,19 1,21	1,29 1,08 1,25	1,35 1,10 1,04	1,43 0,86 1,05	2,71 0,43 0,80	1,80 0,50 0,90
1 Woche	93 365	1,08 0,97	1,07 0,87	1,18 1,16	1,04 0,94	1,36 1,71	1,13 1,65
Glasfasern B-01-0.9	3 17 31	0,96 0,78 1,09	1,07 0,92 1,01	1,03 1,01 1,13	1,11 0,89 0,88	2,64 1,79 1,17	2,28 2,69 1,34
3 Wochen	93 365	1,16 0,98	1,17 0,85	1,30 1,02	1,05 1,08	1,00 1,42	0,80 1,17
Glaskugeln	3 17 31	1,00 0,84 1,12	1,15 0,97 1,07	1,29 0,87 1,16	1,27 0,83 0,93	2,29 0,86 1,00	1,70 1,10 1,17
3 Wochen	93 365	1,09 0,98	1,12 0,96	1,15 0,87	1,08 0,97	1,23 1,19	1,00 1,09
Keramikfasern RCF 1	3 17 31	3,36** 1,69 2,28**	2,71** 1,80** 2,06**	3,97** 2,18** 1,88**	2,59** 1,14 1,52	2,29 1,79 1,50	0,98 2,10 1,28
3 Wochen	93 365	1,72 1,08	1,46 1,04	1,89* 1,32	1,22 0,96	2,55 n.b.	1,66 n.b.
Steinwolle MMVF 21	3 17 31	1,43 1,08 1,96**	1,04 1,17 1,52**	1,67 1,19 1,19	1,99** 0,84 1,19	1,64 2,57 1,13	0,79 3,06 1,03
1 Woche	93 365	1,36 0,89	1,23 0,79	1,56 1,03	0,96 1,05	1,55 n.b.	1,24 n.b.
Steinwolle MMVF 21	3 17 31	1,89** 1,56 1,77**	1,42 1,47 1,56**	3,18** 1,74 1,31	2,42** 1,18 1,35	2,43 3,14* 1,40	1,14 2,96 1,15
3 Wochen	93 365	1,12 0,87	1,22 0,88	1,59 0,95	1,27 1,07	1,27 n.b.	0,76 n.b.

a) = Oxidativer Streifaktor: Oxidiertes Glutathion/reduziertes Glutathion

n.b. = nicht bestimmt

signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrolle: ● P < 0,05; ** P < 0,01 (Dunnett's Test)

Steinwollgruppen teilweise, bei der Keramikfasergruppe durchweg signifikant erhöht. Diese Veränderungen persistierten bis zu einem Monat, bei der γ -Glutamyltransferase auch bis zu drei Monaten in der Keramikfasergruppe. Dagegen wurden in den Glasfasergruppen keine signifikanten Veränderungen beobachtet.

Die Glutathion-Bestimmung in den Alveolarleukozyten lieferte folgenden Befund: Die reduzierte Form war in den Steinwollgruppen und bei den Keramikfasern drei Tage nach Ende der Exposition signifikant erhöht. Die oxidierte Form war an Tag drei ebenfalls, aber nicht signifikant erhöht. Aus diesen Werten, die beide erhöht waren, ergab sich, daß der oxidative Streßfaktor keine signifikanten Effekte in den Behandlungsgruppen zeigte.

Nach 17 Tagen hatten sich die Werte der reduzierten Form fast völlig auf Kontrollniveau normalisiert.

Differentialzellbild

Das Differentialzellbild der Alveolarleukozyten wurde nach 3, 17, 31, 93 und 365 Tagen untersucht. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 9 dargestellt, die Daten wurden in Tabelle A 14 (Seite 158 im Anhang) zusammengefaßt.

Man erkennt signifikant erhöhte Granulozytenanteile in den Gruppen, die MMVF 21 (Tag 3: 4,7 % bzw. 13,4 %) und RCF 1 (Tag 3: 18,9 %) inhaliert hatten. Bei MMVF 21 persistierten diese entzündlichen Veränderungen bis zu einem Monat, bei RCF 1 bis zu drei Monaten. Bei beiden Fasertypen sind außerdem die Lymphozytenwerte bis zu einem Monat signifikant erhöht (höchster Wert bei RCF 1 drei Tage nach Ende der Exposition: 14,5 %).

2.3.1.10 Histopathologie

Durch die Inhalation der Prüfsubstanzen wurden in der Lunge histopathologische Veränderungen in Form von Alveolarhistiozytosen, interstitiellen mononukleären Zellinfiltraten, alveolären Entzündungszellinfiltraten (Granulozyten und mononukleäre Zellen) und mit zunehmender Überlebenszeit der Tiere auch interstitielle Fibrosen induziert (Tabelle A 15, Anhang Seite 159 f.). Diese Veränderungen waren in den verschiedenen Behandlungsgruppen unterschiedlich ausgeprägt. Die interstitielle Fibrose zeigte ein fokales bis multifokales Verteilungsmuster und war von überwiegend sehr geringgradiger (minimaler) bis geringgradiger, selten mittelgradiger Ausprägung. Über alle Untersuchungszeiträume

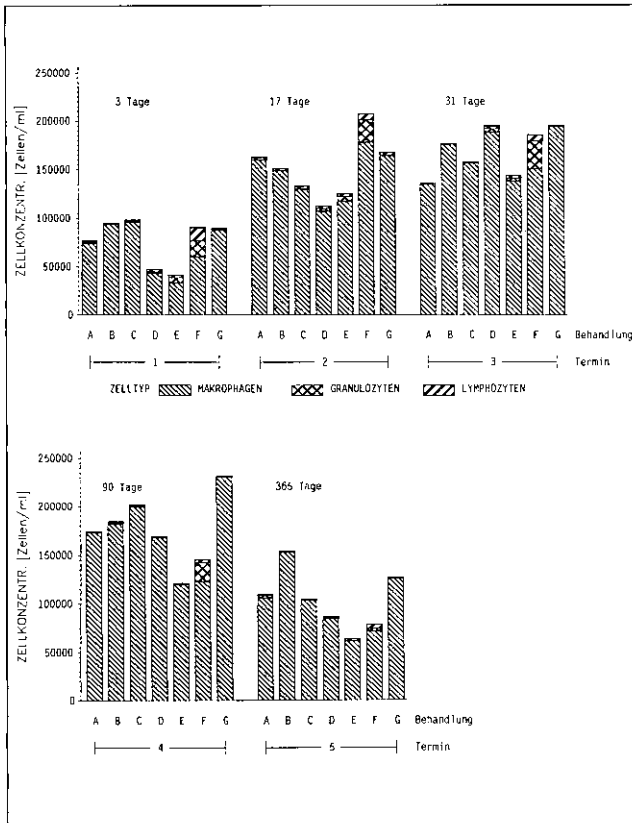


Abbildung 9:
Entzündungsreaktion nach
Faserinhalation — Differential-
bild zu fünf Zeitpunkten nach
Exposition
A: Kontrolle
B: B-01-0.9 (1 Woche)
C: B-01-0.9 (3 Wochen)
D: MMVF 21 (1 Woche)
E: MMVF 21 (3 Wochen)
F: RCF 1 (3 Wochen)
G: Glaskugeln

gemittelt, waren im Vergleich zur Reinluftkontrolle statistisch signifikante Inzidenz-Erhöhungen nur in den Gruppen zu beobachten, die RCF-1-Fasern oder drei Wochen lang MMVF-21-Fasern inhalieren. Weitere behandlungsbedingte Be-

funde waren fokale bronchioloalveoläre und alveoläre Hyperplasien, die bei einzelnen Ratten der MMVF-21-Gruppen auftraten, sowie fokale geringgradige Blutungen und Cholesterinkristallablagerungen bzw. Ausbildung von Choleste-

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

ringgranulomen bei einzelnen Tieren verschiedener Gruppen. Reaktive Hyperplasien der Bronchien-assoziierten Lymphfollikel (BALT) wurden häufig in den B-01-0.9- und den MMVF-21-Gruppen diagnostiziert.

In bezug auf den lichtmikroskopischen (polarisationsoptischen) Nachweis von Fasern in der Lunge und deren Lokalisation ergab sich folgendes Bild:

Gruppe 23 (B-01-0.9, drei Wochen Inhalation)

Bei den Tieren, die drei und zwölf Monate nach der Inhalation getötet wurden, konnten keine Fasern mehr in der Lunge festgestellt werden.

Gruppe 25 (Keramikfaser RCF 1)

Sowohl drei Monate als auch zwölf Monate post inhalationem waren in geringgradigem Umfang Fasern in alveolären Makrophagen nachweisbar. Darüber hinaus fanden sich Fasern sowohl zell-assoziiert (wahrscheinlich interstitielle Makrophagen) als auch freiliegend (in fibrosierten Arealen) im Interstitium. In minimaler Anzahl und zellassoziiert waren Fasern gelegentlich auch im Bereich der BALT lokalisiert.

Gruppe 27 (MMVF 21, drei Wochen Inhalation)

Fasern waren nach drei und zwölf Monaten im Anschluß an die Inhalation in sehr geringgradiger (minimaler) Menge in Alveolarmakrophagen nachweisbar. Im Unterschied zur Gruppe 25 konnten Fasern im Interstitium nur zell-assoziiert und ebenfalls in sehr geringgradiger (minimaler) Anzahl vorgefunden werden.

2.3.2 Ergebnisse der Prüfung mit intratrachealer Instillation

2.3.2.1 Körpergewichtsentwicklung

Die Körpergewichtsentwicklung ist in Abbildung A 10 (Seite 177 im Anhang) dargestellt. In allen Gruppen wurde eine stetige Zunahme des Körpergewichts verzeichnet. Schwankungen zum Ende der Studie hin beruhen auf der dann bereits stark reduzierten Anzahl der Tiere pro Gruppe.

2.3.2.2 Lungenfeuchtgewichte

In Tabelle A 16 (Seite 161 im Anhang) sind die Mittelwerte der Lungenfeuchtgewichte zu den verschiedenen Sektionsterminen zusammengefaßt. Signi-

fikant erhöhte Werte gegenüber der Kontrolle wurden bei den mit Zetwool und den mit Steinwolle HT 7 behandelten Tieren festgestellt.

2.3.2.3 Faserretention in der Lunge

Die Größenverteilung der Fasern in den Lungenproben, die zu den verschiedenen Sektionsterminen gewonnen wurden, ist im Vergleich zu den instillierten Faserproben in Tabelle A 17 (Seite 162 im Anhang) zusammengefaßt.

Ein Vergleich zwischen den Fasern im instillierten Ausgangsmaterial und in der Lunge beim ersten Sektionstermin ergibt keine deutliche Veränderung von Faserdicke oder Faserlänge für die Gruppen Zetwool und Steinwolle HT 7, während man bei der Glaswolle C eine deutliche Abnahme von Faserdicke und Faserlänge schon drei Tage nach der letzten Instillation findet.

Bei den dickeren Faserproben Steinwolle HT 7* und Glaswolle TL* findet man eine deutliche Abnahme der Medianwerte von Faserdicke und Faserlänge schon drei Tage nach der letzten Instillation. Bei der dicken Glaswolle CS* ergibt sich nur für die 90- und 99-Perzentile von Faserlänge und Faserdicke eine erhebliche Verringerung bis zum Dreitages-Sektionstermin.

In den sechs Monaten (bei Zetwool drei Monate) nach Applikation ergibt sich für Zetwool und Steinwolle HT 7 eine Zunahme der Faserdicke, während die Faserlänge nahezu konstant bleibt. Bei der Glaswolle C zeigt sich eine Zunahme der Faserdicke (besonders nach dem Einmonats-Sektionstermin) und eine Abnahme der Faserlänge (90- und 99-Perzentile). Bei der dickeren Glaswolle CS* findet man ebenfalls die Abnahme der Faserlänge, die Faserdicke ändert sich aber kaum mit der Zeit. Bei der dicken Glaswolle TL* bleibt die Faserlänge nahezu konstant, und die Faserdicke nimmt geringfügig zu.

Die Faserretentionsdaten in der Lunge sind in Tabelle A 18 (Seite 163 im Anhang) aufgeführt. Die Abnahme der WHO-Faserzahl, der Faserzahl $l < 20 \mu\text{m}$ und der Fasermasse mit der Zeit nach der letzten intratrachealen Instillation ist in den Abbildungen A 11 bis A 16 (Seite 178 ff. im Anhang) in einer halblogarithmischen Auftragung dargestellt. Bei einem linearen Verlauf in diesen Darstellungen kann die Abnahme durch eine Kinetik erster Ordnung dargestellt werden.

Die nach dieser Methode berechneten Halbwertszeiten sind in Tabelle 19 (siehe Seite 84) dargestellt.

Tabelle 19:
Halbwertszeiten der Faserelimination (Intratrachealversuch)

Material	Halbwertszeit in Tagen berechnet aus				
	Faserzahl Mittel (95%-VB)	WHO-Faserzahl Mittel (95%-VB)	Faserzahl (! > 20 μm) Mittel (95%-VB)	Fasermasse Mittel (95%-VB)	Partikelmasse Mittel (95%-VB)
Zetwool	68 (52 - 97)	82 (62 - 124)	68 (50 - 106)	60 (38 - 133)	60 (40 - 117)
Glaswolle C	30 (27 - 34)	28 (25 - 31)	16 (13 - 20)	29 (25 - 33)	29 (25 - 34)
Steinwolle HT 7	63 (56 - 71)	64 (58 - 71)	61 (55 - 68)	66 (59 - 74)	48 (43 - 55)
Glaswolle CS*	38 (42 - 46)	37 (31 - 46)	24 (21 - 29)	26 (21 - 33)	26 (21 - 33)
Glaswolle TL*	115 (89 - 161)	141 (102 - 230)	114 (87 - 166)	103 (76 - 156)	101 (75 - 153)

Begründung für das Verwerfen der Ergebnisse mit Faser HT 7*

Es wurde eine Analyse der Abtransportkinetik für verschiedene Dickenfraktionen durchgeführt. Vergleicht man die Glaswollen C und CS* sowie die Steinwollen HT 7 und HT 7* für die Dickenfraktionen < 5 μm , 0,5 bis 1 μm , 1 bis 1,5 μm , 1,5 bis 2 μm , 2 bis 3 μm und > 3 μm , so ergeben sich die in Tabelle 20 dargestellten Ergebnisse.

Für die Glaswolle C und die dickere Probe CS* wurden bei allen Dickenfraktionen in etwa vergleichbare Halbwertszeiten beobachtet, die entsprechenden Vertrauensbereiche sind überlappend. Beim Vergleich von Steinwolle HT 7 und HT 7* ergeben sich nur für die

Dickenfraktion < 0,5 μm gleiche Halbwertszeiten, für alle weiteren ergeben sich jeweils für die HT 7* wesentlich größere Halbwertszeiten. Worauf beruht dieses unterschiedliche Verhalten gleich dicker Fasern in den beiden Faserproben?

Die Faserlänge in den gleichen Dickenfraktionen (siehe Tabelle 21) ist bei der Probe HT 7* größer als bei HT 7 (bei Faser CS* war die Faserlänge bei gleichen Dickenfraktionen im Vergleich zu Faser C sehr ähnlich).

1. Durch die größere Faserlänge wird die Auflösung stark beeinträchtigt (Fasern passen nicht mehr in Makrophagen).

Tabelle 20:
Halbwertszeiten der Faserelimination in Tagen für verschiedene Dickenfraktionen
(Intratrachealversuch)

Dickenfraktion [µm]	Halbwertszeit [Mittelwert und 95%-Vertrauensbereich in Tagen]					
	Glaswolle C	Glaswolle CS*	Steinwolle HT 7	Steinwolle HT 7*	Glaswolle TL	Glaswolle TL*
< 0,5	26 (24 - 30)	35 (25 - 56)	56 (41 - 87)	50 (35 - 86)	240 (194 - 316)	78 (57 - 120)
0,5 - 1	39 (33 - 49)	40 (34 - 50)	45 (39 - 51)	90 (65 - 149)	173 (149 - 207)	124 (90 - 199)
1 - 1,5	35 (29 - 45)	44 (36 - 58)	61 (53 - 73)	246 (145 - 813)	147 (127 - 173)	162 (93 - 635)
1,5 - 2	49 (32 - 103)	40 (31 - 58)	72 (59 - 93)	∞ (373 - ∞)	150 (117 - 209)	116 (82 - 195)
2 - 3	48 (27 - 201)	41 (32 - 56)	108 (82 - 158)	∞ (985 - ∞)	127 (98 - 179)	170 (111 - 363)
> 3	23 (16 - 42)	31 (22 - 56)	102 (76 - 155)	∞ (780 - ∞)	∞ (182 - ∞)	167 (106 - 393)

Tabelle 21:
Medianwert der Faserlänge für verschiedene Dickenfraktionen (Intratrachealversuch)

Dickenfraktion [µm]	Faserlänge in der Lungenasche am Sektionstermin 3 Tage [Medianwert in µm]					
	Glaswolle C	Glaswolle CS*	Steinwolle HT 7	Steinwolle HT 7*	Glaswolle TL	Glaswolle TL*
< 0,5	4,0	8,5	3,5	7,9	3,7	5,0
0,5 - 1	7,0	11,3	5,6	7,4	7,0	6,6
1 - 1,5	9,8	12,6	6,4	11,3	11,2	11,7
1,5 - 2	17,3	15,0	13,3	20,9	12,6	15,8
2 - 3	17,9	18,1	15,1	24,6	19,9	24,6
> 3	30,6	23,2	29,8	47,7	23,3	34,0

2. Durch den Anteil an sehr langen Fasern ($l > 100 \mu\text{m}$, einige Fasern sind länger als $500 \mu\text{m}$) bilden sich wahrscheinlich Agglomerate in den Bronchien oder Bronchiolen, so daß die meisten, insbesondere die längeren und dickeren Fasern nicht in den Alveolarbereich gelangen. In der Instillationssuspension waren diese Agglomerate jedoch nicht nachweisbar. Solche Agglomerate können wahrscheinlich nur durch Husten, nicht aber durch die mucoziläre Clearance beseitigt werden. Drei Tage nach der vierten Instillation findet man nur noch etwa 25 % der instillierten Fasermasse und etwa 50 % der instillierten Faserzahl in der Lunge wieder. Diese nach drei Tagen in der Lunge reifinierten Fasern sind deutlich kürzer und dünner als die Fasern in der instillierten Fasersuspension. Möglicherweise haben sich an größeren Bifurkationen einzelne Agglomerate gebildet, die vermehrt lange dicke Fasern enthalten. Solche pfropfenartigen Faseragglomerate könnten zur Verstopfung von Bronchien führen und durch Heraushusten der umliegenden Schleimschicht entfernt werden. Bei der dicken Glaswolle TL* hat zwar die Faserlänge und die Faserdicke deutlich abgenommen, hier ist aber die Faserzahl gegenüber der instillierten Faserzahl

nur geringfügig verringert (die Fasermasse beträgt auch etwa 25 % der instillierten Masse).

Bei Inhalation würden solche Fasern in der Nase zurückgehalten. Agglomerate im Bronchialbereich würden auch nur geringfügig mit dem Medium der Mucusschicht in Berührung kommen, so daß die Löslichkeit nur sehr gering sein kann.

Daraus kann man schließen, daß die Faserprobe HT 7* einem anderen Milieu in der Lunge ausgesetzt ist als die dünnere Faserprobe HT 7.

2.3.3 Ergebnisse der Prüfung mit intraperitonealer Injektion

2.3.3.1 Körpergewichtsentwicklung

Die Körpergewichtsentwicklung ist in Abbildung A 17 auf Seite 184 im Anhang dargestellt. In allen Gruppen wurde eine stetige Zunahme des Körpergewichts verzeichnet. Schwankungen zum Ende der Studie hin beruhen auf der dann bereits stark reduzierten Anzahl der Tiere pro Gruppe.

2.3.3.2 Feuchtgewichte des Großen Netzes (Omentum maius)

In Tabelle A 19 (Seite 164 im Anhang) sind die Mittelwerte der Feuchtgewichte

des Großen Netzes aufgeführt. Diese Gewichte schwanken sehr stark bei den einzelnen Tieren, weil die Menge des anhaftenden Fettgewebes sehr unterschiedlich ist. Für die Untersuchung der Faserretention ist dieser Umstand aber nicht von Bedeutung. Einzelne Signifikanzen in der Tabelle 19 sind vermutlich zufällig und nicht behandlungsbedingt.

2.3.3.3 Faserretention im Großen Netz

Die Größenverteilung der Fasern in den Proben des Großen Netzes zu den verschiedenen Sektionsterminen im Vergleich zu den injizierten Faserproben ist in Tabelle A 20 (Seite 165 im Anhang) zusammengefaßt. Bei B-01-0.9 zeigt sich eine sehr starke Abnahme der Faserdicke vom injizierten Ausgangsmaterial zu den Fasern im Großen Netz beim ersten Sektionstermin. Bei den anderen Fasermaterialien ist weder bei der Faserdicke noch bei der Faserlänge eine deutliche Veränderung zwischen Ausgangsmaterial und erstem Sektionstermin zu erkennen. Bei der Faserprobe MMVF 22 zeigt sich eine deutliche Abnahme der Faserdicke und eine leichte Abnahme der Faserlänge mit der Zeit nach Durchführung der Faserapplikation. Bei den übrigen Faserproben sind die Unterschiede in Faserlänge und Faserdicke zwischen den verschiedenen Sektionsterminen nur gering.

Die Faserretentionsdaten im Großen Netz sind in Tabelle A 21 (Seite 166 im Anhang) angegeben. Die Abnahme der WHO-Faserzahl, der Faserzahl $l > 20 \mu\text{m}$ und der Fasermasse mit der Zeit nach der intraperitonealen Injektion sind in den Abbildungen A 18 bis A 22 (Seite 185 ff.) in einer halblogarithmischen Auftragung dargestellt. Bei einem linearen Verlauf kann die Abnahme durch eine Kinetik 1. Ordnung in diesen Darstellungen gezeigt werden. Bei der Auswertung wurden einige extreme Ausreißer nicht berücksichtigt. Die Standardabweichungen bei Tieren, die der gleichen Faserart ausgesetzt waren und des gleichen Sektionstermins, sind wesentlich größer als bei den entsprechenden Untersuchungen nach intratrachealer Instillation oder nach Inhalation. Zum Teil steigt die berechnete Fasermasse vom Sektionstermin zwei Tage bis zum Termin 14 Tage noch an. Beim 14-Tage-Termin findet man für alle Gruppen außer B-01-0.9 etwa 20 bis 30 % der injizierten Fasermasse. Dies ist ein Anzeichen dafür, daß das Große Netz für Retentionsmessungen nach intraperitonealer Injektion relativ gut geeignet ist.

Bei der Glasfaser B-01-0.9 waren beim Sektionstermin zwei Tage nach Applikation nur etwa 1,5 % und nach 14 Tagen nur 0,5 % der injizierten Fasermasse im Großen Netz nachweisbar. Die Zahl der WHO-Fasern zwei Tage nach Applika-

2 In-vivo-Untersuchungen

tion betrug etwa 5 % der applizierten Zahl. Der größere Massenverlust ist auf die starke Abnahme der Faserdicke zurückzuführen. Diese Befunde deuten auf eine sehr schnelle Auflösung der B-01-0.9-Fasern im leicht alkalischen Milieu des Bauchraumes hin. Ein ähnlicher Massenverlust bei gleichzeitiger Abnahme der Faserdicke wurde für leichtlösliche Glasfasern auch in den ersten Tagen nach intratrachealer Instillation und nach Kurzzeitinhalation gefunden.

Aus diesen Retentionsdaten wurden unter Annahme einer Kinetik 1. Ordnung Halbwertszeiten berechnet (siehe Tabelle 22). Wegen der größeren Streuung

der Meßwerte im Vergleich zur Intratrachealmethode sind die Vertrauensbereiche bei dieser Analyse nach intraperitonealer Injektion wesentlich größer.

2.3.4 Ergebnisse aus früheren Prüfungen mit intratrachealer Instillation

In diesem Abschnitt werden einige Ergebnisse aus früheren Biobeständigkeitsuntersuchungen des Fraunhofer ITA aufgeführt, die für eine Korrelation von In-vivo-Daten mit In-vitro-Daten und mit dem KI-Wert in diesem Bericht benutzt werden.

In Tabelle 23 sind die Größenverteilungsdaten und in Tabelle 24 (siehe

Tabelle 22:
Halbwertszeiten der Faserelimination (Intraperitonealversuch)

Material	Halbwertszeit berechnet aus			
	Faserzahl	WHO-Faserzahl	Faserzahl (l > 20 µm)	Fasermasse
	Mittel {95%-VB}	Mittel {95%-VB}	Mittel {95%-VB}	Mittel {95%-VB}
MMVF 21	324 (180 - 1 611)	377 (190 - 20 349)	364 (191 - 3 968)	512 (229 - ∞)
MMVF 22	116 (85 - 179)	93 (72 - 131)	62 (51 - 79)	67 (55 - 86)
MMVF 11	158 (118 - 240)	165 (120 - 262)	147 (108 - 229)	193 (133 - 351)
RCF 1	313 (174 - 1 593)	371 (193 - 4 743)	410 (200 - 7 953)	302 (172 - 1 243)
B-01-0.9 ^{a)}	25 (16 - 52)	26 (17 - 55)	20 (14 - 39)	29 (18 - 68)

^{a)} Auswertung nur bis zum Sektionstermin drei Monate (beim Zwölfmonatstermin waren die Meßwerte < 5 % der Werte vom Dreitagstermin)

Seite 90) die applizierte Dosis und die berechneten Halbwertszeiten für diese Faserproben zusammengestellt. Die für die Korrelation mit den In-vitro-Daten verwendeten Dickenmedianwerte $d_{50,A}$ unterscheiden sich geringfügig von den hier angegebenen 50-Perzentilen der Faserdicke, weil für die In-vitro-Vergleiche auch die Faserbruchstücke mit Länge/Dicke $< 3/1$ berücksichtigt wurden. Bei den Faserproben MMVF 11, RCF 1 und B-01-0.9 wurden für die In-vitro-Untersuchungen andere Batch-

Materialien verwendet als bei den früheren Intratracheal-Tests, weil die alten Faserproben nicht in ausreichender Menge verfügbar waren. Für die In-vitro-Untersuchungen wurden dieselben Batch-Materialien wie für die Intraperitoneal-Untersuchungen in diesem Bericht benutzt (Größenverteilungsdaten siehe Tabelle 9, Seite 57). Bei den neuen Materialien war der Medianwert des Durchmessers für RCF 1 etwas größer und für MMVF 11 etwas kleiner als bei den älteren Faserproben.

Tabelle 23:

Fasergrößenverteilung der in früheren Prüfungen (i.tr. Inst.) verwendeten Faserproben (angegeben sind die Perzentile der Summenhäufigkeit nach Anzahlgewichtung bzw. Massengewichtung beim aerodynamischen Durchmesser für alle Fasern [$l/d > 3/1$])

Material	Faserzahl	Verteilung							
		Faserlänge [μm]				Faserdurchmesser [μm]			
		10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %
MMVF 11	414	4,6	13,5	38,2	99,0	0,26	0,94	2,05	4,51
Glaswolle TL	386	1,8	6,5	27,0	76,4	0,21	0,51	1,44	3,00
X 607	390	5,6	21,8	63,8	153,8	0,38	1,50	3,75	6,25
M-Steinwolle	446	3,6	8,8	25,1	75,1	0,39	0,84	1,68	2,52
MMVF 22	436	3,3	7,8	24,3	68,7	0,38	0,77	1,35	2,31
RCF 1	392	3,7	8,8	34,3	104,6	0,26	0,85	1,87	3,32
B-01-0.9	412	2,8	8,2	32,7	104,3	0,32	0,70	1,18	2,35
MMVF 21	429	2,5	5,0	14,0	34,0	0,38	0,70	1,21	1,90
HT 3	407	3,2	8,4	23,2	71,0	0,43	0,94	1,70	2,31
Exp 3	413	5,3	15,4	49,5	121,3	0,43	1,11	2,31	3,66
Wollastonit	276	2,0	4,3	12,4		0,34	0,85	1,79	

Tabelle 24:
Halbwertszeiten der Faserelimination aus früheren Prüfungen (i.fr. Inst.)

Material	Dosis [mg]	Halbwertszeit in Tagen berechnet aus			
		Faserzahl Mittel (95%-VB)	WHO-Faserzahl Mittel (95%-VB)	Faserzahl ($l > 20 \mu\text{m}$) Mittel (95%-VB)	Fasermasse Mittel (95%-VB)
MMVF 11	2	217 (186 - 258)	199 (172 - 235)	107 (93 - 126)	126 (113 - 144)
Glaswolle TL	2	199 (171 - 238)	188 (163 - 220)	66 (55 - 81)	113 (104 - 125)
X 607	2	46 (41 - 53)	46 (40 - 54)	39 (33 - 46)	49 (40 - 63)
M-Steinwolle	1	122 (113 - 133)	116 (108 - 126)	82 (75 - 92)	106 (96 - 118)
MMVF 22	1	82 (74 - 92)	81 (75 - 89)	66 (56 - 81)	60 (54 - 69)
RCF 1	2	341 (291 - 413)	343 (291 - 416)	300 (256 - 363)	270 (235 - 317)
B-01-0.9	0,35	33 (28 - 41)	32 (26 - 45)	9 (7 - 11)	29 (24 - 37)
MMVF 21	2	325 (257 - 443)	326 (266 - 421)	196 (164 - 243)	253 (206 - 327)
HT 3	2	110 (118 - 145)	110 (101 - 120)	109 (98 - 122)	147 (132 - 165)
Exp 3	2	33 (30 - 37)	32 (29 - 36)	22 (18 - 28)	31 (28 - 36)
Wollastonit	2	17 (15 - 18)	18 (16 - 22)		

2.4 Diskussion

2.4.1 Anforderungen an das Testsystem

Das eigentliche Ziel dieses Projektes war, Testmethoden zu entwickeln, die eine Aussage über das Akkumulationspotential von künstlichen Mineralfasern nach chronischer inhalativer Exposition beim Menschen erlauben. Dieses Ziel kann bei der Verwendung von tier-

experimentellen Methoden nur teilweise erreicht werden; es sollte aber möglich sein, Abschätzungen über die Größe wesentlicher Abweichungen zwischen Mensch und Tier vorzunehmen. Da bezüglich Asbest Informationen bei beiden Spezies vorliegen, soll zunächst darauf eingegangen werden.

Wie aus Studien nach Amphibolasbest-Exposition bekannt war, war einer der

Gründe für die aufgetretene kanzerogene Wirkung die hohe Biopersistenz dieser Fasern. Definiert man die Dosis als das Zeitintegral der effektiven Konzentration eines Materials, das am Wirkungsort präsent ist, dann ist ersichtlich, daß alle Mechanismen, die zu einer hohen Persistenz führen, die Dosis erhöhen und damit die potentielle Wirkung.

Eine der Ausgangsfragen, die in diesem Projekt zu stellen war, war die, wie die Aussagekraft von Methoden zur Biopersistenzbestimmung nach Kurzzeitexposition bei Ratten zu beurteilen ist, wenn man berücksichtigt, daß die Exposition des Menschen gegenüber Mineralfasern in der Regel chronisch ist.

Für die Klärung dieser Fragen ist eine Betrachtung der Toxikokinetik bei beiden Spezies notwendig.

2.4.2 Deposition und Clearance von Fasern nach Inhalation

Inhalierter Partikel werden in den Kompartimenten des Respirationstraktes (Nasopharynx, tracheobronchialer Bereich, pulmonaler Bereich i.e. respiratorische Bronchiolen und Alveolen) in Abhängigkeit vom aerodynamischen Durchmesser in unterschiedlichem Maße abgeschieden. Bei der Kinetik des Parti-

keltransports aus der Lunge stellt die alveoläre Partikelclearance von schwerlöslichen oder unlöslichen Partikeln den langsamsten Prozeß dar [45].

Berechnungen von Yu und Asgharian [46] zeigen, daß Fasern mit einer Länge $> 20 \mu\text{m}$ durch den Mechanismus der Interzeption eine relativ hohe Depositionsrate im tracheobronchialen Bereich der Lunge aufweisen. Für Ratten wurde eine fünffach höhere Depositionswahrscheinlichkeit in den mit Zilien versehenen Atemwegen abgeschätzt im Vergleich zu dem alveolären Bereich (für Fasern mit einer Länge $> 20 \mu\text{m}$, einer Dicke von $1 \mu\text{m}$ und einer Dichte von 1 g/cm^3). Daher muß die Clearance aus diesem Bereich bei der Entwicklung von Testmethoden berücksichtigt werden.

Die Prozesse, die für die Entfernung von Fasern aus der Lunge wesentlich sind, sind in der Abbildung 10 (siehe Seite 92) illustriert. Die Faserclearance ist als ein Prozeß dargestellt, der einer Kinetik erster Ordnung folgt. Dieser Ansatz ist zwar vereinfacht, da z.B. eine zweiphasige Kinetik in vielen Fällen eine präzisere Beschreibung ermöglicht und weiterhin nur von einem einheitlichen Lungenkompartiment ausgegangen wird, aber zur Erklärung der zugrunde liegenden Phänomene ist dieser Ansatz ausreichend.

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Abbildung 10:
Prinzipien der Faserelimination aus der Lunge

<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> $\frac{dm}{dt} = - k \cdot m \quad (2)$ </div> <p style="text-align: right; margin-right: 20px;">(vereinfacht)</p>		
<p>$k = k_{clear} \quad +$</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Transport durch ziliäre Clearance, Makrophagen-vermittelte Clearance, lymphatische Clearance</p> <p>Faktoren: Faserdurchmesser Faserlänge retinierte Fasermasse in Lungen Expositionsdauer</p>	<p>$k_{Diss} \quad +$</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Auflösung von Fasern</p> <p>Faktoren: Anteil von Fasern innerhalb oder außerhalb von Makrophagen (pH) Fasertyp Faserdurchmesser Faserlänge</p>	<p>$k_{Zerfall} \quad (3)$</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Brechen und Zerfall von Fasern</p> <p>Faktoren: Fasertyp Faserlänge</p>
<p>Abkürzungen: m: retinierte Fasermasse k: Geschwindigkeitskonstante der Clearance t: Zeit</p>		

Die Geschwindigkeitskonstante k für den gesamten beobachteten Abtransport von Fasern aus der Lunge läßt sich in verschiedenen Anteilen darstellen. k_{clear} beschreibt den physikalischen Abtransport nicht gelöster Partikeln durch ziliäre, Makrophagen-vermittelte und lymphatische Clearance. k_{Diss} umfaßt den Anteil, der durch Auflösung von Fasern aus der Lunge verschwindet, und k_{Zerfall} beschreibt schließlich den Anteil, der nach Zerfall oder Korrosion von Fasern in nicht faserförmige Partikeln entsteht. Der relative Anteil, der diesen drei Prozessen zukommt, ist abhängig von Fak-

toren wie Dicke und Länge der verwendeten Fasern und der retinierten Fasermasse (siehe Abbildung 10). Weiterhin ist zu beachten, daß sowohl die ziliäre als auch die Makrophagen-vermittelte Clearance bei der Ratte schneller verläuft als beim Menschen [45].

Bei fortdauernder Exposition ist sowohl Deposition als auch Clearance zu berücksichtigen. Dieser Zusammenhang läßt sich für Partikeln mit geringer Löslichkeit in einem Kinetikmodell 1. Ordnung beschreiben [47].

$$\frac{dm_r}{dt} = m_D - k \cdot m_r$$

- (4) m_r : retinierte Masse in der Lunge
 t : Zeit
 m_D : deponierte Masse pro Zeit
 k : Clearance-Faktor

Die deponierte Masse in der Lunge pro Zeit ist:

$$m_D = f \cdot c \cdot V$$

- (5) f : Fraktion der Massendeposition
 c : Expositionskonzentration
 V : eingeatmetes Volumen pro Zeit

Nach einer Expositionszeit t_e beträgt die retinierte Masse $m_{r,e}$ nach diesem Modell:

$$m_{r,e} = \frac{m_D}{k} (1 - e^{-kt_e})$$

Die retinierte Masse im Gleichgewichtszustand $m_{r,gl}$ ist:

$$m_{r,gl} = \frac{m_D}{k} = \frac{m_D \cdot T_{1/2}}{\ln 2}$$

wobei $T_{1/2}$ die Halbwertszeit der Lungenreinigung angibt

$$k = \frac{\ln 2}{T_{1/2}}$$

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Um zu einer genaueren Beschreibung des Abtransports deponierter Fasern aus den Atemwegen zu gelangen, muß auf den tracheobronchialen (TB) und den alveolären (A) Bereich getrennt eingegangen werden.

Die im Fließgleichgewicht im tracheobronchialen Bereich sich befindende Masse $m_{TB,gl}$ ist

$$m_{TB,gl} = \frac{m_{D,TB}}{k_{TB}} = \frac{m_{D,TB} \cdot T_{1/2,TB}}{\ln 2} \quad (9)$$

und der analoge Wert für den alveolären Bereich $m_{A,gl}$ ist

$$m_{A,gl} = \frac{m_{D,A}}{k_A} = \frac{m_{D,A} \cdot T_{1/2,A}}{\ln 2} \quad (10)$$

Wird im Idealfall eine schnelle Clearance ($T_{1/2,TB} \sim 5$ Stunden) aus dem tracheobronchialen Bereich und aus dem alveolären Bereich ein $T_{1/2,A} \sim 60$ Tage angenommen, dann ergibt sich

$$m_{TB,gl} \ll m_{A,gl}$$

auch wenn die Deposition im tracheobronchialen Bereich ca. fünfmal höher ist als im alveolären Bereich [46].

Es ist zu prüfen, ob diese Voraussetzungen für mineralische Fasern erfüllt sind.

Nach neuen Ergebnissen von Scheuch et al. [48] wird ein Teil inhalierter isometrischer Partikeln nur langsam aus dem tracheobronchialen Kompartiment entfernt, mit Halbwertszeiten zwischen sieben und 30 Tagen für den Menschen. Entsprechende Untersuchungen für die Ratte sind nicht bekannt; aber auch hier

sollte man von einem Vorliegen eines langsamen Anteils ausgehen.

Da nicht angenommen werden kann, daß faserförmige unlösliche Partikeln schneller als isometrische Partikeln aus dem tracheobronchialen Kompartiment entfernt werden, dürfte die Halbwertszeit aus dem tracheobronchialen Bereich für Fasern noch größer sein.

Um eine Abschätzung der zu erwartenden Größenordnungen vornehmen zu können, wird von einer langsamen Komponente an der Halbwertszeit von zehn Tagen und einem Anteil von 50 % an der Gesamtclearance ausgegangen.

Aus diesen Betrachtungen ist ersichtlich, daß für eine Halbwertszeit von ca. zehn Tagen die Annahme $m_{TB} \ll m_A$ nicht mehr gilt.

Die obigen Überlegungen gelten für unlösliche Fasern. Da aber in den vorgesehenen Testsystemen auch Fasern mit Halbwertszeiten der gesamten Lungen-clearance von 30 Tagen geprüft werden sollen, ist zu ersehen, daß die langsame Phase der ziliären Clearance im gleichen Zeitbereich liegt.

Als Ausweg bietet sich die intratracheale Applikationsform von Fasern an, bei der bei einer Dosis von 2 mg die Makrophagen-vermittelte Clearance langsam ist und die ziliäre Clearance nicht so sehr ins Gewicht fällt, da bei Applikation einer wäßrigen Suspension die Abscheidung von Fasern im tracheobronchialen Bereich kleiner ist als bei der Inhalation luftgetragener Fasern. Dieser Unterschied beruht darauf, daß das Medium Wasser eine etwa 100mal höhere Viskosität als Luft besitzt, und dadurch die Deposition von Partikeln im tracheobronchialen Bereich durch Sedimentation und durch Impaktion in wäßrigem Medium wesentlich geringer ist als im Luftstrom.

Eine weitere Möglichkeit, den Einfluß der ziliären Clearance zu verringern, ist eine Verlängerung der Expositionszeit. Geht man davon aus, daß das Gleichgewicht m_{TB} sich schneller als m_A einstellt, könnte z.B. nach einer 90tägigen Exposition die Bedingung $m_{TB} \ll m_A$ eher eingestellt sein. Aber auch das hängt von der Auf-

lösungsgeschwindigkeit der jeweils zu testenden Faser ab.

Bernstein et al. [21] stellen die Hypothese auf, daß man den physikalischen Abtransport der Fasern vernachlässigen kann, wenn man nur die Clearance-daten der Fasern $l > 20 \mu\text{m}$ aus Kurzzeitinhalationsexperimenten verwendet. Die Begründung für diese Hypothese ist, daß die Makrophagen-vermittelte Clearance diese Ergebnisse nicht beeinflussen sollte, weil die Fasern zu lang sind, um vollständig phagozytiert zu werden.

Die Makrophagen-vermittelte Clearance ist in der Tat ein Prozeß, der einen wesentlichen Unterschied zwischen Biopersistenz und Biobeständigkeit bewirkt. Die Biobeständigkeit wird nur durch die Auflösung oder den Zerfall der Fasern bestimmt. Durch die Beschränkung auf die Faserlängenfraktion $> 20 \mu\text{m}$ wird der physikalische Transport durch Makrophagen weitgehend ausgeschlossen.

Wie bereits oben dargestellt, haben andererseits Fasern $l > 20 \mu\text{m}$ aber eine wesentlich größere Depositionswahrscheinlichkeit in den zilierten Atemwegen. Lehnert und Oberdörster [49] haben gezeigt, daß die Mucus-Schicht in den oberen Atemwegen in manchen Bereichen Lücken aufweist.

Dies ist ein weiterer Hinweis, daß die Ergebnisse der Kurzzeitclearance durch eine relativ langsame Clearance aus dem Bronchialbereich beeinflußt sein können.

2.4.3 Definition Biopersistenz und Biobeständigkeit

Die Definition dieser beiden Begriffe ist für die Beschreibung des Verschwindens von Fasern aus der Lunge von Bedeutung.

Die Biopersistenz beschreibt die Eigenschaft eines Materials, in der Lunge zu verbleiben, trotz der physiologischen Mechanismen, dieses Material zu entfernen. Die Biobeständigkeit wird durch das Auflösungsverhalten und den Zerfall von Fasern bestimmt.

Um einen Vergleich mit den Untersuchungen in physiologischer Modellflüssigkeit vornehmen zu können, sollte die Biobeständigkeit und nicht die Biopersistenz verwendet werden. Es ist offensichtlich, daß bei einem Vorliegen eines physikalischen Abtransports von Fasern aus der Lunge eine Korrelation zur Auflösungsgeschwindigkeit *in vitro* nicht sinnvoll sein kann.

Daraus ergibt sich die Forderung, nur solche tierexperimentellen Methoden

zu favorisieren, für die der physikalische Abtransport, z.B. durch ziliäre Clearance oder durch Makrophagenvermittelte Clearance, minimal ist.

2.4.4 Ergebnisse der Faserretention des Inhalationsversuchs

In dem hier beschriebenen Inhalationsversuch ergaben sich für die aus den Faserabmessungen und Faserzahlen berechneten refinieren Massen bei der Steinwolle MMVF 21, den Keramikfasern RCF 1 und der Partikelkontrolle Glaskugeln Werte im Bereich von 0,5 bis 0,7 mg pro Lunge nach Ende der dreiwöchigen Exposition (siehe Tabelle A 3, Seite 147 im Anhang). Im Gegensatz dazu war die Faserretention in den Glasfasergruppen deutlich geringer (0,14 mg pro Lunge nach dreiwöchiger Exposition). Dies ist ein Hinweis auf die größere Löslichkeit der Glasfasern B-01-0.9.

Die Clearance-Halbwertszeiten der radioaktiv markierten Partikeln lagen bei den Glasfasern B-01-0.9 und Glaskugeln im Bereich der Kontrollwerte (siehe Tabelle 17, Seite 78); auch nach einwöchiger Inhalation von MMVF 21 war die Halbwertszeit nicht erhöht. Dagegen wurde nach dreiwöchiger Inhalation von MMVF 21 eine leicht verlangsamte Clearance und bei RCF 1 eine

starke Verlangsamung der alveolären Clearance beobachtet. Dieser Effekt ist auf eine Überladung der Alveolarmakrophagen mit retinierten Fasern zurückzuführen; bei den Keramikfasern RCF 1, die eine besonders starke Clearancebeeinträchtigung zeigten, kommt wahrscheinlich ein zytotoxischer Effekt hinzu. Weiterhin könnte der Befund durch nicht-faserige Partikel beeinflusst sein; dieser Anteil ist bei der RCF-1-Faser größer als bei der Faser MMVF 21.

Ein Vergleich der Retentionswerte der Faserproben RCF 1 und MMVF 21 von Tag 3 und Tag 93 nach Ende der Faserinhalation ergibt trotz retardierter Clearance eine Abnahme auf etwa ein Drittel bis ein Viertel des Ausgangswertes (siehe Tabelle A 3, Seite 147 im Anhang). Diese kaum beeinträchtigte Faserclearance bei gleichzeitiger Verlangsamung der Clearance der radioaktiven $^{46}\text{Sc}_2\text{O}_3$ -Partikeln läßt sich dadurch erklären, daß bei diesen Fasertypen ein bedeutender Anteil der retinierten Masse im tracheobronchialen Bereich abgeschieden wurde. Dieser wurde aufgrund der Zilienvermittelten Clearance im Vergleich zum alveolären Anteil sehr rasch aus der Lunge entfernt. Die radioaktiven Partikeln mit einem MMAD von ca. $1,0\ \mu\text{m}$ wurden dagegen weitgehend im alveolären Lungenbereich abgeschieden und bei der „Overload“-Situation

entsprechend langsamer aus der Lunge entfernt.

Für die Keramikfaser RCF 1 ergibt sich ein wichtiges Ergebnis aus der Gegenüberstellung der Makrophagenvermittelten Clearance mit einer Halbwertszeit von 1200 Tagen und der Halbwertszeit der Faserclearance (Abnahme der Faserzahl in der Lunge) von 103 Tagen (siehe Tabellen 16 und 17, Seiten 76 und 78).

Dieses Ergebnis bedeutet, daß die Makrophagenvermittelte Clearance wesentlich langsamer ist als die Faserclearance. Dieses kann durch eine Auflösung der Keramikfasern oder durch einen gewissen Anteil eines mucozilären Abtransports bedingt sein. Für letzteres könnte sprechen, daß Fasern mit einer Länge $> 20\ \mu\text{m}$ mit einer Halbwertszeit von nur 77 Tagen abtransportiert werden. Dieses wäre insofern verständlich, als diese langen Fasern eine höhere Depositionsrate im tracheobronchialen Bereich aufweisen.

Generell wird eine schnellere Abtransportkinetik von Fasern $> 20\ \mu\text{m}$ im Vergleich zu Fasern $> 5\ \mu\text{m}$ beobachtet (siehe Tabelle 16, Seite 76). Die von Bernstein et al. [21] geäußerte Hypothese einer schnelleren Auflösungsgeschwindigkeit aller langen Fasern außerhalb von Makrophagen erscheint zumindest für die Steinwollfaser MMVF 21

nicht plausibel. Hier geht man von einer größeren Auflösungsgeschwindigkeit im sauren, intrazellulären Milieu aus [50].

Die von Hesterberg et al. [51] geäußerte Vermutung eines selektiven Brechens langer Fasern, und zwar zu einem gleichartigen Anteil für die drei verwendeten Fasern, erscheint nicht plausibel. Bei der Glasfaser B-01-0.9 ist die Halbwertszeit der Fasern $> 20 \mu\text{m}$ mit ca. drei bis sechs Tagen wesentlich verkürzt im Vergleich zu der Halbwertszeit von 23 bis 32 Tagen der Fasern einer Länge $> 5 \mu\text{m}$. Hier könnte in der Tat eine schnellere Auflösung der langen Fasern vorliegen, was auch durch die Ergebnisse des In-vitro-Teils des Projektes gestützt wird.

Auf der anderen Seite ergibt sich bei einem Vergleich der Applikationsmethoden (Inhalation versus intratrachealer Instillation) eine wesentlich bessere Korrelation der Fasern $l > 20 \mu\text{m}$ als der Fasern mit einer Länge $> 5 \mu\text{m}$ (siehe Abschnitt 2.4.7).

Dies könnte dadurch bedingt sein, daß bei intratrachealer Applikation von 2 mg Fasern die Makrophagen-vermittelte Clearance durch „Dust Overload“ minimal sein sollte, bei der geringeren retinierten Faser Masse nach Inhalation aber noch eine Rolle spielen könnte [39].

Ergebnisse der Faseranalyse in der Tracheaspülung

Diese Untersuchungen wurden zu verschiedenen Zeiten nach Beendigung der inhalativen Exposition durchgeführt, um die Deposition in Abhängigkeit von der Faserlänge zu untersuchen (siehe Tabelle A 7, Seite 151 im Anhang). Vergleicht man für die relativ unlöslichen Fasern RCF 1 und MMVF 21 die Faserabmessungen im Aerosol, in der Tracheaspülung und in der Lunge drei Tage nach Expositionsende, so ist ersichtlich, daß die Faserdicke im Aerosol größer ist, die Längen- und Dickenverteilung jedoch in Lunge und Trachea etwa gleich ist. Über einen Zeitraum bis zu 30 Tagen nach Expositionsende verschiebt sich die mittlere Faser-Länge und -Dicke deutlich zu höheren Werten, wobei die Gesamtzahl der Fasern abnimmt. Vermutlich werden die kürzeren Fasern durch die mucociliäre Clearance entfernt, so daß die längeren Fasern übrigbleiben. Dagegen erscheint ein selektiver Transport längerer Fasern aus dem alveolären Bereich zur Erklärung der Ergebnisse unwahrscheinlich. Die Werte nach drei Monaten und zwölf Monaten können zu dieser Betrachtung nicht herangezogen werden, da nur noch zu wenig Fasern ausgewertet werden konnten (siehe Tabelle A 7).

Dieses Ergebnis ist äußerst wichtig, da es darauf hindeutet, daß nach inhalativer Applikation die mucoziläre Faser-clearance nach drei Tagen keineswegs abgeschlossen ist. Ähnliche Beobachtungen wurden für isometrische Partikeln von Scheuch et al. [48] gemacht.

Ergebnisse der Faseranalyse im Pleuraspalt

Die Methode der Faseranalyse im Agroseabguß des Pleuraspalts hat sich als praktikabel erwiesen. Bei den Tieren, die einer dreiwöchigen Inhalation von RCF 1 und MMVF 21 ausgesetzt waren, konnten am Sektionstermin drei Monate nach Expositionsende einige, wenn auch sehr wenige Fasern nachgewiesen werden, die in der EDX-Analyse im REM dem Ausgangsmaterial entsprachen. Für diese beiden Fasertypen kann man deshalb von einer Translokation von Fasern zum Pleuraspalt in sehr geringem Ausmaß ausgehen. Bei den mit der gut löslichen Glasfaser B-01-0.9 exponierten Tieren konnten dagegen keine Fasern im Pleuraspalt nachgewiesen werden.

2.4.5 Die biologische Wirkung der Fasern nach Inhalation

Die Steinwolle MMVF 21 induzierte drei Tage nach Ende der Exposition

eine signifikante dosisabhängige Entzündungsreaktion in der Lunge. 17 bzw. 31 Tage nach Inhalationsende hatten sich diese Effekte teilweise normalisiert (Tabelle A 14, Seite 158 im Anhang).

Die Keramikfasern RCF 1 zeigten die ausgeprägteste signifikante Reaktion, die über die einmonatige Reinluftperiode hinaus andauerte. Im Vergleich zu MMVF 21 war bei etwa gleicher Lungenbelastung die Entzündungsreaktion stärker und persistenter.

Der Glutathion-Redoxstatus normalisierte sich nach Ende einer Faserinhalation, die zu deutlichen zytotoxischen Effekten führte, rasch. Drei Tage nach Inhalationsende waren sowohl reduziertes als auch oxidiertes Glutathion in den mit MMVF 21 und RCF 1 exponierten Gruppen erhöht (dabei GSH signifikant), so daß der oxidative Streßfaktor nicht erhöht war. Nach 14 Tagen hatte sich die Konzentration an reduziertem Glutathion normalisiert, während das oxidierte Glutathion (GSSG) noch erhöht war. Diese Erhöhung war jedoch wegen starker individueller Streuung der Werte nicht signifikant. Nach 31 Tagen hatten sich beide Konzentrationen auf Kontrollniveau normalisiert.

Dieser Inhalationsversuch zeigt, daß Mineralfasern den Redoxstatus unter den

gegebenen Bedingungen offenbar nicht wesentlich aus dem Gleichgewicht bringen. Die erhöhte GSSG-Konzentration wird durch eine ebenfalls erhöhte GSH-Konzentration kompensiert. Gleichwohl zeigen die erhöhten Glutathion(red./oxid.)-Titer, daß das Antioxidantien-System zumindest während der Inhalationsperiode stark beansprucht wird, im wesentlichen durch reaktive Sauerstoffspezies [52].

Schlußfolgerung

In diesem subakuten Inhalationsversuch erwiesen sich die Keramikfasern RCF 1 als der Fasertyp mit dem stärksten entzündlichen Potential, gefolgt von den Steinwollfasern MMVF 21. Die experimentellen Glasfasern B-01-0.9 zeigten keinen signifikanten Effekt. Dieselbe Reihenfolge ergab sich bei der Bewertung der Effekte auf die Lungenreinigung und -retention.

Auf der Basis der vorliegenden Daten nach inhalativer Exposition ergibt sich folgende Rangfolge der biologischen Wirkung:

Keramikfaser RCF 1 > Steinwolle MMVF 21 > Glasfaser B-01-0.9 \approx Glaskugeln \approx Kontrolle.

2.4.6 Bewertung der Ergebnisse nach intratrachealer Instillation

2.4.6.1 Instillierte Fasermasse

Eine Gesamtdosis von 2 mg wurde gewählt, weil diese Dosis in chronischen Inhalationsexperimenten mit Fasern geringer Löslichkeit erreicht werden kann [51]. Eine Dosis in dieser Höhe kann zu einer deutlichen Verlangsamung der Makrophagenvermittelten Clearance führen [39]. Dieses Verhalten ist gewollt, weil die Biobeständigkeit der Fasern so eher bestimmt werden kann. Allerdings kann die Instillation von je 0,5 mg Fasern an vier aufeinanderfolgenden Tagen zu entzündlichen Reaktionen in der Lunge führen. Dadurch kann die Zahl von Makrophagen und Granulozyten vorübergehend steigen. Zur Zeit laufen Bestrebungen von der Europäischen Kommission, European Chemicals Bureau (Ispra, Italien), zur Standardisierung von Testmethoden zur Bestimmung der Faserpersistenz. Ein Vorschlag sieht vor, nur 0,5 mg statt 2 mg Fasern nach intratrachealer Instillation zu verwenden. Entsprechende Meßreihen zur Validität dieser Meßbedingungen liegen jedoch gegenwärtig nicht in ausreichender Zahl vor.

2.4.6.2 Faserdicke

Die intratracheale Instillation von „ratteinhaltbaren“ Fasern kann im Vergleich zur Inhalation zu einer ungleichmäßigeren Verteilung der Fasern in der Lunge führen. Die Fraktion der pulmonalen Deposition ist vermutlich höher, die Abscheidung durch Interzeption in dem tracheobronchialen Bereich liegt dagegen vermutlich deutlich niedriger. Fasern $l > 40 \mu\text{m}$ können wesentlich zu einer Aggregation von Fasern („Verklumpung“) beitragen. Aus diesem Grunde sollte die Methode der intratrachealen Instillation durch rasterelektronenmikroskopische Kontrolluntersuchungen validiert werden.

Außerdem sollte von den Proben, die zur Instillation verwendet werden, Aliquote entnommen werden, die ebenfalls im Raster-Elektronenmikroskop auf Agglomeratbildung untersucht werden.

Die Ergebnisse nach intratrachealer Applikation zeigen für die Glaswollen C und TL keinen wesentlichen Einfluß der Faserdicke auf die Halbwertszeit der Faser clearance. Eine mögliche Erklärung ist, daß dickere Fasern nur zu einem geringeren Anteil von alveolären Makrophagen phagozytiert werden und somit ein größerer Anteil einem neutralen pH-Milieu ausgesetzt ist. Verschiedene Untersuchungen in vitro zeigen, daß

Fasern vom Typ Alkali-Erdalkali-Silicate bei neutralem pH-Wert eine höhere Löslichkeit aufweisen als bei saurem pH-Wert, während Steinwollfasern im sauren pH-Bereich besser löslich sind als im neutralen Bereich [53, 50]. Weiterhin ist möglich, daß bei phagozytierten Fasern, die von lipidhaltigen Zellmembranen umgeben sind, der Abtransport gelöster Ionen im Vergleich zum außerzellulären Milieu verlangsamt ist.

Andererseits beinhaltet der physikalisch-chemische Ansatz, daß die Auflösung einer Faser von der Dicke abhängt. Aus der obigen Betrachtung der In-vivo-Auflösung stehen beide Ansätze nicht im Widerspruch.

Die früher publizierten Daten bei der Glasfaser B-01-0.9 zeigten eine Abhängigkeit der Faser clearance von der Faserdicke [54]. Hier wäre zu klären, wie der Anteil der phagozytierten Fasern (dicke und dünne) im Vergleich zu der C- und TL-Glaswolle war. Eine andere Erklärung könnte darin liegen, daß die früher verwendeten Testmethoden möglicherweise noch nicht so ausgereift waren (z.B. bezüglich der ausgewerteten Faserzahl).

Es ist nicht auszuschließen, daß für Glaswollfasern und Steinwollfasern eine unterschiedliche Dickenabhängigkeit der Faser clearance vorliegt. Steinwollfasern

lösen sich im allgemeinen schneller im sauren Milieu und vermutlich schneller im lysosomalen Kompartiment der Makrophagen. Glasfasern lösen sich schneller bei neutralem pH-Wert. Das könnte bedeuten, daß sich Steinwollfasern, die nicht von Makrophagen phagozytiert werden, wesentlich länger in der Lunge aufhalten können als Glasfasern.

2.4.6.3 pH-Wert der Fasersuspension

Bei Fasern mit hoher Löslichkeit kann der pH-Wert in der zur Applikation verwendeten Suspension in physiologischer Kochsalzlösung unter Umständen ansteigen. Bei den meisten glasigen Fasern steigt die Löslichkeit im Alkalischen mit steigendem pH-Wert an, so daß eine relativ schnelle Auflösung an der Faseroberfläche schon während der Applikationsphase und eventuell in den ersten Stunden in der Lunge, vor einer Phagozytose durch die Alveolarmakrophagen, denkbar ist. Deshalb wurde in diesem Projekt bei der Zetwool, bei der eine gewisse Löslichkeit in Wasser bekannt war, Tris-Puffer mit einem pH-Wert von 7,3 zur Suspendierung verwendet. Tris-Puffer bildet im Gegensatz zu Phosphatpuffer keine schwerlösliche Verbindung mit Calciumionen und sollte deshalb die Auflösung der Zetwool sowie anderer calciumhaltiger Mineralfasern nicht beeinflussen.

Nach Durchführung dieses Intratracheal-Versuches zeigte sich, daß bei der Glaswolle C und der dickeren Glaswolle CS* ein sehr hoher Massenverlust im Vergleich zur instillierten Fasermenge schon bis zum Sektionstermin drei Tage nach der letzten Applikation aufgetreten ist (siehe Tabelle A 18, Seite 163 im Anhang). Eine nachträgliche Überprüfung der Applikations-suspension bei Glaswolle C ergab, daß sich der pH-Wert innerhalb weniger Minuten nach Suspendierung der Fasern auf etwa 8,5 erhöhte und anschließend langsam wieder auf etwa 8,2 absank. Für die Glaswolle C ist deshalb eine Massenabnahme schon in den ersten Stunden nach der intratrachealen Instillation durch teilweise Auflösung bei höherem pH-Wert denkbar. Für die Glaswolle C dürfte dieser Effekt aber nur sehr geringfügig sein, da nach inhalativer Applikation der Glaswolle C ebenfalls eine relativ kurze Halbwertszeit beobachtet wurde [21]. Deshalb sollte bei Untersuchung von leichtlöslichen Fasern nach intratrachealer Instillation in Zukunft ein Puffer (z.B. Tris-Puffer) für die Suspendierung der Fasermaterialien verwendet werden, da nach Inhalation von leicht löslichen Fasern (auch beim Menschen) wegen der langsameren Faseraufnahme keine Erhöhung des pH-Wertes in der Lunge zu erwarten ist.

2.4.6.4 Korrelation zwischen KI-Wert und Halbwertszeit

Eine Korrelation der Halbwertszeiten unter Einschluß früherer Untersuchungen des Fraunhofer ITA (siehe Abschnitt 2.3.4) liefert für KMF eine relativ gute Korrelation mit dem Kanzerogenitätsindex KI der TRGS 905 sowohl für WHO-Fasern (siehe Abbildung 11) als auch für Fasern mit einer Länge $> 20 \mu\text{m}$ (siehe Abbildung 12 auf Seite 104). Bestimmte Steinwoll- und Keramikfasern passen weniger gut zu der Korrelationsgeraden. Für Mineralfasern mit einem KI-Wert ≥ 40 wurden Halbwertszeiten < 30 Tage gefunden.

2.4.7 Vergleich der Applikationsmethoden

2.4.7.1 Vergleich der Ergebnisse nach intratrachealer Instillation und Inhalation

Die Abbildungen 13, 14 und 15 (Seite 105 f.) zeigen einen Vergleich von drei Fasertypen nach intratrachealer Instillation und Inhalation.

Bei der Faser B-01-0.9 ergibt sich kein signifikanter Unterschied. Dagegen ist bei der Steinwollfaser MMVF 21 und der Keramikfaser RCF 1 deutlich zu erkennen, daß die Faserelimination unter

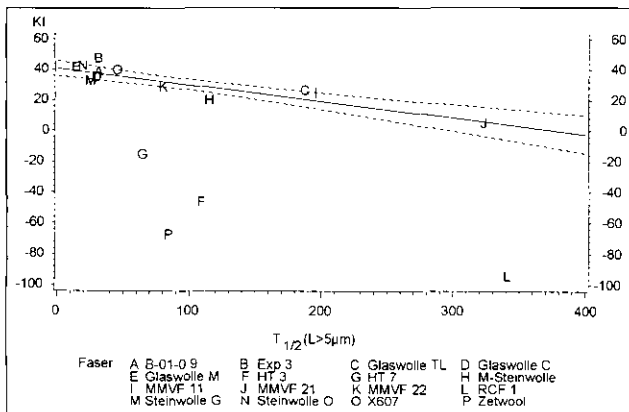


Abbildung 11: Korrelation zwischen KI-Wert und Halbwertszeiten nach i.tr. Inst. (WHO-Fasern)

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

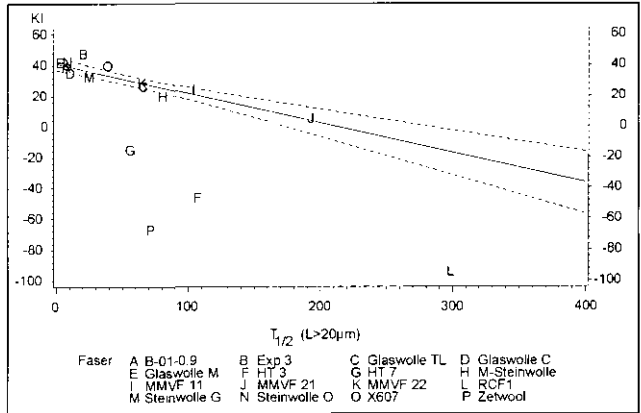


Abbildung 12:
Korrelation zwischen KI-Wert
und Halbwertszeiten nach
i.tr. Inst. (Fasern $l > 20 \mu\text{m}$)

den hier gewählten Versuchsbedingungen nach intratrachealer Instillation langsamer verläuft als nach Inhalation. Weiterhin ist zu erkennen, daß bei einer Erhöhung der Faserdosis bei der Steinwolle MMVF 21 nach dreiwöchiger Exposition die Faserclearance langsamer verläuft als nach einwöchiger Exposition. Dies ist vermutlich durch die beginnende Verlangsamung der Makrophagen-vermittelten Clearance zu erklären.

Die Abbildungen 16 und 17 (siehe Seite 107) zeigen eine Korrelation zwischen Halbwertszeiten nach intratrachealer Instillation und Halbwertszeiten im Kurzzeitinhalationsversuch [34, 35, 36, 20, 21, 22, 55]. Bei den einge-

zeichneten Meßpunkten handelt es sich um gesichtete Fraktionen von Mineralfaserproben, die in diesem Projekt und bei anderen Prüfungen im Fraunhofer ITA sowie bei der Research & Consulting Company (RCC) untersucht wurden.

Die Korrelation ist mit der Faserfraktion Länge $> 20 \mu\text{m}$ deutlich besser als bei den WHO-Fasern. Das hängt wahrscheinlich damit zusammen, daß die Makrophagen-vermittelte Clearance bei den Fasern $l > 20 \mu\text{m}$ keine wesentliche Rolle mehr spielt.

Es ergibt sich aber für beide Faserfraktionen jeweils eine Regressionsgerade, die nahezu durch den Nullpunkt geht. Je-

Abbildung 13:
Abnahme der WHO-Faserzahl nach
Inhalation und i.tr. Inst. (B-01-0.9)

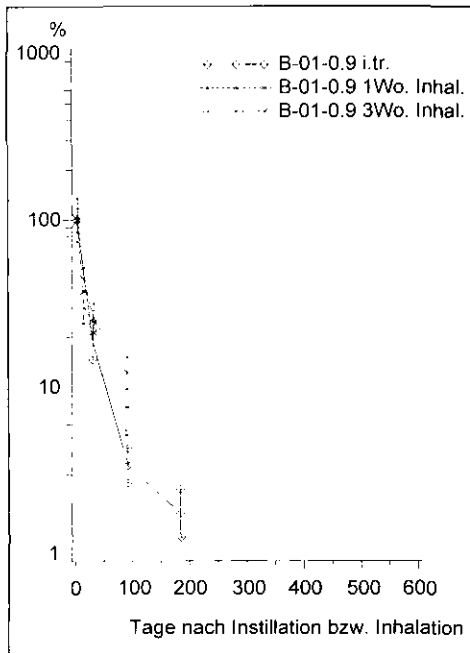
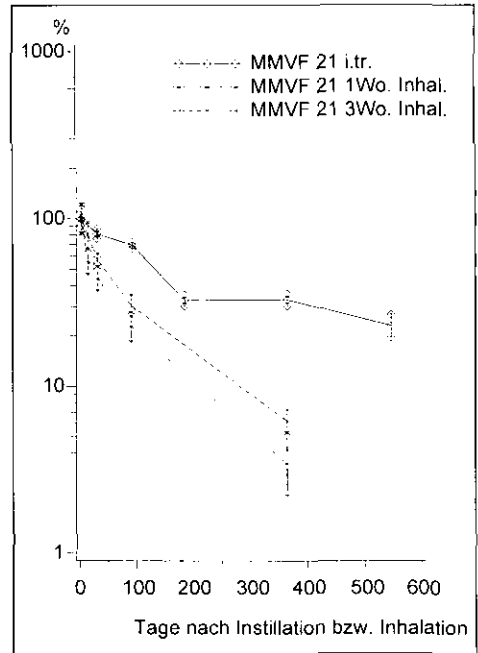


Abbildung 14:
Abnahme der WHO-Faserzahl nach
Inhalation und i.tr. Inst. (MMVF 21)

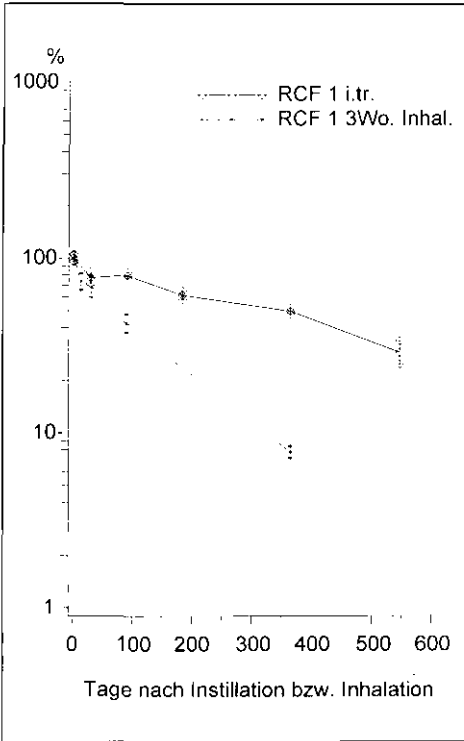


doch ist der 95%-Vertrauensbereich insbesondere bei den WHO-Fasern sehr groß.

Ein Problem bei der Beschränkung auf die Faserfraktion $> 20 \mu\text{m}$ Länge ist aber, daß es gerade bei diesen langen Fasern zu einer wesentlich höhe-

ren Deposition im Bronchialbereich der Lunge als im Alveolarbereich kommt. Es gibt Hinweise, daß die relativ schnelle Clearance der Fasern $l > 20 \mu\text{m}$ zum Teil auf dem Abtransport dieser Fasern aus dem Bronchialbereich durch mucoziliäre Clearance beruht.

Abbildung 15:
Abnahme der WHO-Faserzahl nach
Inhalation und i.tr. Inst. (RCF 1)



Außerdem darf die Faserfraktion mit Längen zwischen 5 und 20 μm für regulatorische Zwecke nicht vernachlässigt werden. Deshalb ist die Betrachtung der WHO-Fasern ein wesentliches Beurteilungskriterium.

2.4.7.2 Vergleich der Ergebnisse nach intratrachealer Instillation und intraperitonealer Injektion

Untersuchungen zur Beständigkeit nach intraperitonealer Injektion (i.p. Inj.) wurden durchgeführt, um einen Vergleich der Biobeständigkeit von Lunge und Abdomen zu erhalten. Sollte die Biobeständigkeit von KMF im Bauchraum wesentliche Unterschiede zu derjenigen in der Lunge aufweisen, so könnte das wesentlich für die Beurteilung eines Gefährdungspotentials sein, da die Beurteilung der Kanzerogenität von KMF in Deutschland wesentlich auf dieser Methode beruht (TRGS 905 [10], TRGS 906 [56]).

Für die in Abschnitt 2.3.3 aufgeführten Untersuchungen zur Beständigkeit nach intraperitonealer Injektion ist zur Wiederfindung der Fasern das Große Netz (Omentum) verwendet worden. Die Wiederfindungsrate in diesem Organ zwei Tage nach Applikation im Vergleich zur insgesamt eingespritzten Faser-masse betrug zwischen 10 und 35 % (bei der Faser B-01-0.9 nur etwa 1,5 %, wahrscheinlich aufgrund der sehr hohen Löslichkeit). Dieser Wert wies relativ große Schwankungen zwischen den einzelnen Tieren auf (siehe Tabelle A 21 im Anhang, Seite 166); das spiegelt sich auch in den relativ großen 95%-Vertrauensbereichswerten bei den Halbwertszeiten wider (siehe Tabelle 22, Sei-

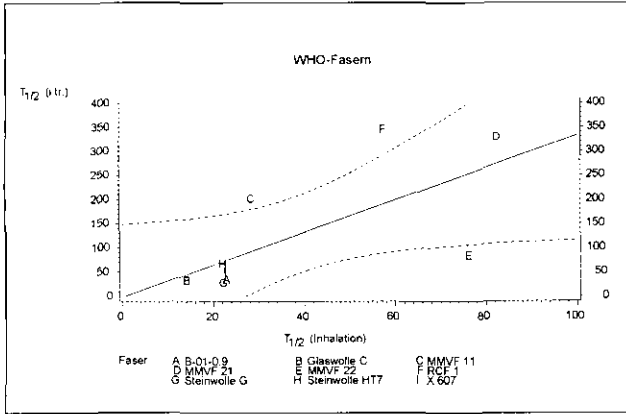


Abbildung 16:
Korrelation zwischen Halb-
wertszeiten nach Inhalation
und i.tr. Inst. (WHO-Fasern)

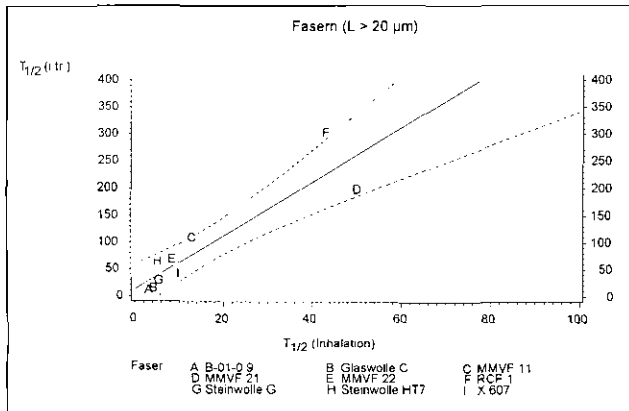


Abbildung 17:
Korrelation zwischen Halb-
wertszeiten nach Inhalation und
i.tr. Inst. (Fasern $L > 20 \mu\text{m}$)

2 Teil I: In-vivo-Untersuchungen

te 88). Dieser Test ist deshalb als Standardtest zur Bestimmung der Biobeständigkeit nicht geeignet.

Die Abbildungen 18 und 19 zeigen eine Korrelation zwischen Halbwertszeiten nach intratrachealer Instillation und nach intraperitonealer Injektion für die WHO-Fasern und für die Fasern $l > 20 \mu\text{m}$. Für beide Faserfraktionen ist die Korre-

lation zwischen den Ergebnissen beider Methoden gut. Die Ausgleichsgerade hat nahezu die Steigung 1 und führt etwa durch den Nullpunkt.

Dieses Ergebnis zeigt, daß die Biobeständigkeit der untersuchten Fasermaterialien im Bauchraum und in der Lunge nach intratrachealer Instillation vergleichbar ist.

Abbildung 18:
Korrelation zwischen Halbwertszeiten nach intraperitonealer Injektion und intratrachealer Instillation (WHO-Fasern)

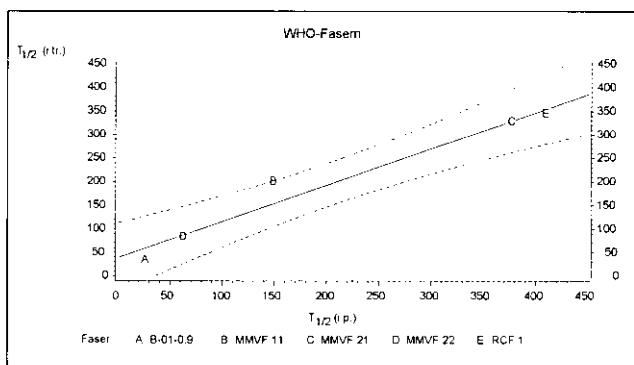
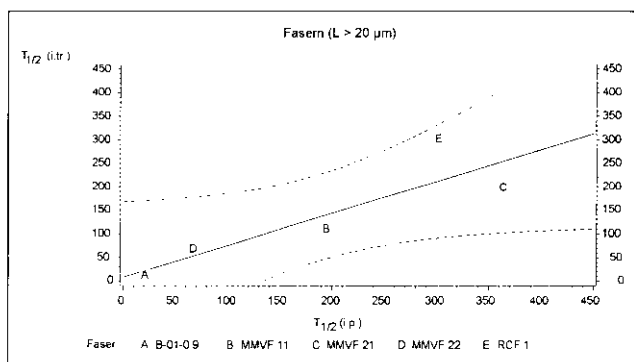


Abbildung 19:
Korrelation zwischen Halbwertszeiten nach i.p. Inj. und i.tr. Inst. (Fasern $l > 20 \mu\text{m}$)



2.4.8 Schlußfolgerungen

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die Versuchsmethoden zur Bestimmung der Biobeständigkeit von Fasern sowohl nach inhalativer als auch nach intratrachealer Applikation von Fasern inhärente Schwächen aufweisen, die die Aussagekraft einschränken können. Trotzdem liefert vor allem die Methode nach intratrachealer Instillation relativ konsistente Daten, so daß die resultierenden Ergebnisse für Regulationszwecke eingesetzt werden können.

Nach kurzzeitiger inhalativer Exposition kann bei der beobachteten Clearance von Fasern eine zeitliche Überlagerung von der Faserauflösung einerseits und dem Transport weitgehend intakter Fasern andererseits vorliegen, z.B. durch physikalischen Abtransport durch Makrophagen und mucoziläre Clearance. Für einen Vergleich der In-vitro-Beständigkeit von Mineralfasern mit den aus dem Tierversuch gewonnenen Daten zum Abtransport von Fasern sollte der Abtransport intakter Fasern jedoch minimal sein, da sich sonst keine sinnvolle Korrelation ergeben kann. Genauere Kenntnisse über die Depositionswahrscheinlichkeiten in den verschiedenen Abschnitten des Respirationstraktes und die Kinetik des physikalischen Abtransports (in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren wie z.B. Fasermasse und Fasergeometrie)

könnten in Zukunft zu einer genaueren Differenzierung beitragen.

Nach intratrachealer Instillation von gesichteten ratteninhalierbaren Fasern ist unter den gewählten experimentellen Bedingungen der physikalische Abtransport intakter Fasern wesentlich geringer ausgeprägt als nach Kurzzeitinhalation. Dies ist ein erheblicher Vorteil des Versuchsmodells nach intratrachealer Applikation, da das Akkumulationsverhalten von Fasern beim Menschen vor allem durch das Auflösungsverhalten bestimmt wird. Es ist jedoch noch nicht ausreichend untersucht, inwieweit die entzündlichen Reaktionen bei einer hohen Lungenbelastung mit Fasern die Faserauflösung in der Lunge beeinflussen. Analoge Probleme könnten aber auch bei chronischen Inhalationsexperimenten mit wenig löslichen Fasern auftreten, da auch dann die retinierte Fasermasse im gleichen Bereich von 2 mg liegen kann. Bei der intratrachealen Instillation besteht bei langen Faserproben („inhalierbar für den Menschen“) die Gefahr einer ungleichmäßigen Verteilung und einer Agglomeratbildung von Fasern in der Lunge.

Die Glasfaser B-01-0.9 und die Glaswolle C haben sich als relativ gut biologisch erwiesen. Diese Fasern weisen auch den höchsten KI-Wert auf. Das bedeutet, daß sich für Glasfasern dieses

Typs das Konzept des KI-Wertes des Ausschusses für Gefahrstoffe voll bestätigt (siehe Abbildungen 11 und 12, Seiten 103 und 104).

Eine Gegenüberstellung der Halbwertszeiten nach inhalativer und intratrachealer Applikation unter Heranziehung publizierter Daten zeigt, daß die Korrelation mit der Faserfraktion mit einer Länge $> 20 \mu\text{m}$ deutlich besser ist als bei Fasern mit einer Länge $> 5 \mu\text{m}$. Das hängt wahrscheinlich damit zusammen, daß die Makrophagen-vermittelte Clearance bei den Fasern $l > 20 \mu\text{m}$ keine wesentliche Rolle mehr spielt. Würde man den Kurzzeitinhalationstest als das alleinige Kriterium für die Bestimmung der Biopersistenz heranziehen, würden die Fasern mit einer Länge zwischen 5 und $20 \mu\text{m}$ nicht berücksichtigt, weil bisher noch keine Korrektur für den relativ schnellen physikalischen Abtransport dieser Faserfraktion bei der Ratte nach Kurzzeitinhalation möglich ist. Dieser Aspekt spricht daher für die Verwendung eines Tests nach intratrachealer Instillation, da der physikalische Abtransport der Fasern weitgehend ausgeschaltet ist.

Das relativ gute Übereinstimmen der Halbwertszeiten nach intraperitonealer Injektion und intratrachealer Instillation zeigt an, daß in beiden Fällen das „Verschwinden“ von Fasern im wesentlichen durch die Auflösung von Fasern bestimmt

wird, da im Fall der intraperitonealen Injektion kein Abtransport über die Luftröhre stattfindet.

Zum Vergleich mit der Auflösungsgeschwindigkeit in physiologischen Flüssigkeiten wurden die Kinetikdaten nach intratrachealer Instillation herangezogen, da unter den gewählten Versuchsbedingungen der physikalische Abtransport intakter Fasern minimal ist und nur für diese Untersuchungsmethode unter Einbeziehung früherer Untersuchungen die entsprechenden Daten für identische Fasermaterialien vorlagen.

Bernstein et al. [22] berichten von einer guten Korrelation von Ergebnissen nach Inhalation für Fasern $l > 20 \mu\text{m}$ und In-vitro-Beständigkeit bei pH 7,4. Die In-vitro-Daten sind einer Arbeit von Thélohan und de Meringo [57] entnommen, die mit sehr ähnlichen Modellösungen wie in diesem Projekt gearbeitet haben. Die eingestellten F/A-Verhältnisse betragen ca. $0,015 \mu\text{m/s}$ (pH 7,5) und $0,003 \mu\text{m/s}$ (pH 4,5), d.h., sie unterschieden sich um den Faktor 5. Ein möglicher Effekt des niedrigen pH-Wertes wird damit zumindest abgeschwächt. Zusätzlich werden beim Vergleich mit den In-vitro-Daten nur Fasern mit einer Länge $l < 20 \mu\text{m}$ betrachtet.

Ähnlich gehen auch Eastes et al. vor [58, 59], die ebenfalls nur Fasern mit

einer Länge $< 20 \mu\text{m}$ zum Vergleich mit In-vitro-Daten heranziehen.

Bei intratrachealer Instillation von Mineralfasern ist eine Auswertung nach einer einphasigen Kinetik normalerweise zur Beschreibung ausreichend. Bei der fünf-tägigen inhalativen Applikation liegt eine schnellere Clearance in der Anfangsphase vor; deshalb ist ggf. eine zweiphasige Kinetik besser zur Beschreibung geeignet.

Da bei beiden Applikationsmethoden experimentelle Grenzen der Aussagekraft auftreten können, könnte als weitestgehender Vorschlag empfohlen werden, beide Tests anzuwenden, zumindest für Fasern, die in großen Produktionsmengen hergestellt werden und für die eine Exposition des Menschen gegeben ist.

Ein praktischer Vorteil für die intratracheale Instillation von Fasern besteht darin, daß nur ca. 1 g gesichtete Fasern

benötigt wird. Die somit benötigte Menge liegt etwa um den Faktor 50 unter der Menge, die zur Durchführung einer Kurzzeitinhalation erforderlich ist.

Bei erheblichen Inkonsistenzen zwischen beiden Methoden könnte ein subchronischer Inhalationstest mit Recoveryperiode durchgeführt werden (EPA, 1995). Dieser Test hat den Vorteil, daß der relative Anteil der Fasern in der Lunge, der durch die schnelle mucoziliäre Clearance entfernt wird, kleiner ist. Gleichzeitig könnten in diesem Testsystem auch Toxizitätsuntersuchungen wie Entzündungspotential und Proliferationsverhalten von Epithelzellen untersucht werden.

Als wesentliches Kriterium für die toxi-kologische und arbeitsmedizinische Beurteilung von Mineralfasern muß eine Korrelation der Halbwertszeiten der Bio-beständigkeit mit Ergebnissen chronischer Kanzerogenitätsuntersuchungen durchgeführt werden.

3.1 Grundlagen

Die Biobeständigkeit von Fasern wird durch das Retentionsverhalten von Fasern im Respirationstrakt beschrieben, wobei als wesentliche Meßgrößen die Faserzahl, die Fasergröße, Änderungen der chemischen Zusammensetzung und andere physikalisch-chemische Parameter zu bestimmen sind, die für die toxische Wirkung von Relevanz sein können.

Es kann davon ausgegangen werden, daß die Biopersistenz von verschiedenen Mechanismen bestimmt wird, die miteinander verknüpft sind [31]:

- Translokation von ganzen Fasern oder Faserbruchstücken (mechanische Clearance), die im wesentlichen durch Makrophagen vermittelt wird
- Zerfall von Fasern und
- chemische Auflösung von Fasern

Die separate Zuordnung der Clearancevorgänge in vivo nach Auflösung, Zerfall und Translokation ist schwierig, da in der Regel alle drei Faktoren beteiligt sind.

Eine In-vitro-Untersuchung der Beständigkeit von Fasern konzentriert sich auf die chemische Löslichkeit und kann keine Aussagen über Translokation und Quer-

brüche machen. Voraussetzung für aussagefähige Löslichkeitsuntersuchungen ist die Verwendung eines Flüssigkeitsmilieus, das die Situation von Fasern am Wirkort im wesentlichen simuliert. Die am häufigsten in verschiedenen Modifikationen verwendete „Gamble Solution“ [60] ist dem extrazellulären Milieu des Lungeninterstitiums nachgebildet, der pH-Wert wird auf etwa 7,5 eingestellt [61, 62]. Die Fasern können sich jedoch nicht nur im Interstitium aufhalten, sondern werden in der Regel von alveolären Makrophagen phagozytiert. Die Makrophagen können aber nur Fasern mit einer Länge bis zu 20 μm vollständig umschließen. Längere Fasern werden nur teilweise von den Phagolysosomen dieser Zellen umschlossen, in denen ein pH-Wert von etwa 5 existiert [63]. Über die genaue Lokalisation liegen noch unzureichende Daten vor. Trotzdem wurden für diesen niedrigen pH-Wert bereits Modellösungen für In-vitro-Untersuchungen entwickelt [62, 57, 50]. Die direkte Korrelation zwischen In-vivo- und In-vitro-Untersuchungen ist zur Zeit nur unzureichend möglich. Ursache hierfür ist im wesentlichen die Tatsache, daß nicht-identisches Fasermaterial untersucht wurde bzw. die für eine Korrelation relevanten Daten (z.B. Fasergeometrie und -anzahl und deren zeitliche Änderung) in nicht kompatibler

3 Teil II: In-vitro-Untersuchungen

Form in der Literatur berichtet werden. In-vitro-Untersuchungen können daher zur Zeit nur ein relatives Ranking der Löslichkeit von verschiedenen Faserarten liefern.

3.1.1 Problemstellung

Die chemische Auflösung von Fasern stellt einen sehr wichtigen Mechanismus bei der Faser clearance aus der Lunge dar. Sie ist ein absolutes Kriterium für die theoretisch maximale Aufenthaltszeit von eingeatmeten Fasern in der Lunge. Der Begriff „absolutes Kriterium“ ist so zu verstehen, daß alle weiteren Clearance-Mechanismen die Aufenthaltszeit nur zusätzlich verkürzen können.

Das Flüssigkeitsmilieu im menschlichen Körper stellt im wesentlichen eine wäßrige Lösung dar. Zur Beurteilung kann damit auf sehr umfangreiche Untersuchungen zur chemischen Reaktion von Glas (als amorphes Modellmaterial für Mineralwollen) mit wäßrigen Medien unterschiedlichster Zusammensetzung zurückgegriffen werden [64, 65, 66].

Unter Beachtung wesentlicher Rahmenbedingungen — das Angriffsmedium muß alle relevanten körpereigenen Salze enthalten, wobei Pufferkapazität vor-

handen sein muß, um den pH-Wert konstant zu halten, und der Abtransport von gelösten Faserkomponenten muß gewährleistet sein — sollte es möglich sein, die chemische Auflösung von Fasern im Körper im Rahmen eines In-vitro-Versuches zu simulieren.

Die Auflösungsgeschwindigkeit von Fasern kann unter diesen Bedingungen auch gemessen werden. Direkte Korrelationen der Auflösungsgeschwindigkeit (aus In-vitro-Tests) mit den Ergebnissen von In-vivo-Untersuchungen sind im größeren Umfang bisher nicht bekannt geworden. Eine der Hauptschwierigkeiten dabei ist, daß sehr wenige Untersuchungen vorliegen, in denen identische Faserproben sowohl in vitro als auch in vivo untersucht wurden.

In diesem Projekt sollte erstmalig ein großes Spektrum verschiedener Spezies künstlicher Mineralfasern (KMF) in vivo und in vitro parallel untersucht und verglichen werden. Durch gezielte Variation der In-vitro-Versuchsparameter sollten die Rahmenbedingungen gefunden werden,

- die eine gute Korrelation zu In-vivo-Untersuchungen ergeben,
- die es erlauben, einen In-vitro-Standardversuch festzulegen.

3.1.2 Einflußfaktoren bei In-vitro-Versuchen

Die chemische Reaktion von künstlichen Mineralfasern mit einem umgebenden Medium bewirkt zunächst eine Veränderung des chemischen Zustandes der Faseroberfläche, die sich mit dem Reaktionsfortschritt weiter in das Fasereinnere verlagert. Dieser Effekt ist dann zu beobachten, wenn die Auslaugung der vorherrschende Reaktionsmechanismus ist, d.h. vorwiegend bei niedrigen pH-Werten des Angriffsmediums. Mit der chemischen Veränderung der KMF ist auch eine signifikante Veränderung der physikalischen Eigenschaften verbunden, was häufig zu Abplatzungen der ausgelaugten Schichten führt. Ist die kongruente Auflösung der vorherrschende Reaktionsmechanismus, dann tritt dieser Effekt selten auf. Andererseits wird eine einzelne Faser dadurch immer dünner und kann schneller brechen. Durch die Auflösung von Glaskomponenten kann es auch zu Sättigungseffekten in der Angrißlösung kommen, die dann zu Präzipitaten auf der Faseroberfläche führen können.

Als Maß für die Auflösung wird die gelöste Menge an Netzwerkbildnern, i.a. SiO_2 , herangezogen. Alkali-, Erdalkali- sowie Borionen sind dagegen ein Maß für die Auslaugung.

Der vorherrschende pH-Wert, mit dem eingeatmete Fasern in Kontakt kommen, ist nahezu neutral (ca. 7 bis 7,5, extrazelluläres Milieu). Kleinere Fasern mit einer Länge von etwa $10 \mu\text{m}$ und kürzer können von Makrophagen umschlossen und transloziert werden. Dasselbe wird vermutlich mit chemisch initiierten Bruchstücken geschehen. In den Makrophagen (intrazelluläres Milieu) herrscht ein pH-Wert von 4,5 bis 5 [63]. Die Wirkungsweise von Makrophagen ist zwar prinzipiell bekannt, das Verhalten im speziellen Fall von inhalierten Fasern aber weitgehend ungeklärt. Es erscheint aber grundsätzlich möglich, daß Fasern lokal von Makrophagen umschlossen und an dieser Stelle sehr viel schneller aufgelöst werden, wenn sie bei niedrigem pH-Wert eine hohe Auflösungsgeschwindigkeit besitzen. Dies kann ebenfalls zu Querbrüchen, d.h. zu kürzeren Faserpartikeln führen.

Nicht nur der pH-Wert der Angrißlösung spielt beim Auflösungsmechanismus eine wichtige Rolle, sondern auch die chemische Zusammensetzung der Fasern und der Lösung. Während erstere als gegeben zu betrachten ist, ist letztere ein grundsätzlich in gewissen Grenzen variabler Versuchsparameter. Dabei sind sowohl der Calciumgehalt als auch die Auflösungsfördernde Komplexbildner zu beach-

ten. Es wurde bereits eine Reihe von Versuchen durchgeführt, die diese Parameter über einen weiten Konzentrationsbereich variierten [53, 67]. Bei einem hohen Calciumgehalt in der Lösung und ebenfalls hohen pH-Werten besteht unter Umständen die Gefahr von Präzipitaten mit gleichzeitiger Reduktion der Auflösung. Trotz der Verwendung eines Durchflußversuches ist es nötig, der Angriffslösung einen pH-Puffer zuzugeben, besonders bei niedrigen pH-Werten. Als zuverlässig hat sich dabei Citronensäure herausgestellt. Nachteilig wirkt sich allerdings die Förderung der Auflösung durch Komplexierung des Ca^{2+} -Ions aus.

Neben dem pH-Wert und der chemischen Zusammensetzung der Angriffslösungen ist als weiterer einstellbarer Versuchsparameter das F/A-Verhältnis zu beachten [68]. Es beschreibt das Verhältnis der Durchflußrate der Angriffslösungen zu der eingewogenen Oberfläche der Faserprobe. Grundsätzlich gilt, daß durch ein hohes F/A-Verhältnis die Glasauflösung gefördert wird, während ein niedriges F/A-Verhältnis die Gefahr birgt, Sättigungseffekte hervorzurufen.

Ein zu großes F/A-Verhältnis kann allerdings auch dazu führen, daß die Nachweisgrenzen der verwendeten analytischen Methoden unterschritten werden.

3.1.3 Vorgehensweise

Das Versuchsprogramm sollte einen möglichst großen Bereich der wesentlichen Einflußparameter umfassen:

□ Es wurden sieben verschiedene Faserproben mit bekanntermaßen hoher und niedriger Biopersistenz ausgewählt, kristallin und amorph, standardisierte und bereits gut charakterisierte Fasern sowie neue Fasertypen, deren Biopersistenz weitgehend unbekannt war. An identischen Faserproben wurden im ITA In-vivo-Untersuchungen im Rahmen dieses Projektes bzw. bereits in der Vergangenheit durchgeführt.

□ Die Versuche wurden bei drei verschiedenen F/A-Verhältnissen durchgeführt, die einen Bereich von fast drei Größenordnungen überstreichen. Innerhalb dieses Bereichs sollten keine analytischen Probleme auftauchen.

□ Es wurden sowohl bei pH 4,5 als auch bei pH 7,5 parallele Versuche durchgeführt. Die Zusammensetzungen der Angriffslösungen entsprachen dem ISC-internen Standard.

Um eine möglichst große Datenbasis für die Korrelationsrechnungen zu haben, wurden die Untersuchungen mit der größtmöglichen Identität der Proben verglichen. Das heißt: Die In-vitro-Versuche

wurden mit den Ergebnissen der intratrachealen Instillation korreliert.

3.2 Experimentelle Arbeiten

3.2.1 Probenmaterial

Folgendes Fasermaterial wurde untersucht:

- Wollastonit
- Glasfaser B-01-0.9
- Keramikfaser RCF 1
- Glaswolle MMVF 11
- Zetwool
- Glaswolle C
- Steinwolle HT 7

Die Proben wurden vom ITA zur Verfügung gestellt, nachdem sie dort entsprechend präpariert (gesichtet) wurden.

3.2.2 Charakterisierung der Ausgangsproben

Die Durchmesser- und Längenverteilungen der Proben wurden am ITA ermittelt und inklusive aller Einzeldaten dem Fraunhofer-Institut für Silicofforschung (ISC) zur Verfügung gestellt. Zur Berech-

nung der Auflösungs geschwindigkeit wird eine ideale logarithmische Normalverteilung der Faserdurchmesser benötigt. Die Daten des ITA wurden daher zunächst in massengewichtete Verteilungen umgewandelt und anschließend einer entsprechenden Regressionsrechnung unterworfen. Um die Güte der anzahlgewichteten Ausgangsdurchmesser-Verteilungen zu testen, wurden mit ihnen ebenfalls Regressionsrechnungen durchgeführt. Die geometrischen Daten der Proben inklusive der daraus ermittelten spezifischen Oberflächen sind in Tabelle A 22 (Anhang, Seite 207) enthalten.

Während für die In-vivo-Untersuchungen nur Fasern mit einem Längen-zu-Durchmesser-Verhältnis von ≥ 3 berücksichtigt werden, müssen für die In-vitro-Untersuchungen alle vermessenen Fasern beachtet werden. Die im Teil I „In-vivo-Untersuchungen“ und die hier angegebenen Durchmesserdaten können sich daher durchaus unterscheiden.

Chemische Zusammensetzung

Bis auf die Proben RCF 1 und MMVF 11 wurden die Fasern chemisch im ISC analysiert. Die Ergebnisse sowie der daraus ermittelte KI-Wert, der für Wollastonit nicht anwendbar ist, sind in Tabelle A 23 (Anhang, Seite 208) dargestellt.

Morphologie

Bevor die Fasern im In-vitro-Versuch eingesetzt wurden, wurde die Morphologie mittels Raster-Elektronenmikroskop (REM) begutachtet. Die REM-Bilder der unkorrodierten Fasern sind zusammen mit denen der korrodierten Fasern im Anhang „Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen“ (Seite 257 ff.) enthalten.

3.2.3 Versuchsdurchführung und Versuchsparameter

Die Versuchsdurchführung ist in der angegebenen Literatur [61] ausführlich beschrieben und soll an dieser Stelle nur skizziert werden.

Die Proben befinden sich zwischen zwei Filtermembranen in einer Durchflußzelle. Die Membranen halten die Proben und sonstigen Teilchen, z.B. Präzipitate, zurück und verhindern somit das Verstopfen der Abflußschläuche. Es wurden von jeder Probe pro pH-Wert und F/A-Verhältnis drei Zellen betrieben sowie zusätzlich zu jeder Serie Blindzellen. Jede Serie besteht aus einem Ensemble der sieben Proben (drei Probenzellen).

Das F/A-Verhältnis wurde durch die Variation des Durchflusses der Angriffslösung und der eingewogenen Faser-masse eingestellt. Durch einen Fehler

bei der Übermittlung der Faserdurchmesserdaten wurden versehentlich F/A-Verhältnisse eingestellt, die leicht von den Soll-F/A-Verhältnissen abweichen. Bei gleichen F/A-Verhältnissen sollten sich auch vergleichbare Auflösungsgeschwindigkeiten ergeben. Um diesen Aspekt zu überprüfen, wurde das mittlere F/A-Verhältnis, $0,01 \mu\text{m/s}$, in einer zweiten Serie mit anderen Durchflußraten und Probeneinwaagen dargestellt. Diese Serie wurde bis zur nahezu vollständigen Auflösung der Proben, jedoch maximal 200 Tage, gefahren. Alle anderen Serien liefen bis zur 50%igen Auflösung, kalkuliert auf der Basis der SiO_2 -Analyse, jedoch maximal 60 Tage. Die Durchflußraten und die eingewogenen Faser-massen sind bei einem gegebenen F/A-Verhältnis für beide pH-Werte identisch. Die genauen Daten sind in Tabelle A 24 (Seite 209 im Anhang) dargestellt.

Die Zusammensetzungen der Angriffslösungen sind in Tabelle A 25 (Seite 210 im Anhang) angegeben. Der Vorratsbehälter der pH-7,5-Lösung wurde mit einem CO_2/N_2 -Gasgemisch gespült, um den pH-Wert konstant zu halten. Mittels einer peristaltischen Pumpe wurde die Angriffslösung mit der nominellen Durchflußrate durch die Zelle transportiert. Das durchgeflossene Eluat wurde in Sammelbehältern aufgefangen und in Intervallen quantitativ auf gelöstes SiO_2 , CaO , Al_2O_3 und B_2O_3 sowie auf alle

weiteren Komponenten, soweit sie mit mehr als 1 % Massenanteil in den Proben vorhanden sind, analysiert.

Die Temperatur der Zelle wurde mit einem Wasserbad konstant auf 37 ± 1 °C gehalten. Die zu analysierenden Flüssigkeitsproben wurden nach jeweils 1, 3, 7, 15 sowie nach ca. 25, 40 und 60 Tagen entnommen. Für die Langzeitserien bei $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ wurden zusätzlich Analysen nach ca. 90, 110, 140, 170 und nach 200 Tagen durchgeführt. Die aus den SiO_2 -Analysen erhaltenen Massenverluste sind in den Tabellen A 26, a bis h, Seite 211 ff., im Anhang dargestellt.

Die Inspektion der Zellen nach Ablauf der Versuchszeit ergab in keinem Fall einen Hinweis auf einen offensichtlichen Fehler. Die korrodierten Fasern wurden mit destilliertem Wasser gespült, 24 Stunden bei 110 °C getrocknet und anschließend in einem Exsikkator über Kieselgel aufbewahrt.

3.2.4 Charakterisierung der Proben nach dem In-vitro-Test

Die korrodierten Proben wurden anschließend wieder im Raster-Elektronenmikroskop begutachtet. Die entsprechenden Aufnahmen finden sich im Anhang „Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen“ (Seite 257 ff.); zum Vergleich

sind die Ausgangsproben ebenfalls dargestellt.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Direkte Versuchsergebnisse

3.3.1.1 Morphologie der Proben nach dem In-vitro-Test

In einer früheren Arbeit [62] wurden korrodierte Fasern entsprechend ihrer Erscheinungsform geordnet:

Typ I:
Nahezu unveränderte Morphologie im Vergleich zu der Ausgangsfaseroberfläche, Indiz für kongruente Auflösung

Typ II:
Bildung kristalliner Bereiche auf der Faseroberfläche (eventuell Präzipitate), die mit zunehmender Versuchsdauer zu einer geschlossenen Schicht zusammenwachsen können

Typ IIa:
Bildung einer oder mehrerer mechanisch instabiler Schichten, die sich häufig ablösen und neben den verbleibenden dünnen Fasern als Bruchstücke vorhanden sind; dieser Typ wird häufig bei langen Versuchszeiten zeitlich als Nachfolger von Typ II beobachtet

Typ III:
Lochfraßkorrosion

3 Teil II: In-vitro-Untersuchungen

Entsprechend diesem Schema wurden die Fasern geordnet. Die zusammenfassende Übersicht ist für pH 7,5 in Tabelle A 27 (Seite 215 im Anhang) und für pH 4,5 in Tabelle A 28 (Seite 216 im Anhang) dargestellt. Der Typ III trat in dieser Untersuchung nicht auf.

Grundsätzlich sind die folgenden Tendenzen erkennbar:

□ Fasern, die sich bei einem gegebenen pH-Wert relativ gut lösen, zeigen vorwiegend eine Morphologie gemäß Typ I bzw. IIa, z.B. Glasfaser B-01-0.9 und Glaswolle C (bei pH 7,5) oder Zetwool und Steinwolle HT 7 (bei pH 4,5).

□ Mit zunehmendem F/A-Verhältnis und längerer Versuchszeit ist häufig der Übergang von Typ I zu Typ II bzw. IIa zu beobachten.

Diese Tendenzen können im Einzelfall stark modifiziert sein. Bei Fasern, die einen hohen Massenverlust innerhalb des Versuchszeitraumes zeigen, waren z.T. nur noch wenige fragmentarische Materialreste zu detektieren. In Einzelfällen waren keine REM-Aufnahmen mehr möglich.

3.3.1.2 Massenverlust

Die exakte Ermittlung des Massenverlustes erfordert normalerweise die Ana-

lyse aller gelösten Glasbestandteile, was allerdings mit einem enormen Aufwand verbunden ist. Bei den vorliegenden Fasern ist dies zum Teil auch gar nicht möglich. Bei einigen Glaskomponenten (z.B. Na und Ca) ist der in Lösung gegangene Anteil gegenüber dem in der Angriffslösung bereits vorhandenen Anteil verschwindend gering und z.T. nicht mehr detektierbar.

Als konservativer Lösungsansatz dient daher die Annahme, daß der Anteil gelöstes SiO_2 ein Maß für die Auflösung und gleichzeitig ein Maß für die minimale chemische Reaktion mit dem umgebenden Medium ist. Bei vorausseilender Auslaugung von beweglichen Ionen wie z.B. Alkali-, Erdalkali- oder Borionen kann der Anteil des reagierten Glasvolumens größer sein. Das SiO_2 -Netzwerk und damit die Fasergeometrie bleiben dabei aber erhalten. Um den Massenverlust der verschiedenen Fasern auf diese Art vergleichen zu können, sollte er auf der Basis der Analyse derselben Glaskomponente erfolgen. Bis auf Wollastonit und die Zetwool ist dies SiO_2 . Bei Wollastonit wird ebenfalls SiO_2 , hier aber nicht als Netzwerkbildner, sondern als eine von zwei Kristallgitterkomponenten herangezogen. Die Zetwool ist im Gegensatz zu allen anderen Fasern kein silicatisches, sondern ein Calcium-Aluminat-System. Hier wurde der Massenverlust auf der Basis der Al_2O_3 -Analyse

ermittelt. Alternativ könnte auch CaO bei diesen beiden Proben herangezogen werden. Aufgrund des hohen Ca^{2+} -Anteils in den Angriffslösungen ist dieses Element aber nicht ausreichend exakt im Eluat detektierbar.

Die ermittelten Massenverluste sind grafisch als Funktion der Zeit für jede Probe und alle pH/(F/A)-Kombinationen dargestellt (siehe Abbildung 20; weitere Abbildungen: A 23 bis A 35 im Anhang, Seite 221 ff.). Für jede Probe sind die Ergebnisse des Kurzzeit- und des Langzeitversuches (für $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$) im Vergleich wiedergegeben. Im allgemeinen war die Übereinstimmung zwischen diesen Versuchen im Rahmen der

Fehlergrenzen relativ gut. Die Zetwool und die Steinwolle HT 7 zeigten in den Langzeitversuchen bei pH 4,5 eine relativ große Streuung der Meßwerte. Während dies bei der Zetwool auf die starke Fragmentierung und das gleichzeitig geringe verbliebene Probenmaterial zurückzuführen ist, ist für die HT 7 keine offensichtliche Ursache erkennbar.

Die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert der drei Meßzellen. Die Fehlerbalken sind nur vorhanden, wenn es die Übersichtlichkeit bzw. die Auflösungsgenauigkeit des verwendeten Graphikprogrammes erlaubt. Bis auf wenige Ausnahmen liegt die Abweichung unter $\pm 20\%$ des

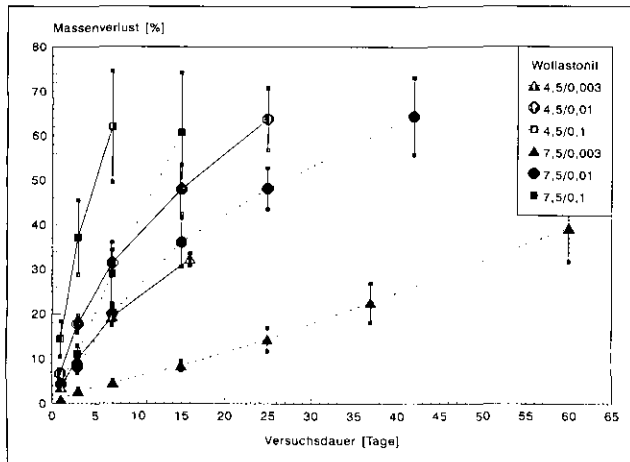


Abbildung 20:
Gemessene Massenverluste der Probe Wollastonit bei beiden pH-Werten und den F/A-Verhältnissen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 % Auflösung, max. 60 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen

Mittelwertes. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde der Ordinatenmaßstab unterschiedlich gewählt. Außerdem sind bei dieser Auswertung die unterschiedlichen Durchmesser der Fasern noch nicht berücksichtigt. Es lassen sich aber bereits zwei grundsätzliche Tendenzen ausmachen:

□ Im allgemeinen ist der Massenverlust bei beiden pH-Werten um so größer, je größer das F/A-Verhältnis ist. Ausnahmen sind:

B-01-0.9:
Die Massenverluste bei pH 4,5 und den F/A-Verhältnissen 0,01 und 0,1 $\mu\text{m}/\text{s}$ sind im Rahmen der Fehlergrenzen identisch.

RCF 1:
Auch hier besteht kein signifikanter Unterschied bei denselben Versuchsparametern wie bei B-01-0.9.

MMVF 11:
Alle Kurven beim niedrigen pH-Wert sind deckungsgleich. Beim F/A-Verhältnis von 0,1 $\mu\text{m}/\text{s}$ wurde der 60-Tage-Versuch nach 39 Tagen abgebrochen, da kein SiO_2 mehr detektiert werden konnte.

□ Die Proben Zetwool und HT 7 lösen sich bei pH 4,5 sehr schnell, bei pH 7,5 nur sehr langsam auf. Das Auflösungs-

verhalten der Proben B-01-0.9 und Glaswolle C ist dagegen umgekehrt. Sie lösen sich bei pH 7,5 sehr viel besser als beim niedrigeren pH-Wert. Besonders bei diesen Fasern scheint der pH-Wert einen größeren Effekt zu besitzen als die unterschiedlichen F/A-Verhältnisse.

3.3.1.3 Auflösungs geschwindigkeit

Die Durchmesser der untersuchten Proben unterscheiden sich z.T. um den Faktor 2 (vgl. HT 7 und Glaswolle C in Tabelle A 22 [Seite 207 im Anhang]). Es ist daher für einen Vergleich des Auflösungsverhaltens sinnvoller, eine geometrieunabhängige Auflösungsgeschwindigkeit heranzuziehen [64].

Die Auflösung von Glas ist direkt proportional der Oberfläche A und der Zeit t. Die Auflösungsrate ergibt sich bei einer anfänglichen Dicke X nach

$$dX/dt = k_0/\rho \quad (11)$$

k_0 : Auflösungsrate, ausgedrückt als Gewichtsverlust pro Flächen- und Zeiteinheit

ρ : Dichte des Glases

Im speziellen Fall von Fasern erschien es einsichtiger, eine radiusbezogene Auflösungsgeschwindigkeit v in nm/Tag zu definieren. Unter der Voraussetzung,

daß die Länge der Fasern während der Reaktion näherungsweise konstant bleibt, ergibt sich für den Massenverlust $\Delta_{(d,t)}$ einer Faser mit konstanter Auflösungsgeschwindigkeit:

$$\Delta_{(d,t)} = 1 - [1 - (2v \cdot t/d)^2] \text{ für } d > 2v \cdot t$$

$$\Delta_{(d,t)} = 1 \text{ für } d \leq 2v \cdot t \quad (12)$$

Mit genügender Genauigkeit kann die Durchmesserverteilung von Mineralfasern

als eine logarithmische Normalverteilung angenommen werden, die bei der Berechnung des Massenverlustes eines Faserkollektivs berücksichtigt werden muß. Der Durchmesser d einer einzelnen Faser muß daher durch die differentielle Durchmesserverteilung $q_{0(d)}$ ersetzt werden (s : Standardabweichung):

$$q_{0(d)} = (s \cdot d/2 \cdot \sqrt{\pi})^{-1} \cdot \exp[-(1/s^2) \cdot \ln(d/d_{50})^2] \quad (13)$$

Der relative Massenverlust $J_{(v,t)}$ eines Faserkollektivs ist durch das Integral

$$J_{(v,t)} = \int_{d=0}^{d=2v \cdot t} [q_{0(d)}] dd + \int_{d=2v \cdot t}^{d=\infty} [\Delta_{(d,t)} \cdot q_{0(d)}] dd \quad (14)$$

gegeben, das nach

$$J_{(v,t)} = 1 - 1/2 \operatorname{erfc} [1/s \cdot \ln \{ (2v \cdot t)/d_{50} \}] + (2v \cdot t)/d_{50} \cdot \exp[s/2]^2 \cdot \operatorname{erfc}[1/s \cdot \ln \{ (2v \cdot t)/d_{50} \}] + s/2 - (2v^2 \cdot t^2)/d_{50}^2 \cdot \exp[s]^2 \cdot \operatorname{erfc}[1/s \cdot \ln \{ (2v \cdot t)/d_{50} \} + s] \quad (15)$$

(erfc : complementary error function, Gaußsche Fehlerfunktion)

umgeformt werden kann.

$J_{(v,t)}$ wird aus der Analyse der gelösten Glaskomponenten (hier: SiO_2) bestimmt. Die Auflösungsgeschwindigkeit v wird numerisch mit Gleichung (15) bestimmt. Es sei darauf hingewiesen, daß hier die charakteristischen Durchmesser der Massenverteilungssummen eingesetzt werden müssen.

Die nach Gleichung (15) berechneten Auflösungsgeschwindigkeiten sind als Funktion der Zeit für jede Probe und alle $\text{pH}/[\text{F}/\text{A}]$ -Verhältnisse dargestellt. Es zeigt sich, daß im allgemeinen zum Zeitpunkt des Abbruchs der Versuche eine nahezu konstante Auflösungsgeschwindigkeit erreicht wurde. Diese Aussage ist

3 Teil II: In-vitro-Untersuchungen

bei den Versuchen mit kurzer Laufzeit (nur ein bis drei Analysenintervalle) aufgrund der hohen Auflösungsgeschwindigkeit allerdings mit großer Unsicherheit behaftet. In den Abbildungen 21 (pH 7,5)

und 22 (pH 4,5) sind zum besseren Vergleich die jeweils erreichten Auflösungsgeschwindigkeiten als Funktion des F/A-Verhältnisses dargestellt; weitere Abbildungen (A 36 bis A 42) siehe Anhang.

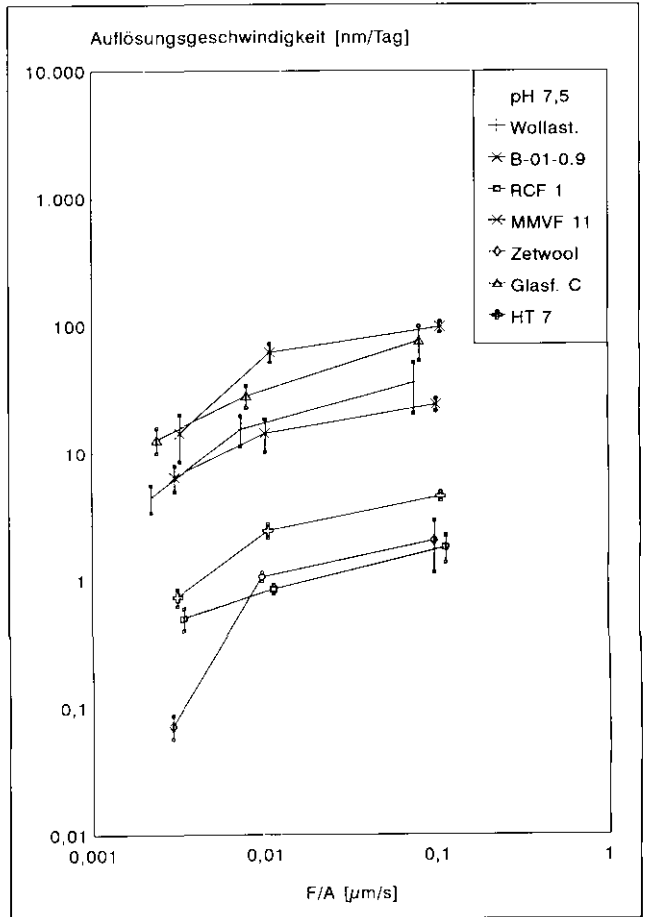


Abbildung 21:
Vergleich der gemessenen
Auflösungsgeschwindigkeiten
aller Proben bei pH 7,5
(Versuche bis 50 % Auflösung,
max. 60 Tage); die Fehler-
balken repräsentieren die
maximale Abweichung
vom Mittelwert von jeweils
drei Meßzellen

Unter Beachtung der Größenordnungen und Fehlerbalken ergeben sich die folgenden Rangfolgen bezüglich der Auflösungsgeschwindigkeiten:

□ bei pH 4,5:
 Zetwool > HT 7 >> Wollastonit >>
 Glaswolle C > B-01-0.9 ≈ RCF 1 >>
 MMVF 11

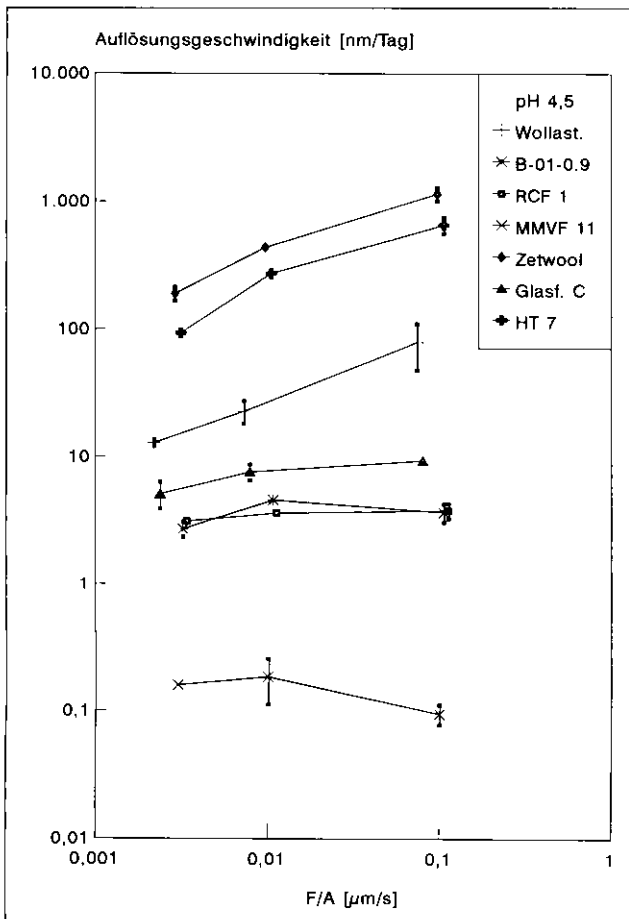


Abbildung 22:
 Vergleich der gemessenen
 Auflösungsgeschwindigkeiten
 aller Proben bei pH 4,5
 (Versuche bis 50 % Auflösung,
 max. 60 Tage); die Fehler-
 balken repräsentieren die
 maximale Abweichung
 vom Mittelwert von jeweils
 drei Meßzellen

□ bei pH 7,5:

B-01-0.9 \geq Glaswolle C > Wollastonit
 \geq MMVF 11 \gg HT 7 > Zetwool \approx
RCF 1.

Es fällt dabei auf, daß die Zetwool und HT 7 beim niedrigeren pH-Wert Auflösungsgeschwindigkeiten zwischen 100 und 1000 $\mu\text{m}/\text{Tag}$ erreichen, d.h. etwa um mindestens eine Größenordnung höhere Werte als alle anderen Fasern.

3.3.2 Korrelation der In-vitro-Ergebnisse mit denen der intratrachealen Instillation

Als Vergleichsversuch wurde die intratracheale Instillation herangezogen, da hier die größte Datenbasis für identische Faserproben vorhanden ist. Aus dieser Methode werden Halbwertszeiten in Tagen als Ergebnisse erhalten (siehe Tabelle 19 und Abschnitt 2.3.4). Das Ergebnis des In-vitro-Versuches ist dagegen eine Auflösungsgeschwindigkeit in nm/Tag . Es liegen also zwei Meßwerte vor, deren Einheiten vor jeglicher Korrelation vereinheitlicht werden müssen.

Hierzu wurden zwei Wege verfolgt. Im anschließenden Abschnitt 3.3.2.1 werden die Halbwertszeiten der intratrachealen Instillation in Auflösungsgeschwindigkeiten umgerechnet. Auf

der Basis dieser Ergebnisse wird im Abschnitt 3.3.2.2 die In-vitro-Auflösung anhand von Faserzahlen simuliert und mit den realen Daten der intratrachealen Instillation verglichen.

3.3.2.1 Wichtung der Auflösungsgeschwindigkeit

Zur Korrelation der unterschiedlichen Ergebnisse wurden die vom ITA übermittelten Halbwertszeiten (siehe Tabelle A 29, Seite 217 im Anhang) in eine mittlere fiktive Auflösungsgeschwindigkeit v' umgewandelt.

Unter der Annahme, daß die chemische Auflösung den größten Einfluß bei der Faser clearance hat, ist die Halbwertszeit $T_{1/2}$ geometrieabhängig, d.h., sie ist eine Funktion des Durchmessers:

$$T_{1/2} = f(d) \quad (16)$$

Die mittlere fiktive Auflösungsgeschwindigkeit v' kann damit aus dem Durchmesser berechnet werden. Für eine exakte Rechnung müßte die Durchmesser-Verteilung gemäß (13) herangezogen werden. Bei einer angenommenen systematischen Meßgenauigkeit von ca. ± 15 bis 20 % erscheint es aber ausreichend, hier nur den $d_{50,A}$ -Wert aus der Anzahlverteilungssumme heranzuziehen:

$$v' = d_{50,A} / \{2 \cdot T_{1/2}\} = \text{const.} \quad (17)$$

Der Versuch, v' mit den einzelnen In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeiten (in Abhängigkeit von pH-Wert und F/A-Verhältnis) zu korrelieren, ergab keine sinnvollen Ergebnisse. Die Regression mit den Methoden der kleinsten Fehlerquadrate ergab jeweils Regressionskoeffizienten $r^2 < 0,4$.

In einem zweiten Näherungsschritt wurde angenommen, daß jeweils nur ein gewisser Teil der Fasern jeweils einem pH-Wert ausgesetzt ist und sich die effektive Auflösungsgeschwindigkeit v° summarisch aus den gewichteten v_{pH} -Werten zusammensetzt:

$$v^\circ = k_{\text{pH}4,5} \cdot v_{\text{pH}4,5} + k_{\text{pH}7,5} \cdot v_{\text{pH}7,5} \quad (18)$$

mit $F/A = \text{const.}$

k_{pH} : Gewichtungsfaktoren für den jeweiligen pH-Wert = const.

Dieses Modell wurde jeweils für alle F/A-Verhältnisse geprüft. Der Regressionskoeffizient r^2 ergab dabei jeweils ein Maximum bei

$$\begin{aligned} k_{\text{pH}4,5} &\approx 0,1 \pm 0,02 \text{ und} \\ k_{\text{pH}7,5} &\approx 0,89 \pm 0,02 \end{aligned} \quad (19)$$

Insgesamt waren die r^2 -Werte kleiner als 0,5. Erst nachdem v° und v' für Wolastonit und Zetwool aus der Rechnung eliminiert wurden, stiegen die Regressionskoeffizienten signifikant an. Für die F/A-Verhältnisse 0,003 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ stieg r^2 auf Werte über 0,8, für das mitt-

lere F/A-Verhältnis blieb r^2 unter 0,6. Dieses Ergebnis beruht zunächst auf den Daten von fünf Fasern. Es wurde zusätzlich die Faser CS* hinzugezogen, die ebenfalls mittels intratrachealer Instillation, aber nicht im In-vitro-Versuch untersucht worden ist. Diese Probe ist chemisch identisch mit der Glaswolle C, besitzt aber mit $d_{50,A} = 0,97 \mu\text{m}$ einen fast doppelt so großen Durchmesserwert. Die intratracheale Halbwertszeit ist mit 38 Tagen gegenüber der Glaswolle C (30 Tage) etwas höher. Die Einbeziehung von CS* änderte die Korrelation von v° mit v' nur unwesentlich. Die für diese Korrelation verwendeten Daten sind in Tabelle A 29 (siehe Seite 217 im Anhang) zusammengefaßt.

Das Ergebnis der Regressionsanalyse zur Korrelation von v° mit v' ist in Abbildung A 43 (siehe Seite 241 im Anhang) dargestellt. Zur Regression wurden die sechs Fasern Glaswolle C, B-01-0.9, MMVF 11, HT 7, RCF 1 und Faser CS* betrachtet. Rein mathematisch könnten sowohl die Werte für das hohe als auch für das niedrige F/A-Verhältnis herangezogen werden. Der Vergleich mit v' zeigt aber, daß die Werte von $v^\circ_{0,003}$ etwa vergleichbar mit v' sind, die von $v^\circ_{0,1}$ aber deutlich höher. Dies ist ein Indiz, daß das niedrigere F/A-Verhältnis die realen biologischen Verhältnisse möglicherweise besser widerspiegelt.

3 Teil II: In-vitro-Untersuchungen

In Abbildung 23 ist v° als Funktion v' gemäß der allgemeinen Gleichung

$$v^{\circ} = v_{(pH\ 7,5; F/A\ 0,003)} \cdot 0,89 + v_{(pH\ 4,5; F/A\ 0,003)} \cdot 0,11 \quad (20)$$

aufgetragen.

Die Regressionsgerade entspricht der Gleichung

$$v^{\circ} = 2,154 \cdot 0,947 \cdot v' \quad (21)$$

mit $r^2 = 0,835$

In Abbildung 24 ist in einer ähnlichen Darstellung der Kanzerogenitätsindex KI

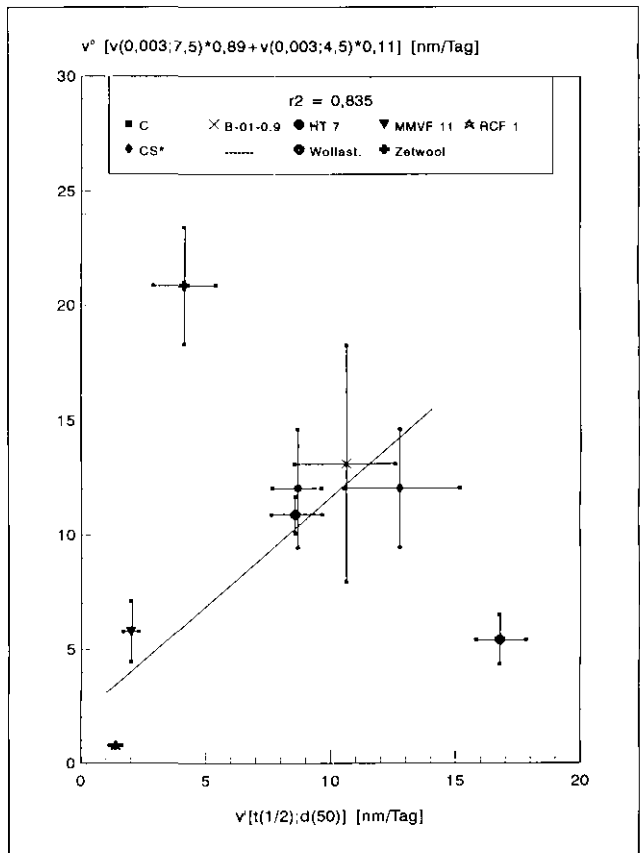


Abbildung 23: Gewichtete Auflösungs-geschwindigkeiten bei $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$ als Funktion der fiktiven Auflösungs-geschwindigkeit v' , errechnet aus den d_{50} -Werten und den Halbwertszeiten bei der intratrachealen Instillation; mit Regressionsgerade. Bei der Regression wurden die Proben Wollastonit und Zetwool nicht berücksichtigt. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichungen

als Funktion der Halbwertszeit dargestellt. Auch hier blieben die Proben Wollastonit, für die der KI auch nicht gilt, und Zetwool unberücksichtigt. Vor einem Vergleich mit dem Modell der gewichteten Auflösungsgeschwindigkeiten ist allerdings eine weitere Einschränkung zu beachten.

Da dieselbe Datenbasis wie beim Modell der gewichteten Auflösungsgeschwindigkeit verwendet wurde, befinden sich im Bereich $40 > KI > 20$ nur drei Datenpunkte. In der Literatur ist aber ausreichend belegt, daß in diesem Bereich durchaus eine

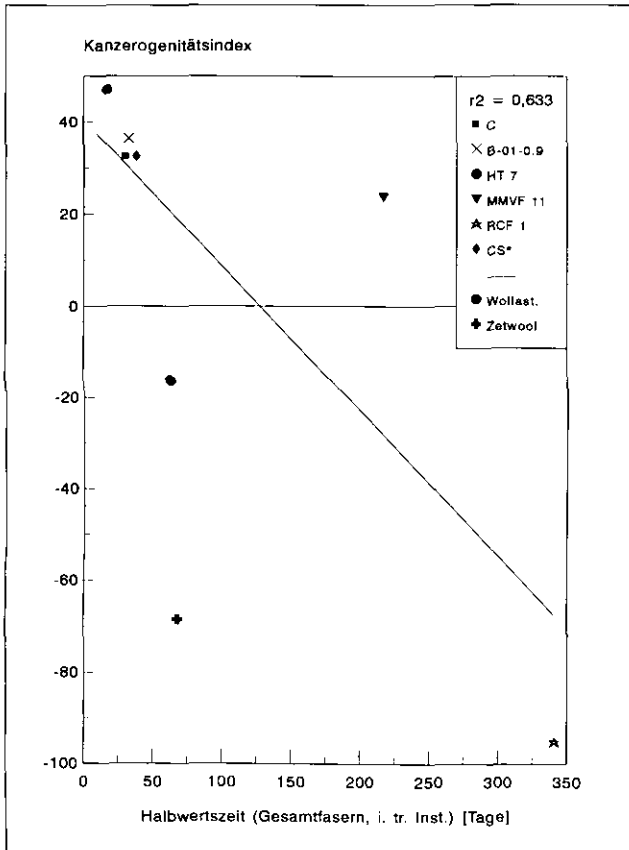


Abbildung 24:
Kanzergenitätsindex als Funktion der Halbwertszeit (Gesamtfasern, intratracheale Instillation) mit Regressionsgerade. Bei der Regression wurden die Proben Wollastonit und Zetwool nicht berücksichtigt. Weitere Erläuterungen siehe Text

sinnvolle Korrelation vorhanden ist. Im Umkehrschluß ergibt sich aber gerade daraus auch die Einschränkung zur Anwendung des KI. Für Fasermaterialien mit einem KI < 20 kann selbst tendenziell keine Aussage getroffen werden.

3.3.2.2 Simulationsrechnungen

Im In-vitro-Test wird die Auflösungs-geschwindigkeit einer Faser gemessen, eine geometrieunabhängige Materialeigen-schaft. Im In-vivo-Test wird dagegen die Faser-clearance in der Ratten-lunge be-stimmt, eine komplexe Größe, die auch von der Fasergeometrie und anderen Parametern beeinflußt wird. Um die Ergebnisse der beiden Tests quantita-tiv zu vergleichen, wird deshalb ein Modell benötigt, mit dem sich die Faser-clearance in der Lunge beschreiben läßt.

Ein einfaches Modell ist die Clearance durch Auflösung. Das heißt, der einzige Clearancemechanismus ist die chemische Auflösung der Fasern. Damit läßt sich das Clearanceverhalten mit zwei Para-metern beschreiben: Fasergeometrie und Auflösungs-geschwindigkeit. Dieses Modell ist sicherlich sehr einfach und vernachlässigt viele Einflußfaktoren; es hat jedoch den Vorteil, daß die beiden Parameter quantitativ bestimmbar sind und deshalb eine Simulation möglich ist.

Für eine einzelne Faser, die der chemi-schen Auflösung unterliegt, gilt:

$$d_t = d_0 - 2 \cdot v \cdot t \quad (22a)$$

$$l_t = l_0 - 2 \cdot v \cdot t \quad (22b)$$

d_t, l_t : Faserdurchmesser bzw. Faserlänge zur Zeit t

d_0, l_0 : Faserdurchmesser bzw. Faserlänge zu Versuchsbeginn

v : radiale Auflösungsgeschwindigkeit

t : Zeit

Wird d_t kleiner als 0, kann die Faser als vollständig aufgelöst betrachtet werden. Bei einer größeren Faserzahl können Durchmesser und Länge jeder einzelnen Faser mit Gleichung (22) bestimmt wer-den. Eine Abnahme der Faserzahl mit der Zeit ergibt sich daraus, daß eine wachsende Zahl von Fasern ein $d_t < 0$ aufweist. Die Faserzahl zu einem bestimmten Zeitpunkt ist die Summe aller Fasern, die noch einen Durchmes-ser > 0 haben. Es gilt:

$$N_t = \sum n(d_t > 0) \quad (23)$$

N_t : Faserzahl zum Zeitpunkt t

Mit Gleichung (22) und (23) lassen sich die Faserzahlen eines geometrisch cha-rakterisierten Faserensembles zu jedem Zeitpunkt berechnen. Es ist dadurch möglich zu prüfen, ob sich die im In-vivo-Versuch gemessenen Faserzahlen mit den im In-vitro-Versuch gemessenen

Auflösungsgeschwindigkeiten simulieren lassen.

Bei der folgenden Simulation wurde jeweils die Faserstichprobe des ersten Sektionstermins als Ausgangsensemble verwendet. Als radiale Auflösungsgeschwindigkeit wird bei jedem pH-Wert und F/A-Verhältnis der 60-Tage- bzw. 50%-Wert genutzt. Es wurden jeweils nur Fasern mit einem $l/d > 3$ gezeichnet. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen A 44 bis A 50 (Seite 242 ff. im Anhang) aufgetragen. Werte über 100 %, also Faserzahlzunahmen, ergeben sich dadurch, daß Partikeln (d.h. $l/d < 3$) im Laufe der Korrosion zu Fasern (d.h. $l/d > 3$) werden können und somit die Faserzahl erhöhen.

Als gemeinsames Verhalten zeigt sich, daß die Faserzahlen des In-vivo-Versuches von den simulierten Faserzahlen eingehüllt werden, d.h. je nach pH-Wert und F/A-Verhältnis ergibt die Simulation höhere oder niedrigere Faserzahlen als der In-vivo-Versuch. Es fällt auf, daß die simulierten Werte in zwei Gruppen zerfallen, durchgängig für alle Zeiten höhere Faserzahlen als in vivo und durchgängig für alle Zeiten niedrigere Faserzahlen als in vivo. Der entscheidende Parameter ist dabei der pH-Wert, das F/A-Verhältnis ist weniger wichtig.

Diese Beobachtung erlaubt bereits zwei wichtige Schlußfolgerungen:

1. Die Annahme, daß sich das In-vivo-Verhalten von Fasern durch eine Überlagerung von Auflösung im nahezu neutralen Milieu und Auflösung im sauren Milieu beschreiben läßt, wird bestätigt.
2. Das F/A-Verhältnis des In-vitro-Versuches hat einen geringeren Einfluß; die bei unterschiedlichen F/A-Verhältnissen gemessenen Geschwindigkeiten zeigen in der Simulation ein qualitativ ähnliches Bild.

In einem nächsten Schritt wird deshalb die 89/11-Gewichtung (vgl. Seite 127) aus dem Abschnitt 3.3.2.1. auch in der Simulation verwendet. Dabei können zwei rechnerische Möglichkeiten gewählt werden. Das Faserensemble wird entweder am Anfang in zwei Teilensembles aufgeteilt, die dann unabhängig voneinander korrodieren (d.h. 89 % der Fasern lösen sich bei pH 7,5 auf, 11 % bei pH 4,5). In der Realität würde dies der Annahme entsprechen, daß von Beginn an ein fester Anteil der Fasern einem pH-Wert von 7,5 (extrazelluläres Milieu) und der Rest einem pH von 4,5 (intrazelluläres Milieu) ausgesetzt ist und dort jeweils bis zur vollständigen Auflösung bzw. bis Versuchsende verbleibt.

Eine andere Möglichkeit ist die Annahme, daß zu jedem Zeitpunkt 89 % der Fasern einem pH-Wert von 7,5 (bzw. 11 % der Fasern einem pH-Wert von 4,5) ausgesetzt sind. Bei der Simulation bedeutet dies, daß in jedem Zeitintervall zwei Teilensembles gebildet werden, die sich mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten auflösen. In beiden Fällen ergibt sich die simulierte Faserzahl zu jedem Zeitpunkt aus der Summe der beiden Teilensembles.

Die Abbildungen A 51 bis A 57 (Seite 249 ff. im Anhang) zeigen die Ergebnisse für die erste Variante, d.h. eine Aufteilung in zwei Teilensembles am Anfang. Aufgetragen ist die Zahl der bereits aufgelösten Fasern in der Simulation gegen die im In-vivo-Versuch bereits eliminierten Fasern. Jeder Punkt in der Grafik repräsentiert einen Sektionstermin. Wenn die Simulation exakt die In-vivo-Faserzahlen ergeben würde, lägen die Punkte auf einer Geraden mit der Steigung 1. Es ist deshalb jeweils die Ausgleichsgerade der linearen Regression durch den Ursprung eingezeichnet. Der Wert zum Zeitpunkt 0, d.h. 0 % aufgelöste bzw. eliminierte Fasern, wurde in der Regression berücksichtigt. Die Ergebnisse der beiden Simulationsvarianten sind in den Tabellen A 30 bis A 31 (Seite 218 f. im Anhang) dargestellt.

Aus den Ergebnissen lassen sich zwei Aussagen gewinnen. Die Güte der Regression zeigt an, wie gut sich die In-vivo-Meßwerte mit dem gewählten Modell simulieren lassen. Die Steigung der Ausgleichsgeraden deutet an, welchen Anteil die chemische Auflösung an der Gesamtclearance hat. Tritt als einziger Clearance-Mechanismus die chemische Auflösung bei pH 7,5 und pH 4,5 im Verhältnis 89/11 auf, müßte die Geradensteigung 1 betragen. Ein Wert < 1 bedeutet somit, daß es neben der chemischen Auflösung weitere Clearancemechanismen gibt oder daß die Gewichtung der pH-Werte nicht optimal ist. Eine Steigung > 1 zeigt, daß es entweder einen „Anti-Clearance-Mechanismus“ gibt oder daß die Gewichtung der pH-Werte nicht optimal ist. Als „Anti-Clearance-Mechanismus“ ist ein Zerbrechen der Fasern in der Lunge denkbar. Dadurch erhöht sich die Faserzahl in der Lunge. Im In-vivo-Versuch mißt man die Überlagerung von echter Faserclearance und dieser Faserzahlerhöhung, während die Simulation den Effekt nicht berücksichtigt. In diesem Fall ergibt somit die Simulation systematisch eine stärkere Faserzahlabnahme als in vivo beobachtet.

Eine nähere Betrachtung zeigt, daß eine schlechte Korrelation vor allem bei Zetwool, Steinwolle HT 7 und bei Wollastonit mit $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$ auftritt. Bei

diesen Fasern ist außerdem die Steigung der Ausgleichsgeraden deutlich < 1 . Die Beschreibung des In-vivo-Meßergebnisses mit einer kumulierten Simulation der Gewichtung pH 7,5/pH 4,5 = 89/11 ist hier offensichtlich nicht ausreichend.

Die Fasern HT 7 und Zetwool zeigen große Unterschiede der Auflösungsgeschwindigkeiten zwischen saurem und neutralem Milieu. Dies führt bei der kumulierten Simulation dazu, daß das Ensemble mit der größeren Geschwindigkeit sehr rasch keine Fasern mehr enthält und deshalb keinen Einfluß mehr auf die Gesamtfaserzahl hat. In diesem Fall kann die intervallweise Simulation sinnvoller sein und die Realität besser beschreiben.

Die Ergebnisse der intervallweisen Simulation sind in Tabelle A 31 (Seite 219 im Anhang) für das F/A-Verhältnis 0,003 $\mu\text{m/s}$ dargestellt. Der Korrelationskoeffizient verbessert sich bei HT 7 und Zetwool deutlich, während bei den übrigen Fasern keine wesentliche Veränderung auftritt und beim Wollastonit praktisch keine Korrelation mehr besteht.

Dies zeigt, daß (mit Ausnahme des Wollastonits beim F/A-Verhältnis 0,003 $\mu\text{m/s}$) die Faserzahlabnahme im In-vivo-Versuch mit einer chemisch induzierten Auflösung als Hauptclearancemechanismus beschrieben werden kann.

Betrachtet man im weiteren nur das F/A-Verhältnis 0,003 $\mu\text{m/s}$, ergibt sich folgendes Bild:

Der Wollastonit zeigt praktisch keine Korrelation zwischen In-vivo- und In-vitro-Ergebnissen. Im Vorhergehenden wurde bereits erläutert, daß der Wollastonit aufgrund seiner Struktur prinzipiell nicht mit den glasigen Fasern vergleichbar ist. Insofern ist die schlechte Korrelation nicht erstaunlich.

Die Faser RCF 1 zeigt eine befriedigende Korrelation und weist eine Geradensteigung < 1 auf. Dies bedeutet, daß neben der Clearance durch chemisch induzierte Auflösung weitere Mechanismen eine Rolle spielen. Die geringe Steigung der Ausgleichsgeraden (0,27) könnte auf die sehr geringe Löslichkeit der Faser zurückzuführen sein. Der Anteil der anderen Clearancemechanismen steigt bei der langen Verweilzeit der Faser in der Lunge an, und der Anteil der chemisch induzierten Auflösung sinkt entsprechend.

Bei der Faser C und bei MMVF 11 treten bei allen F/A-Verhältnissen Geradensteigungen > 1 auf, die Simulation liefert also systematisch größere Faserzahlabnahmen als in vivo beobachtet werden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, daß bei diesen Faserspezies ein Zerbrechen von langen Fasern auftritt. Diese Erklärung wird durch die Veränderung

des I_{50} -Wertes gestützt. In Tabelle A 32 (Seite 220 im Anhang) sind die I_{50} -Werte der Fasern bei den verschiedenen Sektionsterminen dargestellt. Man erkennt bei MMVF 11 und Faser C eine signifikante Abnahme des I_{50} -Wertes, die bei den anderen Fasern in diesem Ausmaß nicht auftritt. Die Verringerung des I_{50} -Wertes könnte auf ein gehäuftes Zerbrechen langer Fasern zurückzuführen sein. Die Simulation berücksichtigt diesen Effekt nicht und führt deshalb zu systematisch größeren Faserzahlabnahmen.

Bei der Faser HT 7 tritt eine tendenzielle Vergrößerung des I_{50} -Wertes mit wachsender Versuchsdauer auf. Dies deutet darauf hin, daß hier ein zusätzlicher Clearancemechanismus auftritt, der besonders kurze Fasern betrifft. Dieser Effekt wird bei der Simulation ebenfalls nicht berücksichtigt. Daraus könnte sich erklären, daß die Simulation bei HT 7 eine kleinere Faserzahlabnahme ergibt als in vivo beobachtet wird.

Die Faser B-01-0.9 weist eine Geradensteigung von 1 und gute Korrelationen auf. Es ist hier also anzunehmen, daß die chemisch induzierte Auflösung der Hauptclearancemechanismus ist.

Die Zetwool zeigt eine Geradensteigung von 1,5; dies bedeutet, daß die simulierte Faserzahlabnahme deutlich größer

ist als im In-vivo-Versuch gemessen. Die Zetwool ist aufgrund ihrer Zusammensetzung nicht mit den glasigen Fasern zu vergleichen. Es ist deshalb zu erwarten, daß die Beschreibung ihrer Korrosion mit den Methoden der Glaskorrosion nicht optimal ist.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei den Fasern B-01-0.9, RCF 1, MMVF 11, Glaswolle C und HT 7 eine Beschreibung der Faserzahlabnahmen des In-vivo-Versuches mit den in vitro bei pH 4,5 und pH 7,5 gemessenen Auflösungs geschwindigkeiten möglich ist.

3.4 Diskussion

Die Elimination lungengängiger Fasern ist ein komplexer biologischer Prozeß, dessen genaue Mechanismen teilweise unbekannt sind. In der einschlägigen Literatur wird vermutet, daß die chemische Auflösung sicher nicht den einzigen, aber einen sehr wesentlichen Teilprozeß darstellt. Dies dokumentiert sich in der Formulierung des Kanzerogenitätsindex (KI), mit dem die chemische Beständigkeit in Form der Zusammensetzung von Fasern mit den Ergebnissen von In-vivo-Untersuchungen korreliert wird. Es ist gesicherter Kenntnisstand der Glaschemie, daß sich das chemische Verhalten von Glas nur über relativ kleine Zusammensetzungsbereiche vorhersagen läßt. Fol-

gerichtig liefert der KI auch nur bei Werten zwischen ca. 20 und 40 sinnvolle Ergebnisse bezüglich amorpher künstlicher Mineralfasern, wobei seitens der In-vivo-Untersuchungen aufgrund der biologischen Rahmenbedingungen eine gewisse Vereinheitlichung der geometrischen Verhältnisse vorausgesetzt wird.

Mit dem In-vitro-Versuch werden parallel zwei Wege verfolgt. Einerseits wird die unsichere Vorhersage der Beständigkeit über die Zusammensetzung dadurch ausgeschlossen, daß reale Fasern untersucht werden. Andererseits werden die konkreten geometrischen Verhältnisse der Fasern berücksichtigt.

Bereits ein recht einfach erscheinender Ansatz, der allerdings auf gültigen Regeln der Glaschemie beruht, führt zu einer relativ guten Korrelation zwischen Auflösungsgeschwindigkeiten und umgewandelten Halbwertszeiten. Ein wichtiges Ergebnis ist, daß diese Korrelation nur für Glas (im Sinne von amorphen silicatischen Zusammensetzungen) gilt. Wollastonit als von vornherein kristallines Material zeigt eine hohe Fragmentierung, die ursprünglich faserförmige Gestalt geht dabei weitgehend verloren. Der Vergleich in der intratrachealen Instillation zeigt, daß der In-vitro-Versuch hier die Elimination sehr konservativ einschätzt. Es bleibt zu prüfen, ob kristalline

Materialien untereinander zu vergleichen sind, z.B. Gips, Xonotlit.

Das Beispiel Zetwool zeigt, daß auch chemisch grundsätzlich andere Systeme, wenn auch anfänglich amorph, nicht mit silicatischen Zusammensetzungen zu vergleichen sind. Die Zetwool verliert relativ schnell im In-vitro-Versuch ihren amorphen Charakter. Es bilden sich bevorzugt Ca-Al-Hydrate [69]. Die Zetwool ist daher eher als hydraulischer Werkstoff (Material, das unter Wasserverbrauch zu Hydraten reagiert, speziell Bindemittel; bekanntestes Beispiel ist Zement) zu betrachten.

Sowohl das Modell der gewichteten Auflösungsgeschwindigkeiten als auch die Simulationsrechnungen deuten darauf hin, daß eine bessere Übereinstimmung mit den intratrachealen Versuchen erreicht wird, wenn

- beide pH-Werte berücksichtigt werden,
- bei einem niedrigen F/A-Verhältnis gemessen wird.

Bezüglich der Zusammensetzungen von physiologischen Modelllösungen wurden verschiedene Routen in der Literatur verfolgt. In den Lösungen für pH 7,5 ist immer Citronensäure bzw. Citrat vorhanden. Potter und Mattson [53] haben einige dieser Lösungen untersucht und

3 Teil II: In-vitro-Untersuchungen

fanden für dasselbe Glas eine bis zum Faktor 2 differierende Auflösungs-geschwindigkeit. Eine Korrelation mit dem Citronensäuregehalt scheint nicht vorzu-liegen.

Kritischer ist dies bei der Lösung für niedrige pH-Werte zu sehen. Die hier verwendete Lösung wird ebenfalls von Thélohan und de Meringo [57]

eingesetzt. Aufgrund der hohen Ca-Löslichkeit in diesem System arbeiten andere Arbeitsgruppen daran, citronen-säurefreie Lösungen zu erarbeiten. Allerdings ist diesbezüglich in der Literatur noch keine Klärung erfolgt, besonders im Hinblick darauf, welche sonstigen Komponenten in einer „bes-ser simulierten“ Modellösung enthalten sind.

4 Gemeinsame Diskussion beider Teilprojekte

4.1 Vergleichende Bewertung des In-vitro-Versuchs und der intratrachealen Instillation

Zum Vergleich mit der Auflösungs-geschwindigkeit in physiologischen Flüssig-keiten wurden die Kinetikdaten nach intratrachealer Instillation herangezogen, da unter den gewählten Versuchsmetho-den der physikalische Abtransport intak-ter Fasern minimal ist.

Zunächst soll auf den Einfluß der Faser-dicke bei beiden Testsystemen ein-gegangen werden. Die Ergebnisse nach intratrachealer Applikation zeigen für die Glaswolle C und Glaswolle TL keinen wesentlichen Einfluß der Faser-dicke auf die Halbwertszeit der Faser-clearance. Eine mögliche Erklärung ist, daß dickere Fasern nur zu einem ge-ringeren Anteil von alveolären Makro-phagen phagozytiert werden und somit ein größerer Anteil einem neutralen pH-Milieu ausgesetzt ist. Verschiedene Untersuchungen in vitro zeigen, daß Fasern vom Typ Alkali-Erdalkali-Silicat bei einem neutralen pH-Wert eine höhere Löslichkeit aufweisen als bei einem sauren pH-Wert, während Stein-wollfasern im sauren pH-Bereich bes-ser löslich sind als im neutralen Bereich [53, 50]. Weiterhin ist möglich, daß bei phagozytierten Fasern, die von lipidhaltigen Zellmembranen umgeben sind, der Abtransport gelöster Ionen im

Vergleich zum außerzellulären Milieu verlangsamt ist.

Auf der anderen Seite beinhaltet der physikalisch-chemische Ansatz, daß die Auflösung einer Faser von der Dicke abhängt. Aus der obigen Betrachtung der In-vivo-Auflösung stehen beide An-sätze nicht im Widerspruch.

Die früher publizierten Daten bei der Glasfaser B-01-0.9 zeigten eine Abhän-gigkeit der Faserclearance von der Faserdicke nach intratrachealer Instilla-tion [54]). Die Faser mit einem d_{50} -Wert von $1,68 \mu\text{m}$ ergab eine Halbwertszeit von 104 Tagen, die mit einem d_{50} -Wert von $0,51 \mu\text{m}$ von nur 39 Tagen (WHO-Fasern). Aufgrund der unterschiedlichen verwendeten Längen ist dieses Ergebnis aber mit einer gewissen Unsicherheit be-haftet. Hier wäre zu klären, wie der An-teil der phagozytierten Fasern (dicke und dünne) im Vergleich zu der C- und TL-Faser war. Eine andere Erklärung könnte darin liegen, daß möglicherweise die früher verwendeten Testmethoden noch nicht so ausgereift waren (z.B. bezüglich der ausgewerteten Faserzahl).

Bereits ein recht einfach erscheinender Ansatz, der allerdings auf gültigen Regeln der Glaschemie beruht, führt zu einer relativ guten Korrelation zwischen Auflösungs-geschwindigkeiten und umge-wandelten Halbwertszeiten. Ein wichti-

ges Ergebnis ist, daß diese Korrelation nur für Glas (im Sinne von amorphen silicatischen Zusammensetzungen) gilt. Wollastonit als von vornherein kristallines Material zeigt eine hohe Fragmentierung, die ursprünglich faserförmige Gestalt geht dabei weitgehend verloren. Der Vergleich zu der intratrachealen Instillation zeigt, daß der In-vitro-Versuch hier die Elimination sehr konservativ einschätzt. Es bleibt zu prüfen, ob kristalline Materialien untereinander zu vergleichen sind, z.B. Gips, Xonotlit.

Die In-vitro-Untersuchungen haben gezeigt, daß eine konsistente Korrelation zu den im Test mit intrachealer Instillation bestimmten Halbwertszeiten amorpher silicatischer Fasern hergestellt werden konnte. Das Modell der gewichteten Auflösungsgeschwindigkeiten kann auf einen großen Zusammensetzungsbereich angewandt werden. Zur weiteren Absicherung wird aber die Prüfung des Modells an einer größeren Anzahl von Fasern benötigt.

Zu einer Abschätzung der chemischen Beständigkeit von Fasern im Sinne einer Ja/Nein-Entscheidung ist das vorliegende Versuchsmodell mit Hilfe von Gleichung (21) bereits jetzt geeignet. Als Vergleichsmaßstab dient dann eine als unbedenklich eingestufte Faser.

4.2 Weiterer Forschungsbedarf

In-vivo-Untersuchungen

Zwischen den meßbaren Daten über die Faserpersistenz und den Kenntnissen über die Biobeständigkeit in der Rattengruppe klafft noch eine erhebliche Lücke, die durch das Forschungsvorhaben nicht geschlossen werden kann, sondern zunächst durch Interpretationen überbrückt werden muß. Ein wichtiges Beurteilungsverfahren für die Eignung eines Testmodells ist daher, wie weit die Ergebnisse der gemessenen biologischen *Faserpersistenz* an die gesuchte Größe der Materialeigenschaft *Biobeständigkeit* heranzuführen.

Forschungsbedarf besteht auf folgenden Gebieten:

- Beeinflussen entzündliche Reaktionen die Biobeständigkeit mineralischer Fasern in der Lunge?
- Wie hoch ist der Anteil der mucociliären Clearance von Fasern nach fünftägiger inhalativer Exposition? Das ist vor allem bei Fasern mit einer Länge $> 20 \mu\text{m}$ von Bedeutung, da nur diese Faserfraktion nach einem vorliegenden Entwurf eines Versuchsprotokolls der EU für die Bewertung verwendet werden soll.
- Welche Bedeutung hat die Auflösung von Fasern nach Phagozytose durch alveoläre Makrophagen?

Ist der Einfluß der Faserdicke auf Retentionszeiten bei Steinwolle und Glaswolle gleich oder treten Differenzen auf, z.B. bedingt durch unterschiedliche Auflösungsmechanismen beider Fasern innerhalb (bei sauren pH-Werten) und außerhalb von Makrophagen (bei neutralen pH-Werten)?

In-vitro-Untersuchungen

Zur Optimierung der In-vivo-Auflösungssimulation besteht Forschungsbedarf bezüglich der Zusammensetzung der Simulationslösungen, besonders beim niedri-

gen pH-Wert, sowie zum F/A-Verhältnis.

Während die vorgenannten Punkte der Optimierung des bisherigen In-vitro-Verfahrens dienen, besteht grundsätzlich die Notwendigkeit, das Meßverfahren so weiterzuentwickeln, daß sowohl kristalline Systeme (z.B. Wollastonit) als auch nicht-silicatische Systeme sicher untersucht werden können.

Es ist weiterhin notwendig, nicht nur binderfreies Material zu untersuchen, das in der Arbeitswelt kaum auftaucht, sondern Fasern in handelsüblicher Form, d.h. mit Bindermaterial.

5 Anhang zum Abschlußbericht

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Tabellen A 1 bis A 21
Abbildungen A 1 bis A 22
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 1:
Lungenfeuchtgewichte in g nach Inhalation

Material	Expositions- dauer		Tag 3	Tag 17	Tag 31	Tag 93	Tag 365
Kontrolle		Mittel	1,228	1,258	1,256	1,298	1,531
		SA	0,068	0,092	0,077	0,111	0,159
		n	8	8	8	8	8
B-01-0.9	1 Woche	Mittel	1,307	1,197	1,249	1,270	1,422
		SA	0,082	0,108	0,088	0,118	0,133
		n	8	8	8	8	8
B-01-0.9	3 Wochen	Mittel	1,295	1,244	1,238	1,254	1,446
		SA	0,084	0,095	0,080	0,151	0,206
		n	8	8	8	8	8
Glaskugeln	3 Wochen	Mittel	1,199	1,248	1,303	1,263	1,467
		SA	0,140	0,096	0,072	0,142	0,267
		n	8	8	8	8	8
RCF 1	3 Wochen	Mittel	1,323	1,352	1,449 ●●	1,421	1,341
		SA	0,149	0,070	0,101	0,094	0,178
		n	8	8	8	8	8
MMVF 21	1 Woche	Mittel	1,151	1,225	1,338	1,333	1,338
		SA	0,116	0,086	0,089	0,194	0,297
		n	8	8	8	8	8
MMVF 21	3 Wochen	Mittel	1,235	1,317	1,485 ●●	1,293	1,234
		SA	0,097	0,096	0,036	0,131	0,156
		n	8	8	8	8	8

Statistik: Anova und Dunnett's Tests (zweiseitig)

●● $P \leq 1\%$

SA: Standardabweichung

n: Zahl der Proben

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 2:
Fasergrößenverteilung ($l/d > 3/1$) in der Lungenasche und im Aerosol (Inhalationsversuch)

Material	Expositions- dauer	Sektion	Fasern analysiert	Verteilung							
				Faserlänge [μm]				Faserdicke [μm]			
				10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %
B-01-0.9	1 Woche	Aerosol	1 068	3,4	7,9	26,1	75,0	0,56	0,99	1,55	2,19
		3 Tage	1 289	2,2	4,5	9,8	16,7	0,26	0,52	0,86	1,20
		17 Tage	1 251	2,3	4,6	8,8	13,1	0,26	0,52	0,86	1,20
		1 Monat	1 025	2,3	4,3	7,9	11,7	0,26	0,56	0,86	1,20
		3 Monate	892	2,1	4,0	7,1	10,6	0,30	0,52	0,86	1,24
		12 Monate	50	3,6	5,6	13,0	19,4	0,39	0,60	1,95	3,18
B-01-0.9	3 Wochen	Aerosol	2 982	3,5	8,6	27,4	75,6	0,60	0,95	1,55	2,19
		3 Tage	1 207	2,3	4,5	9,5	15,0	0,26	0,56	0,90	1,24
		17 Tage	1 220	2,3	4,5	8,9	13,3	0,30	0,52	0,90	1,24
		1 Monat	984	2,1	3,9	7,6	12,5	0,30	0,56	0,90	1,20
		3 Monate	1 193	2,1	4,0	6,9	10,1	0,34	0,56	0,82	1,16
		12 Monate	38	2,2	3,9	6,5	9,5	0,30	0,54	0,86	1,33
Glaskugeln	3 Wochen	Aerosol	2 819	0,5	0,9	2,2	4,3	0,49	0,90	2,17	4,24
		3 Tage	1 275	0,5	0,8	1,4	2,1	0,44	0,77	1,37	2,05
		17 Tage	1 247	0,5	0,8	1,4	2,1	0,45	0,79	1,39	2,08
		1 Monat	1 289	0,5	0,8	1,4	2,2	0,45	0,77	1,39	2,23
		3 Monate	1 284	0,5	0,8	1,3	2,1	0,42	0,74	1,27	2,02
		12 Monate	1 064	0,5	0,8	1,5	2,3	0,44	0,82	1,45	2,23
RCF I	3 Wochen	Aerosol	2 514	2,4	6,3	22,2	68,3	0,34	0,82	1,81	1,81
		3 Tage	1 281	2,7	5,9	15,8	45,7	0,39	0,65	1,12	1,63
		17 Tage	1 309	2,5	6,1	17,6	42,2	0,30	0,56	0,95	1,42
		1 Monat	1 452	2,6	6,1	18,8	46,1	0,30	0,56	0,99	1,46
		3 Monate	1 303	2,5	5,6	17,6	42,3	0,30	0,60	1,12	1,76
		12 Monate	834	2,6	5,9	13,9	30,6	0,30	0,52	0,94	1,33
MMVF 21	1 Woche	Aerosol	1 041	3,2	7,7	25,4	63,4	0,52	0,99	1,59	2,32
		3 Tage	1 312	2,9	6,7	18,1	41,2	0,43	0,77	1,20	1,68
		17 Tage	1 426	2,4	5,8	17,0	40,6	0,30	0,60	0,94	1,37
		1 Monat	1 186	2,6	6,1	17,0	41,9	0,30	0,60	0,99	1,42
		3 Monate	1 270	2,6	5,9	14,8	37,0	0,26	0,64	1,07	1,46
		12 Monate	510	2,7	5,7	12,0	23,1	0,30	0,52	0,86	1,16
MMVF 21	3 Wochen	Aerosol	2 439	3,1	7,6	24,6	65,8	0,52	0,95	1,68	2,41
		3 Tage	1 239	2,6	5,6	16,5	39,7	0,39	0,69	1,12	1,55
		17 Tage	1 345	2,4	5,8	17,1	41,4	0,34	0,56	0,90	1,29
		1 Monat	1 317	2,4	5,5	16,4	36,8	0,30	0,56	0,94	1,29
		3 Monate	1 315	2,2	5,5	15,4	35,9	0,30	0,56	0,99	1,37
		12 Monate	1 262	2,5	5,8	13,9	29,0	0,30	0,56	0,94	1,29

Tabelle A 3:

Analyse der Zahl und der berechneten Masse der Fasern in der Lungenasche (Inhalationsversuch)

Material	Expositions- dauer	Sektion	n	Analysierte Fasern		Fasern ^{a)} [10 ⁶ /Lunge]		WHO-Fasern [10 ⁶ /Lunge]		Fasern (>20 µm) [10 ⁶ /Lunge]		Berechnete Fasermasse ^{a)} [mg]	
				Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA
B-01-0.9	1 Woche	3 Tage	6	215	17	15,00	4,88	6,63	2,40	0,029	0,052	0,073	0,042
		17 Tage	6	208	6	5,30	3,48	2,09	1,03	0,003	0,004	0,022	0,019
		1 Monat	5	200	12	4,14	1,32	1,62	0,55	0,000	0,000	0,015	0,010
		3 Monate	6	149	63	1,34	0,83	0,42	0,25	0,001	0,003	0,006	0,006
		12 Monate	4	6	3	0,02	0,01	0,01	0,00	0,000	0,000	0,001	0,001
B-01-0.9	3 Wochen	3 Tage	6	201	5	29,25	15,36	13,09	7,85	0,083	0,153	0,141	0,081
		17 Tage	6	204	19	12,78	5,39	5,06	1,65	0,011	0,018	0,057	0,035
		1 Monat	5	197	68	9,80	4,91	3,06	1,55	0,000	0,000	0,047	0,021
		3 Monate	6	199	10	4,86	2,26	1,45	0,67	0,004	0,009	0,015	0,009
		12 Monate	5	8	6	0,09	0,07	0,06	0,06	0,000	0,000	0,001	0,000
Glaskugeln	3 Wochen	3 Tage	6	212	6	325,8	81,9	—	—	—	—	0,472	0,231
		17 Tage	6	208	7	135,9	32,9	—	—	—	—	0,207	0,052
		1 Monat	6	215	6	163,1	55,2	—	—	—	—	0,248	0,080
		3 Monate	6	214	9	100,3	26,3	—	—	—	—	0,141	0,030
		12 Monate	4	212	4	13,9	8,0	—	—	—	—	0,025	0,009
RCF 1	3 Wochen	3 Tage	6	213	7	50,00	12,06	29,60	5,97	3,279	0,479	0,666	0,177
		17 Tage	6	218	18	39,30	13,74	22,08	6,20	2,550	0,617	0,349	0,122
		1 Monat	6	241	20	35,22	9,09	20,41	5,75	2,454	0,670	0,324	0,113
		3 Monate	6	213	17	23,41	6,45	12,65	3,62	1,519	0,259	0,254	0,071
		12 Monate	4	208	7	3,81	0,56	2,28	0,37	0,119	0,025	0,028	0,004
MMVF 21	1 Woche	3 Tage	6	219	11	17,28	7,71	10,72	4,31	1,179	0,422	0,263	0,102
		17 Tage	6	207	16	10,56	5,36	5,90	2,56	0,753	0,194	0,152	0,130
		1 Monat	6	198	7	7,75	3,12	4,61	1,68	0,538	0,180	0,077	0,027
		3 Monate	6	212	15	4,56	2,80	2,50	1,39	0,196	0,084	0,054	0,041
		12 Monate	5	102	79	0,68	0,71	0,35	0,37	0,007	0,008	0,004	0,003
MMVF 21	3 Wochen	3 Tage	6	206	18	49,92	17,12	28,17	9,42	3,211	1,018	0,641	0,266
		17 Tage	6	224	20	39,64	14,93	22,47	9,02	2,612	0,663	0,329	0,126
		1 Monat	6	219	16	29,06	10,91	15,13	3,43	1,678	0,300	0,241	0,084
		3 Monate	6	219	39	15,92	6,61	8,40	3,00	0,647	0,193	0,135	0,059
		12 Monate	6	210	12	3,19	1,27	1,71	0,58	0,082	0,028	0,021	0,007

a) bei Glaskugeln Angabe von Partikelzahl und Partikelmasse

n: Zahl der untersuchten Tiere

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
 Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 4:

Analyse der Faserzahl im Sediment der Lungenspülflüssigkeit (Inhalationsversuch)

Anteil der Faserzahl im Sediment der Lungenspülflüssigkeit an der Faserzahl in der Gesamtlunge
 (gespülte Lunge + Sediment)

Material	Expositions- dauer	Sektion	Fasern ^{a)} [%]	WHO-Fasern [%]	Fasern (l>20 µm) [%]	Berechnete Fasermasse ^{a)} [%]
B-01-0.9	1 Woche	3 Tage	28,8	30,1	25,7	29,1
		17 Tage	10,0	8,9	73,4	5,4
		1 Monat	32,3	31,9	—	17,4
		3 Monate	32,5	28,8	—	26,1
		12 Monate	28,6	43,6	—	61,0
B-01-0.9	3 Wochen	3 Tage	34,4	37,1	—	31,4
		17 Tage	14,0	11,8	—	7,1
		1 Monat	43,9	37,0	—	36,1
		3 Monate	44,5	42,1	—	34,4
		12 Monate	75,8	89,7	—	89,8
Glaskugeln	3 Wochen	3 Tage	26,3	—	—	18,8
		17 Tage	14,1	—	—	16,5
		1 Monat	14,8	—	—	14,3
		3 Monate	53,2	—	—	60,4
		12 Monate	9,3	—	—	12,0
RCF 1	3 Wochen	3 Tage	16,0	15,7	14,1	14,5
		17 Tage	32,4	28,4	21,5	26,2
		1 Monat	33,5	27,2	15,9	24,1
		3 Monate	22,4	17,6	8,9	15,4
		12 Monate	4,8	4,9	5,7	5,8
MMVF 21	1 Woche	3 Tage	6,6	5,7	5,8	5,4
		17 Tage	10,1	7,7	9,8	11,2
		1 Monat	14,1	12,7	6,8	15,4
		3 Monate	27,2	21,9	14,7	38,7
		12 Monate	34,8	26,2	0,0	36,0
MMVF 21	3 Wochen	3 Tage	8,5	7,6	6,4	7,1
		17 Tage	18,6	17,7	16,4	18,3
		1 Monat	4,9	5,3	2,5	5,2
		3 Monate	22,5	18,2	7,1	18,5
		12 Monate	27,1	20,1	0,1	16,3

^{a)} bei Glaskugeln Angabe von Partikelzahl und Partikelmasse

Tabelle A 5:

Analyse der Zahl und der berechneten Masse der Fasern in den Lungen-assoziierten Lymphknoten (LALN) nach Inhalation

Material	Expo- sitions- zeit	Sektion	n	Analysierte Fasern		Fasern ^{a)} [10 ³ /Tier]		WHO-Fasern [10 ³ /Tier]		Fasern (l>20 µm) [10 ³ /Tier]		Berechnete Fasermasse ^{a)} [µg/Tier]	
				Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA
B-01-0.9	1 Woche	3 Tage	2	9	10	1,0	1,1	0,8	0,8	0,08	0,04	0,0	0,0
		17 Tage	2	7	2	0,6	0,2	0,1	0,0	0,00	0,00	0,0	0,0
		1 Monat	2	2	0	0,4	0,5	0,4	0,5	0,00	0,00	0,0	0,0
		12 Monate	2	9	4	1,1	0,8	0,9	0,6	0,00	0,00	0,0	0,0
B-01-0.9	3 Wochen	3 Tage	2	4	2	0,7	0,6	0,4	0,6	0,00	0,00	0,0	0,0
		1 Monat	1	2	—	0,5	—	0,2	—	0,00	—	0,0	—
		3 Monate	1	1	—	0,5	—	0,5	—	0,00	—	0,0	—
Glaskugeln	3 Wochen	3 Tage	2	24	15	38,5	26,3	—	—	—	—	0,1	0,0
		17 Tage	1	61	—	104,7	—	—	—	—	—	0,2	—
		1 Monat	1	119	—	205,0	—	—	—	—	—	0,3	—
		3 Monate	1	110	—	190,3	—	—	—	—	—	0,5	—
		12 Monate	1	46	—	118,1	—	—	—	—	—	0,2	—
RCF 1	3 Wochen	3 Tage	2	185	16	109,1	69,4	32,1	19,3	0,09	0,13	0,5	0,1
		1 Monat	2	186	5	184,9	31,7	51,3	23,6	0,15	0,07	1,1	0,5
		3 Monate	1	143	—	808,4	—	208,9	—	0,39	—	6,3	—
		12 Monate	2	214	20	955,0	681,9	306,2	197,1	0,26	0,29	4,5	2,7
MMVF 21	1 Woche	3 Tage	2	6	0	1,1	0,0	0,3	0,5	0,00	0,00	0,0	0,0
		1 Monat	2	32	9	7,9	2,3	3,3	1,2	0,04	0,00	0,1	0,0
		3 Monate	1	12	—	7,3	—	4,2	—	0,38	—	0,1	—
		12 Monate	1	46	—	11,3	—	4,3	—	0,08	—	0,1	—
MMVF 21	3 Wochen	3 Tage	2	80	1	23,0	0,2	7,9	4,4	0,22	0,31	0,1	0,0
		1 Monat	2	111	28	30,2	2,7	10,4	2,0	0,20	0,03	0,2	0,0
		3 Monate	2	148	4	44,5	9,1	15,2	0,9	0,16	0,22	0,3	0,0
		12 Monate	2	167	42	77,7	39,9	25,0	5,7	0,13	0,06	0,4	0,2

^{a)} bei Glaskugeln Angabe von Partikelzahl und Partikelmasse

n: Zahl der untersuchten Proben (für eine Probe wurden jeweils drei Tiere gepoolt)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 6:
Größenverteilung der Fasern ($l/d \geq 3$) in den LALN und den Lungen (Inhalationsversuch)

Material	Expositions- dauer	Sektion	Fasern analy- siert	Verteilung							
				Faserlänge [μm] ^{a)}				Faserdicke [μm] ^{a)}			
				10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %
Glaskugeln	3 Wochen	Aerosol	2 819	0,5	0,9	2,2	4,3	0,49	0,90	2,17	4,24
		Lunge: 3 Tage	1 275	0,5	0,8	1,4	2,1	0,44	0,77	1,37	2,05
		LALN: 3 Tage	45	0,6	1,0	1,6	2,4	0,55	0,90	1,58	2,40
		LALN: 17 Tage	61	0,5	0,8	1,4	3,2	0,48	0,77	1,26	3,15
		LALN: 1 Monat	119	0,5	0,8	1,5	2,1	0,45	0,76	1,39	2,13
		LALN: 3 Monate	110	0,5	1,0	1,7	2,2	0,54	1,05	1,68	2,19
		LALN: 12 Monate	46	0,5	0,9	1,4	2,2	0,48	0,84	1,31	2,13
RCF 1	3 Wochen	Aerosol	2 514	2,4	6,3	22,2	68,3	0,34	0,82	1,81	1,81
		Lunge: 3 Tage	1 281	2,7	5,9	15,8	45,7	0,39	0,65	1,12	1,63
		LALN: 3 Tage	368	2,2	4,0	6,5	10,2	0,34	0,56	0,90	1,24
		LALN: 1 Monat	372	2,4	4,1	6,7	10,2	0,30	0,56	1,03	1,46
		LALN: 3 Monate	143	2,2	3,7	6,6	10,0	0,39	0,65	0,99	1,33
		LALN: 12 Monate	427	2,1	4,0	7,3	10,5	0,30	0,56	0,90	1,42
MMVF 21	1 Woche	Aerosol	1 041	3,2	7,7	25,4	63,4	0,52	0,99	1,59	2,32
		Lunge: 3 Tage	1 312	2,9	6,7	18,1	41,2	0,43	0,77	1,20	1,68
		LALN: 3 Tage	10	2,7	4,2	9,8	11,2	0,56	0,82	1,01	1,07
		LALN: 1 Monat	64	3,6	4,7	8,7	14,2	0,52	0,73	1,16	1,37
		LALN: 3 Monate	12	3,4	5,6	11,4	32,9	0,34	0,69	1,12	1,29
		LALN: 12 Monate	46	2,6	4,4	8,4	16,6	0,47	0,69	1,03	1,72
MMVF 21	3 Wochen	Aerosol	2 439	3,1	7,6	24,6	65,8	0,52	0,95	1,68	2,41
		Lunge: 3 Tage	1 239	2,6	5,6	16,5	39,7	0,39	0,69	1,12	1,55
		LALN: 3 Tage	158	2,5	4,1	8,8	17,1	0,34	0,60	0,94	1,24
		LALN: 1 Monat	220	2,5	4,0	6,8	12,8	0,39	0,64	0,94	1,29
		LALN: 3 Monate	296	2,4	4,2	7,5	13,6	0,39	0,64	1,03	1,29
		LALN: 12 Monate	333	2,4	4,1	7,8	17,0	0,39	0,64	0,94	1,29

^{a)} bei Glaskugeln: Partikelgeometrie

Tabelle A 7:

Größenverteilung der Fasern ($d_{\text{a}} \geq 3$) in Tracheaspülung, Lunge und Aerosol (Inhalationsversuch)

Material	Expositions- dauer	Sektion	Fasern ana- lysiert	Verteilung					
				Faserlänge [μm]			Faserdicke [μm]		
				10 %	50 %	90 %	10 %	50 %	90 %
RCF 1	3 Wochen	Aerosol	2 514	2,4	6,3	22,2	0,34	0,82	1,81
		Lunge: 3 Tage	1 281	2,7	5,9	15,8	0,39	0,65	1,12
		Trachea: 3 Tage	63	4,2	10,1	35,0	0,47	0,73	1,20
		Trachea: 17 Tage	58	2,8	6,4	20,5	0,34	0,64	1,50
		Trachea: 1 Monat	55	7,7	17,7	37,9	0,47	0,90	1,59
		Trachea: 3 Monate	5 ^{a)}		8,8 ^{a)}			0,86 ^{a)}	
		Trachea: 12 Monate	5 ^{a)}		16,4 ^{a)}			0,77 ^{a)}	
MMVF 21	1 Woche	Aerosol	1 041	3,2	7,7	25,4	0,52	0,99	1,59
		Lunge: 3 Tage	1 312	2,9	6,7	18,1	0,43	0,77	1,20
		Trachea: 3 Tage	23	2,8	9,4	17,3	0,56	0,90	1,42
		Trachea: 17 Tage	4 ^{a)}		4,7 ^{a)}			0,82 ^{a)}	
		Trachea: 1 Monat	11	4,3	9,3	18,2	0,26	0,82	1,12
		Trachea: 3 Monate	8 ^{a)}		5,4 ^{a)}			0,64 ^{a)}	
		Trachea: 12 Monate	2 ^{a)}		12,1 ^{a)}			1,37 ^{a)}	
MMVF 21	3 Wochen	Aerosol	2 439	3,1	7,6	24,6	0,52	0,95	1,68
		Lunge: 3 Tage	1 239	2,6	5,6	16,5	0,39	0,69	1,12
		Trachea: 3 Tage	68	2,8	4,8	13,0	0,39	0,73	1,20
		Trachea: 17 Tage	19	3,5	5,2	13,1	0,60	1,07	1,42
		Trachea: 1 Monat	18	4,8	10,9	36,6	0,56	1,33	2,06
		Trachea: 3 Monate	8 ^{a)}		6,1 ^{a)}			0,90 ^{a)}	
		Trachea: 12 Monate	5 ^{a)}		8,6 ^{a)}			0,99 ^{a)}	

^{a)} analysierte Faserzahl zu gering, angegebene Medianwerte sind nur grobe Näherungswerte

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
 Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 8:
 Größenverteilung der Fasern ($l/d \geq 3$) in Pleuraabguß und Lunge (Inhalationsversuch)

Material	Expositions- dauer	Sektion	Fasern ana- lysiert	Verteilung					
				Faserlänge [μm]			Faserdicke [μm]		
				10 %	50 %	90 %	10 %	50 %	90 %
RCF 1	3 Wochen	Lunge: 3 Monate Pleura: 3 Monate	1 303 8	2,5 4,8	5,6 12,5	17,6 23,5	0,30 0,26	0,60 0,54	1,12 0,84
MMVF 21	3 Wochen	Lunge: 3 Monate Pleura: 3 Monate	1 315 22	2,2 2,3	5,5 4,9	15,4 8,9	0,30 0,26	0,56 0,60	0,99 1,08

Tabelle A 9:
Biochemische Parameter in der bronchoalveolären Lavage (Absolutwerte): Lactatdehydrogenase

Faserpersistenz Inhalation	Exposi- tions- dauer		Lactatdehydrogenase [U/l]				
			Zeit nach Exposition [Monate]				
Material			0,1	0,5	1	3	12
Kontrolle		Mittel SA	47 23	57 15	57 14	86 17	63 13
B-01-0.9	1 Woche	Mittel SA	58 9	62 16	69 10	93 15	61 16
B-01-0.9	3 Wochen	Mittel SA	45 10	60 17	62 16	100 17	62 9
Glaskugeln	3 Wochen	Mittel SA	47 13	65 25	64 12	94 27	62 13
RCF 1	3 Wochen	Mittel SA	158** 38	130** 35	130** 31	148 83	68 21
MMVF 21	1 Woche	Mittel SA	67 10	83 29	112** 29	117 79	56 18
MMVF 21	3 Wochen	Mittel SA	89** 17	120** 32	101* 40	96 30	55 13

signifikant im Vergleich zur Kontrolle:

• P < 0,05; ** P < 0,01 (Dunnett's Test); n = 4 - 6

SA: Standardabweichung

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 10:
Biochemische Parameter in der bronchoalveolären Lavage (Absolutwerte): Gesamtprotein

Faserpersistenz Inhalation	Exposi- tions- dauer		Gesamtprotein [mg/l]				
			Zeit nach Exposition [Monate]				
Material			0,1	0,5	1	3	12
Kontrolle		Mittel	95	118	104	158	189
		SA	14	44	28	22	101
B-01-0.9	1 Woche	Mittel	123	127	130	169	164
		SA	27	41	20	25	26
B-01-0.9	3 Wochen	Mittel	102	109	105	185	160
		SA	24	17	20	26	18
Glaskugeln		Mittel	109	114	111	177	181
		SA	25	44	24	28	38
RCF 1		Mittel	257**	212**	214**	230	197
		SA	82	49	32	66	38
MVF 21	1 Woche	Mittel	99	138	158**	195	149
		SA	20	35	35	72	26
MVF 21	3 Wochen	Mittel	135	173	162**	193	167
		SA	23	29	28	31	35

signifikant im Vergleich zur Kontrolle:

** P < 0,01 (Dunnnett's Test); n = 4 - 6

SA: Standardabweichung

Tabelle A 11:

Biochemische Parameter in der bronchoalveolären Lavage (Absolutwerte): γ -Glutamyltransferase

Faserpersistenz Inhalation	Exposi- tions- dauer		γ -Glutamyltransferase [U/l]				
			Zeit nach Exposition [Monate]				
Material			0,1	0,5	1	3	12
Kontrolle		Mittel SA	1,47 0,71	2,78 1,24	2,77 0,5	2,72 0,68	2,87 0,82
B-01-0.9	1 Woche	Mittel SA	1,98 0,54	3,06 1,57	2,88 0,78	3,21 0,57	3,32 0,83
B-01-0.9	3 Wochen	Mittel SA	1,52 0,95	2,8 0,58	3,12 0,89	3,53 0,86	2,92 0,90
Glaskugeln		Mittel SA	1,9 0,74	2,41 1,15	3,22 1,14	3,12 0,74	2,51 0,29
RCF 1		Mittel SA	5,83** 0,7	6,05** 1,37	5,22** 1,13	5,14** 2,43	3,78 1,07
MVF 21	1 Woche	Mittel SA	2,46 0,78	3,31 1,51	3,3 0,95	4,23 1,38	2,97 0,50
MVF 21	3 Wochen	Mittel SA	4,67** 1,74	4,83 1,57	3,62 1,55	4,33 1,38	2,74 0,64

signifikant im Vergleich zur Kontrolle:

** $P < 0,01$ (Dunnett's Test); $n = 4 - 6$

SA: Standardabweichung

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 12:
Biochemische Parameter in der bronchoalveolären Lavage (Absolutwerte): reduziertes Glutathion

Faserpersistenz Inhalation	Exposi- tions- dauer		reduziertes Glutathion [$\mu\text{mol/l}$]				
			Zeit nach Exposition [Monate]				
Material			0,1	0,5	1	3	12
Kontrolle		Mittel SA	15 5,3	26,6 4,9	20,9 2,6	23 4,7	3,1 2,8
B-01-0.9	1 Woche	Mittel SA	21,4 4,2	23 4,1	22 7,1	24, 5,6	5,3 3,0
B-01-0.9	3 Wochen	Mittel SA	16,7 5,2	23,6 6,9	18,4 3,5	24 5,7	4,4 2,9
Glaskugeln	3 Wochen	Mittel SA	19,1 3,3	22,1 1,9	19,4 4,8	25 5,4	3,7 1,4
RCF 1	3 Wochen	Mittel SA	38,8** 9,4	30,4 9,9	31,8 13,1	28 7,6	0,2 0,3
MMVF 21	1 Woche	Mittel SA	29,8** 4,2	22,4 1,9	24,8 8	22 4,5	1,2 1,4
MMVF 21	3 Wochen	Mittel SA	40,3** 12,5	31,4 5,7	28,3 7,4	29 3,8	1,0 1,7

signifikant im Vergleich zur Kontrolle:

•• P < 0,01 (Dunnett's Test); n = 4 - 6

SA: Standardabweichung

Tabelle A 13:

Biochemische Parameter in der bronchoalveolären Lavage (Absolutwerte): oxidiertes Glutathion

Faserpersistenz Inhalation	Exposi- tions- dauer		oxidiertes Glutathion [$\mu\text{mol/l}$]				
			Zeit nach Exposition [Monate]				
Material			0,1	0,5	1	3	12
Kontrolle		Mittel SA	1,4 0,6	1,4 1,7	3,0 3,4	2,2 2,9	3,1 2,8
B-01-0.9	1 Woche	Mittel SA	3,8 2,5	0,6 0,6	2,4 1,6	3,0 2,0	5,3 3,0
B-01-0.9	3 Wochen	Mittel SA	3,7 2,0	2,5 2,6	3,5 2,0	2,2 1,2	4,4 2,9
Glaskugeln		Mittel SA	3,2 1,7	1,2 1,3	3,0 1,8	2,7 1,8	3,7 1,4
RCF 1		Mittel SA	3,2 2,3	2,5 2,0	4,5 3,5	5,6 2,2	0,2 0,3
MMVF 21	1 Woche	Mittel SA	2,3 2,9	3,6 1,6	3,4 1,4	3,4 0,7	1,2 1,4
MMVF 21	3 Wochen	Mittel SA	4,0 2,4	4,4 [•] 2,7	4,2 3,1	2,8 1,5	1,0 1,7

signifikant im Vergleich zur Kontrolle:

• $P < 0,05$; (Dunnnett's Test); $n = 4 - 6$

SA: Standardabweichung

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 14:
Differenzielle Zellzählung in der Lungenspülflüssigkeit nach Inhalation

Material	Expositions- dauer	Sektion [Tage]	Zell-Konz. [10 ³ Zellen/ml]		Makrophagen [%]		Granulozyten [%]		Lymphozyten [%]	
			Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA
Kontrolle		3	77	27	96,3	3,8	1,1	1,8	2,5	2,3
		17	163	89	98,3	1,0	0,3	0,3	1,5	1,0
		31	136	50	99,6	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3
		93	174	74	99,2	0,9	0,3	0,3	0,5	0,7
		365	109	36	96,7	3,7	3,0	3,7	0,3	0,5
B-01-0.9	1 Woche	3	95	36	99,1	0,6	0,2	0,3	0,8	0,3
		17	152	46	98,3	1,8	0,2	0,2	1,5	1,7
		31	176	35	99,5	0,3	0,1	0,3	0,3	0,1
		93	184	63	98,7	1,3	0,6	0,7	0,8	0,7
		365	154	40	99,0	0,6	0,9	0,6	0,1	0,1
B-01-0.9	3 Wochen	3	98	42	97,5	1,2	1,0	0,8	1,5	0,3
		17	133	46	97,5	1,0	0,4	0,5	2,1	0,8
		31	158	25	99,4	0,4	0,1	0,2	0,5	0,4
		93	201	66	98,8	1,2	0,6	0,9	2,0	0,5
		365	104	21	99,0	1,2	1,0	1,0	0,1	0,2
Glaskugeln	3 Wochen	3	89	46	98,0	0,9	0,4	0,7	1,8	0,9
		17	168	83	97,8	1,8	0,2	0,3	2,0	1,5
		31	195	91	99,7	0,3	0,3	0,4	0,2	0,2
		93	231	48	99,7	0,4	0,2	0,3	0,1	0,1
		365	126	33	99,5	0,5	0,7	0,7	0,0	0,0
RCF 1	3 Wochen	3	91	26	66,5***	5,5	18,9***	3,4	14,5***	5,9
		17	207	75	85,8***	4,8	11,1***	4,7	3,1	1,4
		31	186	126	81,0***	4,8	15,5***	3,8	3,5***	1,5
		93	145	105	84,5***	2,3	13,5***	2,3	2,0	1,1
		365	78	22	91,8	3,1	3,4	1,8	4,8***	1,5
MMVF 21	1 Woche	3	48	11	90,4*	3,2	4,7	2,2	4,9	1,4
		17	113	68	94,8	3,8	2,9	3,0	2,3	1,4
		31	195	76	96,3	2,1	2,1	1,1	1,5*	1,0
		93	169	75	99,3	0,8	0,5	0,7	0,3	0,3
		365	86	25	97,0	2,4	1,1	1,2	2,0	1,4
MMVF 21	3 Wochen	3	42	10	80,1***	4,6	13,4***	5,3	6,5	1,5
		17	125	46	93,7	3,9	4,0*	2,7	2,3	1,2
		31	144	57	95,7*	2,5	2,3	1,7	2,0*	1,1
		93	121	43	98,7	0,9	0,8	0,6	0,5	0,6
		365	63	18	96,4	2,5	0,8	0,7	2,9**	1,9

* P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 (Dunnett's Test)

Tabelle A 15:

Übersicht der histopathologischen Befunde der Lunge (Inhalationsversuch)

Lesions	Incidence of lesions (animal references)						
	Females						
	Treatment						
	Clean air	B-01-0.9 1 week	B-01-0.9 3 weeks	Glas beads 3 weeks	RCF 1 3 weeks	MMVf 21 1 week	MMVf 21 3 weeks
Lungs	{9}	{10}	{10}	{10}	{10}	{10}	{9}
no abnormality detected	6 (67 %)	3 (30 %)	4 (40 %)	4 (40 %)	0 ●● (0 %)	2 (20 %)	0 ●● (0 %)
focal bronchiolar/alveolar hyperplasia <i>slight</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	1 (11 %)
focal alveolar-cell hyperplasia <i>moderate</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11 %)
focal/multifocal alveolar histiocytosis <i>very slight</i>	3 (33 %)	5 (50 %)	5 (50 %)	3 (30 %)	1 (10 %)	6 (60 %)	2 (22 %)
<i>slight</i>	0 (0 %)	2 (20 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	8 ●●● (80 %)	2 (20 %)	7 ●● (78 %)
<i>moderate</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
score expanded totals	3 (33 %)	7 (70 %)	5 (50 %)	4 (40 %)	10 ●● (100 %)	8 (80 %)	9 ●● (100 %)
focal/multifocal interstitial fibrosis <i>very slight</i>	0 (0 %)	1 (10 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	5 ● (50 %)	3 (30 %)	7 ●● (78 %)
<i>slight</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11 %)
score expanded totals	0 (0 %)	1 (10 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	5 ● (50 %)	3 (30 %)	8 ●●● (89 %)
focal/multifocal interstitial mononuclear cell infiltration <i>very slight</i>	1 (11 %)	4 (40 %)	2 (20 %)	1 (10 %)	2 (20 %)	3 (30 %)	4 (44 %)
<i>slight</i>	0 (0 %)	1 (10 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	8 ●●● (80 %)	1 (10 %)	4 (44 %)
score expanded totals	1 (11 %)	5 (50 %)	2 (20 %)	2 (20 %)	10 ●●● (100 %)	4 (40 %)	8 ●● (89 %)

Significance of difference in a pairwise Fisher's test between control and treatment groups:

● P<0.05, ●● P<0.01, ●●● P<0.001

Figures in brackets represent the number of animals from which this tissue was examined microscopically

The absence of a numeral indicates that the lesion specified was not identified

Tabelle A 15 (Fortsetzung):

Lesions	Incidence of lesions (animal references)						
	Females						
	Treatment						
	Clean air	B-01-0.9 1 week	B-01-0.9 3 weeks	Glas beads 3 weeks	RCF 1 3 weeks	MMVF 21 1 week	MMVF 21 3 weeks
Lungs	(9)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)
focal/multifocal alveolar (mixed) inflammatory cell infiltration							
<i>very slight</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	1 (10 %)	2 (20 %)	0 (0 %)	1 (11 %)
<i>slight</i>	0 (0 %)	1 (10 %)	0 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
score expanded totals	0 (0 %)	1 (10 %)	1 (10 %)	1 (10 %)	2 (20 %)	0 (0 %)	1 (11 %)
focal cholesterol clefts/ cholesterol granuloma							
<i>slight</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	0 (0 %)	1 (11 %)
hyperplasia of the BALT							
<i>very slight</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11 %)
<i>slight</i>	0 (0 %)	4 (40 %)	5 (50 %)	1 (10 %)	1 (10 %)	1 (10 %)	2 (22 %)
<i>moderate</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11 %)
score expanded totals	0 (0 %)	4 (40 %)	5 (50 %)	1 (10 %)	1 (10 %)	1 (10 %)	4 (44 %)
focal haemorrhage							
<i>very slight</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11 %)
<i>slight</i>	0 (0 %)	1 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
score expanded totals	0 (0 %)	1 (10 %)	1 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11 %)

Significance of difference in a pairwise Fisher's test between control and treatment groups:

• $p < 0.05$

Figures in brackets represent the number of animals from which this tissue was examined microscopically

The absence of a numeral indicates that the lesion specified was not identified

Tabelle A 16:
Lungenfeuchtgewichte in g nach intratrachealer Instillation

		Tag 0	Tag 3	Tag 7	Tag 14	Tag 27	Tag 88	Tag 182
Kontrolle	Mittel		1,094		1,226	1,203	1,383	1,214
	SA		0,057		0,080	0,100	0,087	0,096
	n		6		6	6	6	6
Zetwool	Mittel	1,651	1,698 ●●	1,635		1,565 ●●●	1,578 ●	
	SA	0,072	0,202	0,164		0,116	0,129	
	n	6	6	6		6	6	
Glaswolle C	Mittel		1,201		1,374 ●	1,305	1,427	1,266
	SA		0,109		0,099	0,086	0,094	0,064
	n		6		6	6	6	6
Steinwolle HT 7	Mittel		1,383 ●●		1,533 ●●	1,471 ●●	1,597 ●●	1,520 ●●
	SA		0,129		0,116	0,102	0,074	0,146
	n		5		6	6	6	6
Glaswolle CS*	Mittel		1,185		1,183	1,175	1,247	1,267
	SA		0,075		0,061	0,076	0,112	0,060
	n		6		6	6	6	6
Steinwolle HT 7*	Mittel		1,537 ●●		1,327	1,361 ●	1,430	1,423 ●●
	SA		0,072		0,084	0,074	0,120	0,112
	n		6		6	6	6	6
Glaswolle TL*	Mittel		1,257		1,216	1,174	1,217 ●	1,262
	SA		0,076		0,055	0,099	0,104	0,095
	n		6		6	6	6	6

Statistik: Anova und Dunnett's Tests (zweiseitig)

- $P \leq 5\%$
- $P \leq 1\%$

SA: Standardabweichung
n: Zahl der Proben

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 17:
Fasergrößenverteilung ($f/d > 3/1$) in der Lungenasche und im Ausgangsmaterial (Intratrachealversuch)

Material	Sektion	Fasern analy- siert	Verteilung							
			Faserlänge [μm]				Faserdicke [μm]			
			10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %
Zetwool	A.M.	416	2,2	7,1	35,4	120,6	0,26	0,56	1,33	2,32
	0 Tage	836	2,6	6,2	29,0	118,3	0,34	0,65	1,59	2,71
	3 Tage	794	2,5	5,8	25,9	94,7	0,39	0,65	1,55	2,71
	7 Tage	638	3,2	7,2	27,1	102,5	0,43	0,77	1,76	2,97
	1 Monat	1 320	2,9	6,5	25,3	87,5	0,39	0,77	1,72	3,23
	3 Monate	796	3,2	8,0	25,5	87,4	0,43	0,90	1,94	3,61
Glaswolle C	A.M.	396	2,4	7,2	27,3	73,4	0,30	0,47	1,29	2,84
	3 Tage	1 306	1,9	4,6	13,4	36,1	0,16	0,34	0,77	1,82
	14 Tage	1 333	1,8	4,4	11,6	38,3	0,15	0,29	0,62	1,57
	1 Monat	1 046	1,7	4,0	10,5	19,6	0,15	0,31	0,68	1,29
	3 Monate	875	1,7	3,9	8,1	13,6	0,22	0,40	0,86	1,88
	6 Monate	266	1,7	3,9	8,3	13,5	0,28	0,49	1,11	2,03
Steinwolle HT 7	A.M.	376	2,2	6,1	32,7	103,6	0,34	0,77	2,15	3,61
	3 Tage	979	2,8	7,2	29,4	100,5	0,43	0,82	2,06	3,35
	14 Tage	1 245	3,0	7,5	28,3	86,8	0,47	0,86	2,06	3,48
	1 Monat	1 238	3,2	8,5	29,9	83,7	0,56	1,16	2,32	3,91
	3 Monate	1 208	2,8	7,5	20,9	65,7	0,47	1,12	2,32	3,61
	6 Monate	1 128	3,4	8,4	27,2	72,8	0,60	1,42	2,58	3,87
Glaswolle CS*	A.M.	359	3,5	14,6	59,1	118,8	0,45	0,97	4,52	9,55
	3 Tage	1 105	5,2	12,3	26,0	103,6	0,32	0,84	2,58	6,19
	14 Tage	1 271	4,1	9,4	24,3	73,7	0,32	0,71	2,26	5,15
	1 Monat	1 063	4,3	10,0	23,4	61,9	0,39	0,84	2,39	5,10
	3 Monate	151	3,9	8,0	16,5	37,6	0,32	0,77	1,87	4,64
	6 Monate	35	4,3	9,2	14,9	42,8	0,52	0,90	2,45	3,03
Steinwolle HT 7*	A.M.	442	5,6	18,8	93,8	235,6	0,71	1,94	4,40	6,80
	3 Tage	1 295	4,1	13,7	78,4	192,0	0,39	1,23	3,10	5,41
	14 Tage	1 368	5,8	19,5	72,9	172,2	0,45	1,48	3,48	5,67
	1 Monat	1 225	5,0	16,7	69,1	155,4	0,71	1,80	3,87	6,13
	3 Monate	1 257	5,8	15,0	59,8	136,3	0,90	2,00	4,06	5,93
	6 Monate	1 248	5,9	14,3	59,3	126,3	1,03	2,13	4,00	6,44
Glaswolle TL*	A.M.	124	3,7	16,0	39,2	116,4	0,69	1,42	3,83	8,76
	3 Tage	1 176	3,2	8,3	30,9	92,0	0,32	0,77	2,32	5,93
	14 Tage	1 402	3,2	7,4	34,8	97,7	0,26	0,65	2,39	7,22
	1 Monat	1 135	3,4	8,1	35,6	97,9	0,26	0,65	2,45	6,96
	3 Monate	1 117	3,4	8,7	33,8	97,9	0,39	0,90	2,84	6,96
	6 Monate	1 289	4,6	10,7	29,9	94,3	0,32	0,90	2,84	5,93

A.M.: Ausgangsmaterial

Tabelle A 18:

Analyse der Zahl und der berechneten Masse der Fasern in der Lungenasche (Intratrachealversuch)

Material	Sektion	Fasern [10%/Lunge]		WHO-Fasern [10%/Lunge]		Fasern ($l > 20 \mu\text{m}$) [10%/Lunge]		Berechnete Fasermasse ^{a)} [mg]		Berechnete Partikelmasse [mg]	
		Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA
Zetwool	0 Tage	11,82	2,43	6,97	1,62	1,696	0,157	1,205	0,566	1,429	0,457
	3 Tage	11,52	3,36	6,30	1,19	1,543	0,579	1,202	0,889	1,311	0,795
	7 Tage	9,77	3,59	6,76	2,22	1,414	0,606	1,183	0,705	1,324	0,578
	1 Monat	8,12	0,89	5,05	0,74	1,042	0,172	0,618	0,123	0,631	0,126
	3 Monate	4,56	0,21	3,20	0,44	0,643	0,085	0,390	0,019	0,493	0,110
Glaswolle C	3 Tage	29,14	7,13	13,03	3,06	0,974	0,354	0,382	0,152	0,411	0,155
	14 Tage	28,59	6,63	12,39	4,02	0,976	0,738	0,141	0,037	0,155	0,044
	1 Monat	21,14	10,57	7,51	3,11	0,155	0,115	0,081	0,046	0,084	0,048
	3 Monate	3,76	0,88	1,39	0,58	0,008	0,009	0,025	0,024	0,030	0,027
	6 Monate	0,77	0,66	0,22	0,20	0,000	0,000	0,004	0,002	0,004	0,002
Steinwolle HT 7	3 Tage	10,92	4,76	6,87	2,35	1,437	0,301	1,008	0,263	2,132	0,759
	14 Tage	8,46	1,47	5,61	0,84	1,177	0,141	0,820	0,085	1,598	0,575
	1 Monat	5,99	0,86	4,39	0,68	0,939	0,162	0,757	0,192	1,361	0,246
	3 Monate	3,92	0,90	2,50	0,36	0,413	0,054	0,331	0,040	0,476	0,205
	6 Monate	1,30	0,20	0,91	0,15	0,186	0,040	0,152	0,022	0,152	0,022
Glaswolle CS*	3 Tage	0,27	0,07	0,23	0,06	0,061	0,037	0,067	0,033	0,070	0,034
	14 Tage	0,31	0,15	0,24	0,12	0,050	0,030	0,040	0,021	0,043	0,020
	1 Monat	0,20	0,09	0,17	0,07	0,031	0,017	0,029	0,018	0,033	0,018
	3 Monate	0,04	0,02	0,03	0,02	0,003	0,004	0,002	0,001	0,002	0,002
	6 Monate	0,01	0,01	0,01	0,00	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,001
Steinwolle HT 7*	3 Tage	0,98	0,42	0,70	0,31	0,391	0,130	0,544	0,270	0,582	0,295
	14 Tage	0,75	0,15	0,58	0,11	0,362	0,068	0,393	0,115	0,406	0,115
	1 Monat	0,71	0,12	0,48	0,08	0,310	0,061	0,472	0,152	0,498	0,162
	3 Monate	0,72	0,25	0,47	0,20	0,310	0,078	0,499	0,145	0,533	0,153
	6 Monate	0,57	0,08	0,39	0,06	0,208	0,037	0,320	0,089	0,357	0,120
Glaswolle TL*	3 Tage	1,74	0,65	1,19	0,40	0,344	0,084	0,526	0,224	0,593	0,249
	14 Tage	1,58	0,45	0,94	0,24	0,329	0,073	0,560	0,151	0,608	0,166
	1 Monat	1,11	0,26	0,72	0,19	0,229	0,053	0,380	0,094	0,401	0,110
	3 Monate	0,96	0,16	0,64	0,11	0,225	0,069	0,314	0,073	0,340	0,062
	6 Monate	0,58	0,22	0,46	0,19	0,117	0,056	0,151	0,068	0,163	0,076

a) enthält nicht die Masse der nichtfaserigen Partikeln und Faserbruchstücke ($l/d < 3/1$)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
 Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 19:
 Feuchtgewichte des Großen Netzes in g nach intraperitonealer Injektion

		Tag 2	Tag 14	Tag 30	Tag 90	Tag 364
Kontrolle	Mittel	0,311	0,307	0,334	1,113	1,842
	SA	0,206	0,099	0,106	0,493	1,052
	n	6	6	6	6	6
MMVF 21	Mittel	0,379	0,393	0,503	0,428 ••	1,076
	SA	0,085	0,179	0,199	0,042	0,561
	n	6	6	6	6	6
MMVF 22	Mittel	0,459	0,343	0,466	0,728	1,441
	SA	0,092	0,086	0,198	0,254	0,825
	n	6	6	6	6	6
MMVF 11	Mittel	0,336	0,379	0,523	0,770	1,129
	SA	0,081	0,120	0,161	0,271	0,221
	n	6	6	6	6	6
RCF 1	Mittel	0,361	0,374	0,486	0,647 •	1,100
	SA	0,116	0,139	0,208	0,245	0,440
	n	6	6	6	6	6
B-01-0.9	Mittel	0,275	0,308	0,354	0,640 •	1,484
	SA	0,040	0,088	0,152	0,152	0,419
	n	6	6	6	6	6

Statistik: Anova und Dunnett's Tests (zweiseitig)

- $P \leq 5\%$
- $P \leq 1\%$
- SA: Standardabweichung
- n: Zahl der Proben

Tabelle A 20:

Fasergrößenverteilung ($l/d > 3/1$) im Großen Netz (Intraperitonealversuch)

Material	Sektion	Fasern ana- lysiert	Verteilung							
			Faserlänge [μm]				Faserdicke [μm]			
			10 %	50 %	90 %	99 %	10 %	50 %	90 %	99 %
MMVF 21	A.M.	392	3,4	9,1	3,4	82,6	0,56	1,08	1,89	2,88
	2 Tage	1 005	3,2	8,4	31,6	75,6	0,34	0,86	1,63	2,67
	14 Tage	930	3,6	9,2	31,2	79,2	0,34	0,86	1,63	2,45
	1 Monat	1 132	3,6	9,0	28,5	69,9	0,34	0,90	1,63	2,49
	3 Monate	1 315	3,4	9,1	29,4	72,0	0,39	0,90	1,76	2,62
	12 Monate	1 201	3,7	9,4	28,9	71,1	0,52	1,03	1,81	2,71
MMVF 22	A.M.	437	3,3	7,8	24,3	68,7	0,38	0,77	1,35	2,31
	2 Tage	1 383	3,3	7,8	24,5	66,2	0,39	0,82	1,51	2,45
	14 Tage	900	2,8	6,5	16,7	43,6	0,47	0,82	1,51	2,32
	1 Monat	899	2,8	5,8	16,2	36,6	0,30	0,69	1,38	2,19
	3 Monate	1 000	2,6	4,9	11,2	28,3	0,43	0,69	1,20	1,94
	12 Monate	1 275	2,2	4,1	9,4	22,1	0,34	0,56	0,99	1,42
MMVF 11	A.M.	411	3,5	10,7	32,1	77,8	0,39	0,82	2,11	4,00
	2 Tage	1 406	3,0	8,7	31,0	68,9	0,22	0,60	1,81	3,48
	14 Tage	1 493	2,9	7,7	26,3	61,4	0,17	0,52	1,81	3,66
	1 Monat	1 412	3,1	7,7	26,2	63,7	0,18	0,56	1,85	3,61
	3 Monate	1 070	2,9	7,8	24,3	55,9	0,17	0,56	1,98	4,00
	12 Monate	1 510	3,3	8,6	24,8	53,4	0,34	0,77	2,06	3,95
RCF 1	A.M.	408	2,9	8,3	26,8	72,8	0,52	1,03	2,11	3,66
	2 Tage	1 295	3,3	8,7	31,4	77,2	0,43	0,99	1,89	3,35
	14 Tage	920	3,0	7,8	26,7	67,7	0,43	0,90	1,81	3,27
	1 Monat	1 246	3,2	8,9	30,8	74,6	0,39	0,90	1,89	3,10
	3 Monate	1 296	3,1	8,5	30,2	73,4	0,39	0,90	1,81	2,97
	12 Monate	1 468	4,0	10,3	31,6	81,8	0,39	0,90	1,85	3,39
B-01-0.9	A.M.	486	3,4	9,4	31,5	91,5	0,32	0,70	1,21	1,79
	2 Tage	1 623	2,2	5,3	14,1	42,2	0,26	0,43	0,77	1,29
	14 Tage	1 649	2,4	5,2	12,1	23,5	0,26	0,43	0,90	1,67
	1 Monat	1 119	2,2	5,1	11,0	20,9	0,26	0,47	0,99	1,72
	3 Monate	1 165	2,7	5,6	12,1	21,8	0,34	0,56	1,12	2,06
	12 Monate	826	2,4	5,1	10,2	21,9	0,34	0,60	0,99	1,72

A.M.: Ausgangsmaterial

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Tabellen A 1 bis A 21

Tabelle A 21:
Analyse der Zahl und Masse der Fasern im Großen Netz (Intraperitonealversuch)

Material	Sektion	n	Analysierte Fasern		Fasern [10 ⁶ /Lunge]		WHO-Fasern [10 ⁶ /Lunge]		Fasern (l>20 µm) [10 ⁶ /Lunge]		Fasermasse [mg]	
			Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA	Mittel	SA
MMVF 21	2 Tage	4	218	14	19,52	7,93	14,18	6,25	3,755	1,466	1,116	0,368
	14 Tage	3	227	19	50,24	13,38	38,75	11,75	9,581	3,241	2,837	1,069
	1 Monat	4	231	37	28,20	8,15	21,32	7,06	4,749	1,591	1,665	0,612
	3 Monate	6	219	11	27,41	13,78	21,62	11,56	5,107	2,597	1,684	0,868
	12 Monate	4	277	38	12,99	2,52	10,76	2,29	2,574	0,416	0,974	0,113
MMVF 22	2 Tage	5	236	25	67,50	33,28	48,96	28,06	8,672	4,380	2,817	1,659
	14 Tage	3	216	16	61,27	32,50	36,19	18,25	4,199	2,337	1,998	1,322
	1 Monat	4	224	21	47,18	26,54	27,20	14,30	2,849	1,801	1,235	0,741
	3 Monate	4	249	47	59,77	63,97	27,55	29,54	1,457	1,475	0,820	0,855
	12 Monate	6	213	11	7,28	3,35	2,99	1,74	0,113	0,077	0,053	0,026
MMVF 11	2 Tage	6	234	19	54,64	39,36	39,16	28,84	10,328	6,485	3,675	2,130
	14 Tage	6	249	23	46,33	24,73	31,29	17,28	7,563	3,941	3,206	1,926
	1 Monat	6	235	22	28,53	7,07	19,77	5,05	4,449	1,513	2,093	1,051
	3 Monate	5	214	10	24,17	11,98	16,16	8,24	3,521	2,073	1,718	0,683
	12 Monate	5	259	42	9,36	3,97	6,96	3,16	1,428	0,596	0,828	0,342
RCF 1	2 Tage	5	215	20	18,57	11,42	13,88	8,39	3,736	2,584	1,598	0,802
	14 Tage	3	228	12	36,96	9,66	24,16	8,07	5,161	1,816	2,295	1,117
	1 Monat	5	215	21	17,91	5,77	12,80	4,38	3,375	1,208	1,435	0,522
	3 Monate	6	216	19	19,26	10,29	13,67	7,43	3,633	2,073	1,337	0,926
	12 Monate	5	253	32	10,94	8,13	8,85	6,79	2,360	1,816	0,833	0,575
B-01-0.9	2 Tage	4	344	97	18,52	11,62	9,82	5,28	0,647	0,250	0,151	0,091
	14 Tage	5	282	26	6,59	2,20	3,02	0,91	0,106	0,055	0,048	0,021
	1 Monat	5	186	42	2,24	2,59	0,80	0,56	0,017	0,006	0,012	0,003
	3 Monate	5	233	29	1,58	1,57	0,83	0,81	0,017	0,016	0,017	0,016
	12 Monate	5	165	91	0,47	0,30	0,23	0,13	0,005	0,004	0,003	0,002

n: Zahl der Proben

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen

Abbildungen A 1 bis A 22

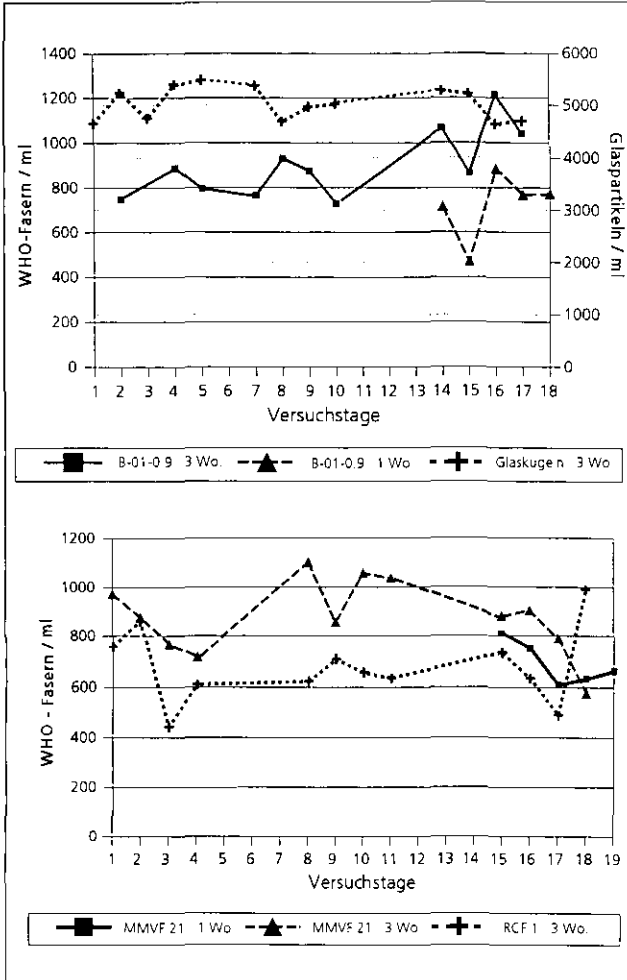


Abbildung A 1:
Faserkonzentration in
den Expositionsammern

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Abbildungen A 1 bis A 22

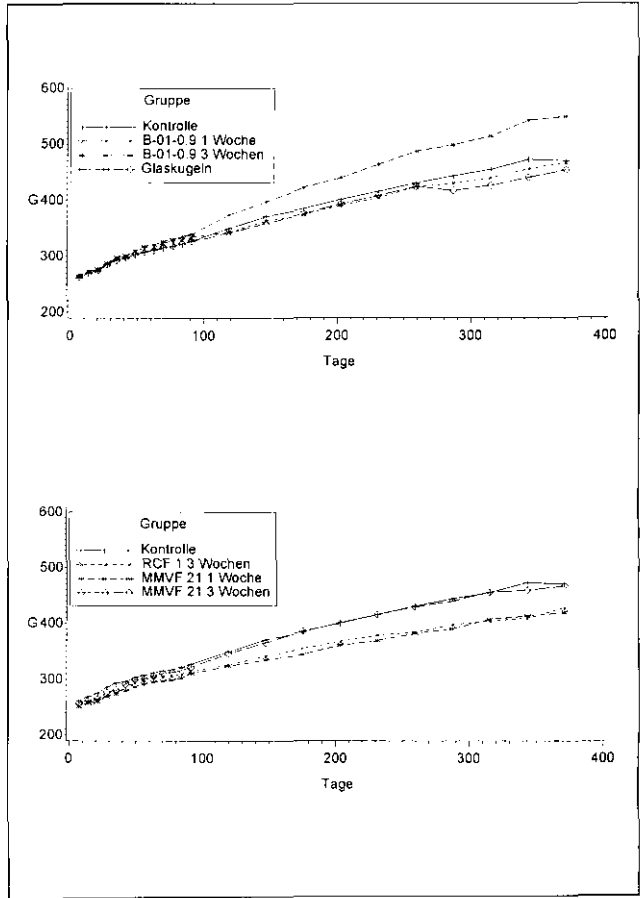


Abbildung A 2:
Körpergewichtsentwicklung
nach Inhalation

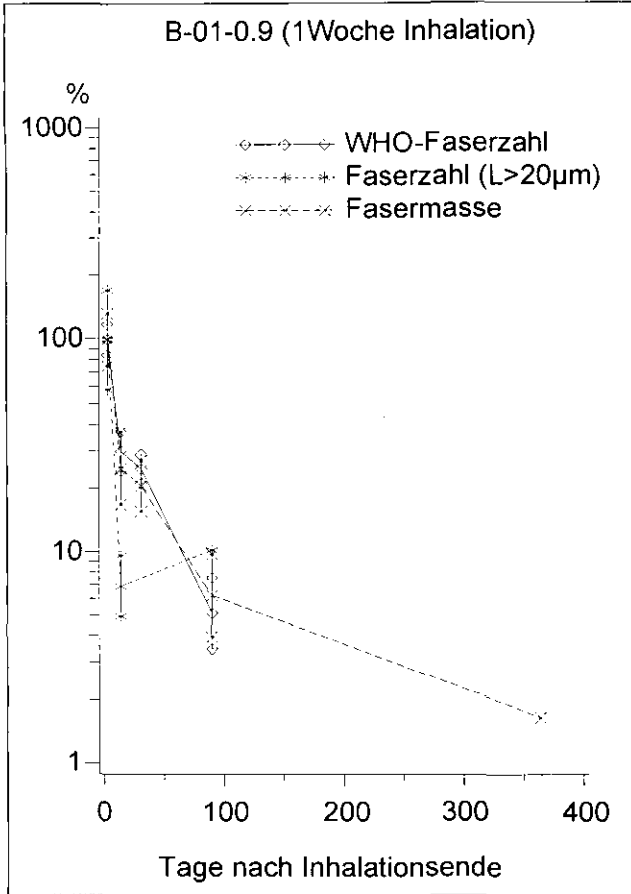


Abbildung A 3:
 Abnahme von Faserzahl
 und Fasermasse
 (Inhalation B-01-0.9,
 1 Woche).
 Normierung auf Retentions-
 werte vom Sektionstermin
 drei Tage nach Inhalationsende
 (= 100 %)

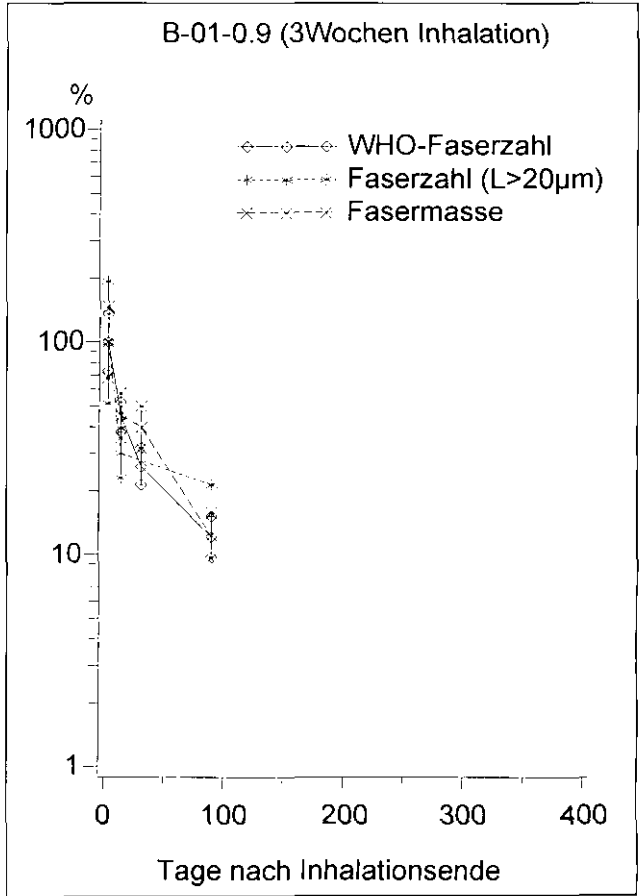


Abbildung A 4:
Abnahme von Faserzahl
und Fasermasse
(Inhalation B-01-0.9,
3 Wochen).
Normierung auf Retentions-
werte vom Sektionstermin
drei Tage nach Inhalationsende
(= 100 %)

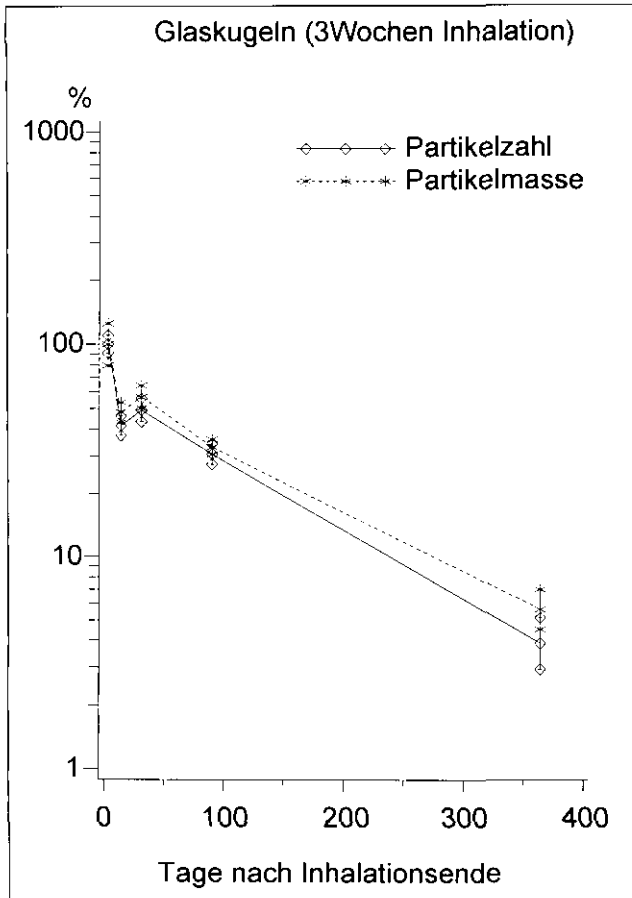


Abbildung A 5:
 Abnahme von Partikelzahl
 und Partikelmasse
 (Inhalation Glaskugeln,
 3 Wochen).
 Normierung auf Retentions-
 werte vom Sektionstermin
 drei Tage nach Inhalationsende
 (= 100 %)

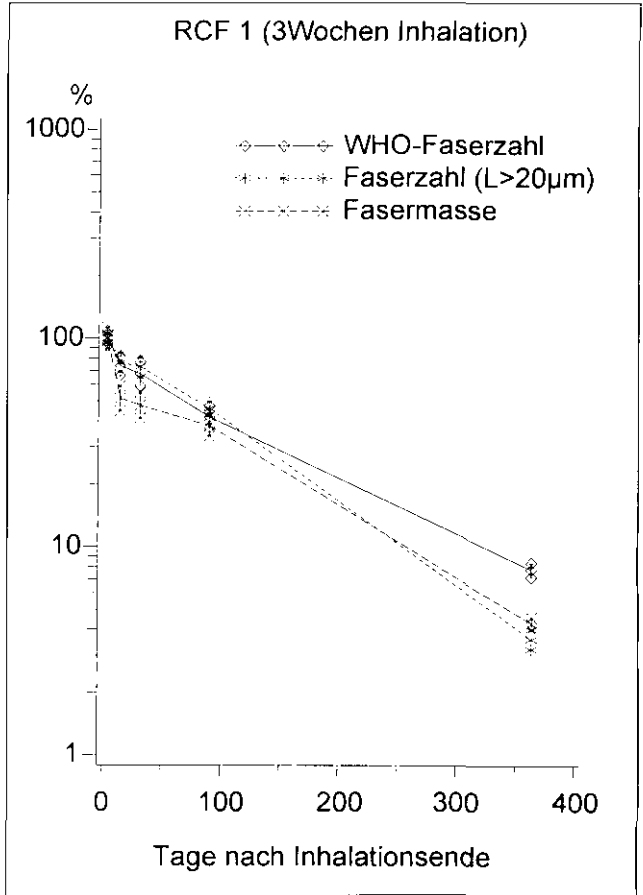


Abbildung A 6:
Abnahme von Faserzahl
und Fasermasse
(Inhalation RCF 1, 3 Wochen).
Normierung auf Retentions-
werte vom Sektionstermin
drei Tage nach Inhalationsende
(= 100 %)

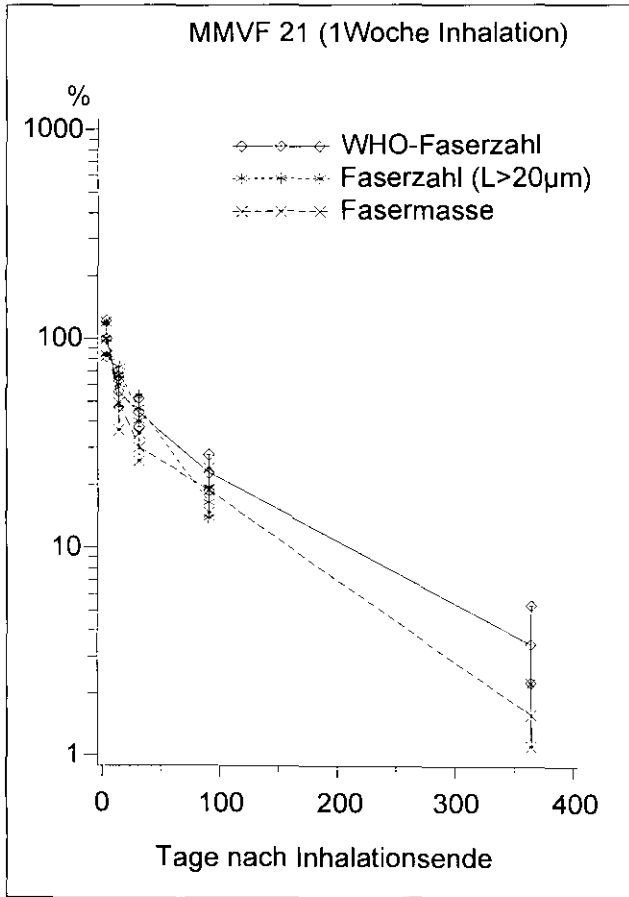


Abbildung A 7:
 Abnahme von Faserzahl
 und Fasermasse
 (Inhalation MMVF 21,
 1 Woche).
 Normierung auf Retentions-
 werte vom Sektionstermin
 drei Tage nach Inhalationsende
 (= 100 %)

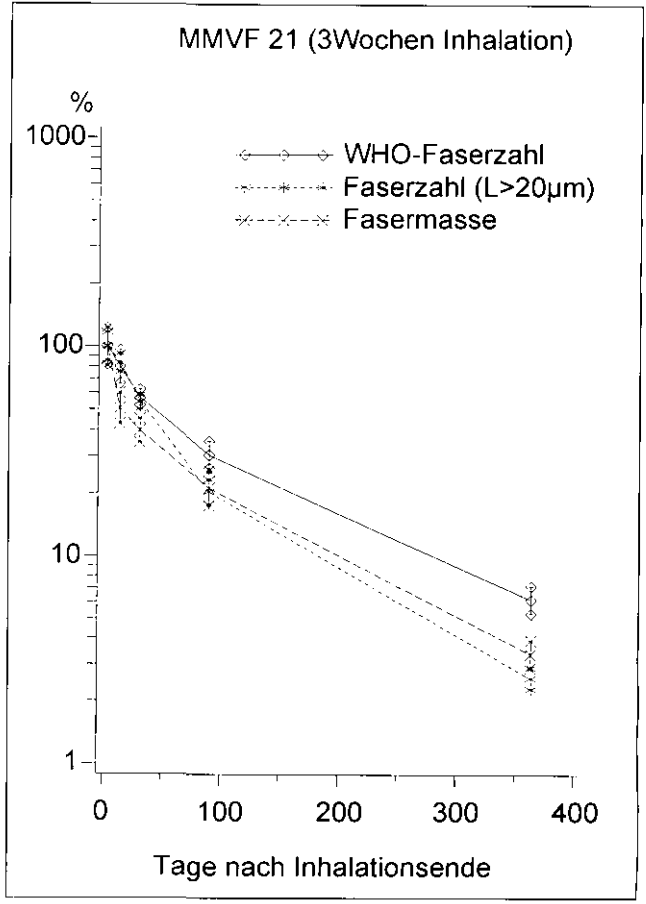


Abbildung A 8:
Abnahme von Faserzahl
und Fasermasse
(Inhalation MMVF 21,
3 Wochen).
Normierung auf Retentions-
werte vom Sektionstermin
drei Tage nach Inhalationsende
(= 100 %)

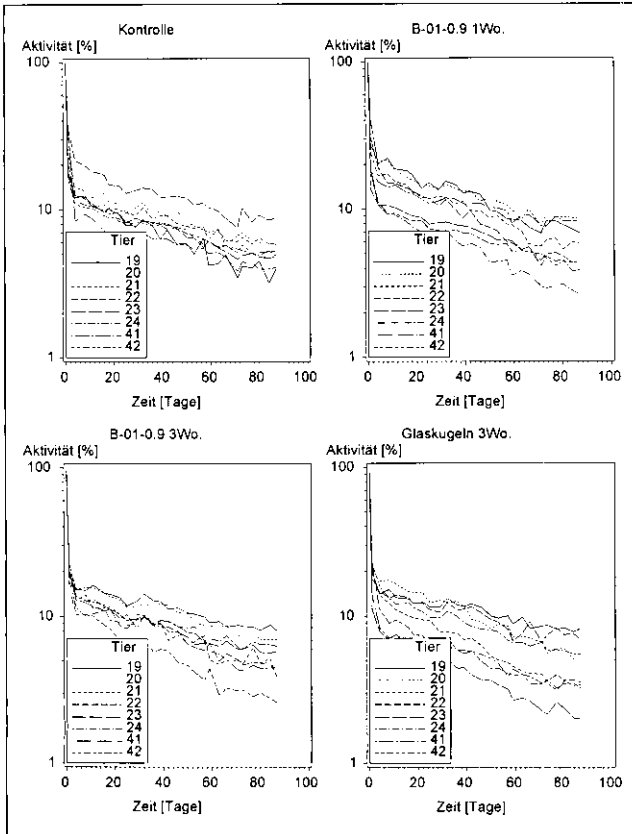


Abbildung A 9:
Clearancemessungen
mit radioaktiv markierten
Partikeln

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Abbildungen A 1 bis A 22

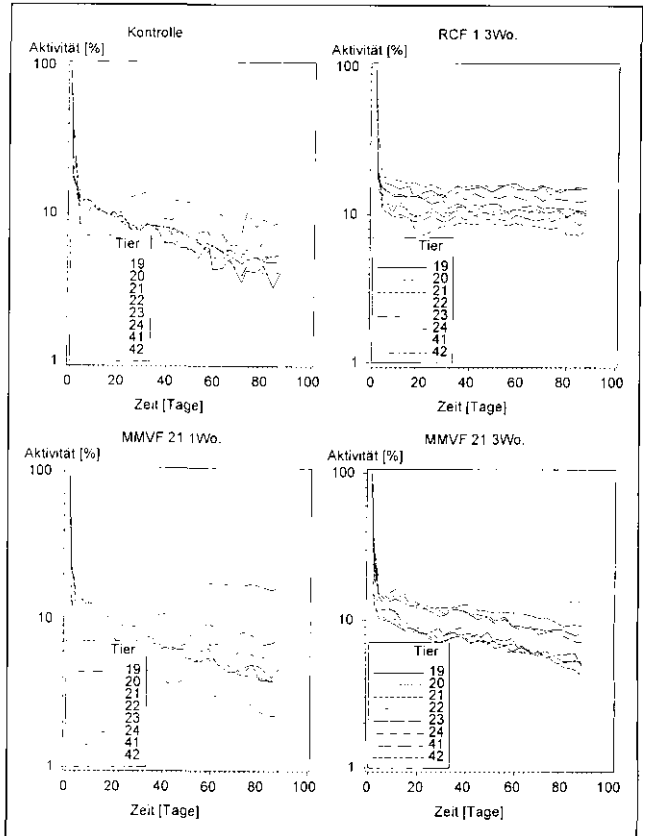
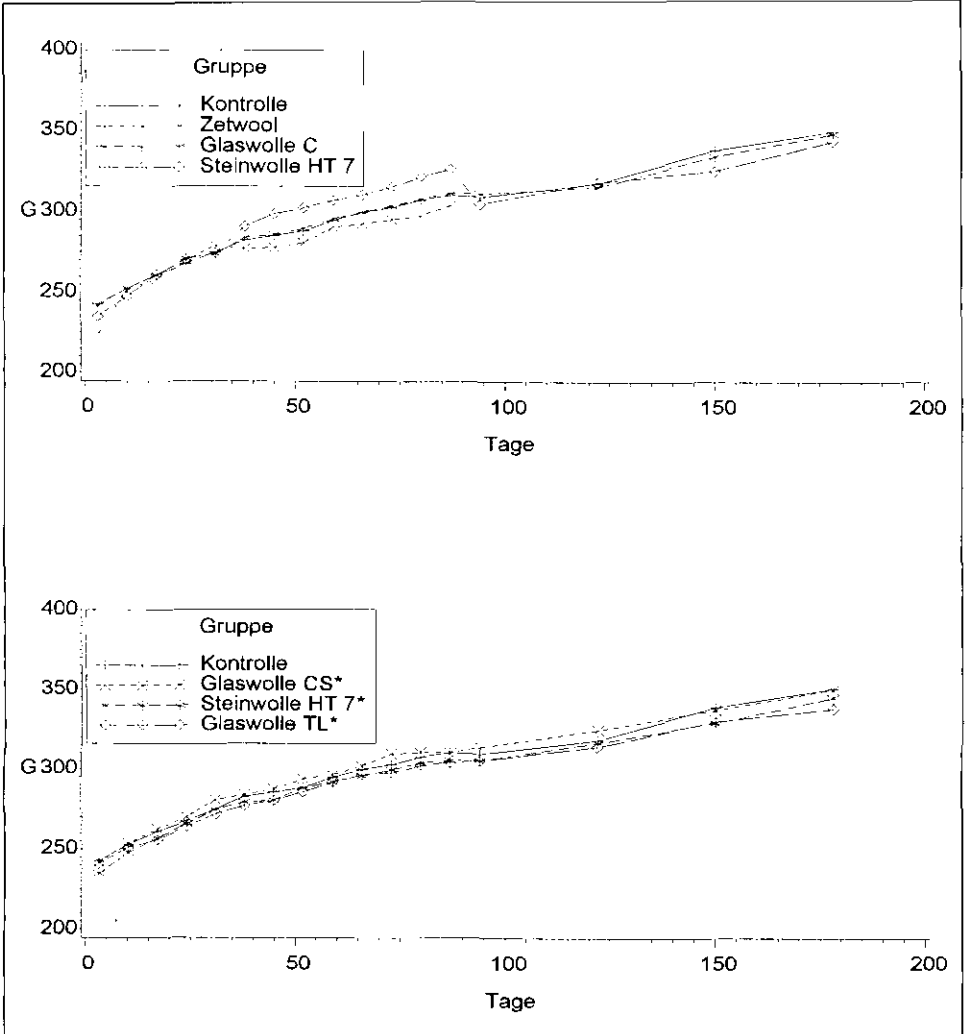


Abbildung A 9 (Fortsetzung):
Clearancemessungen
mit radioaktiv markierten
Partikeln

Abbildung A 10:
Körpergewichtsentwicklung nach intratrachealer Instillation



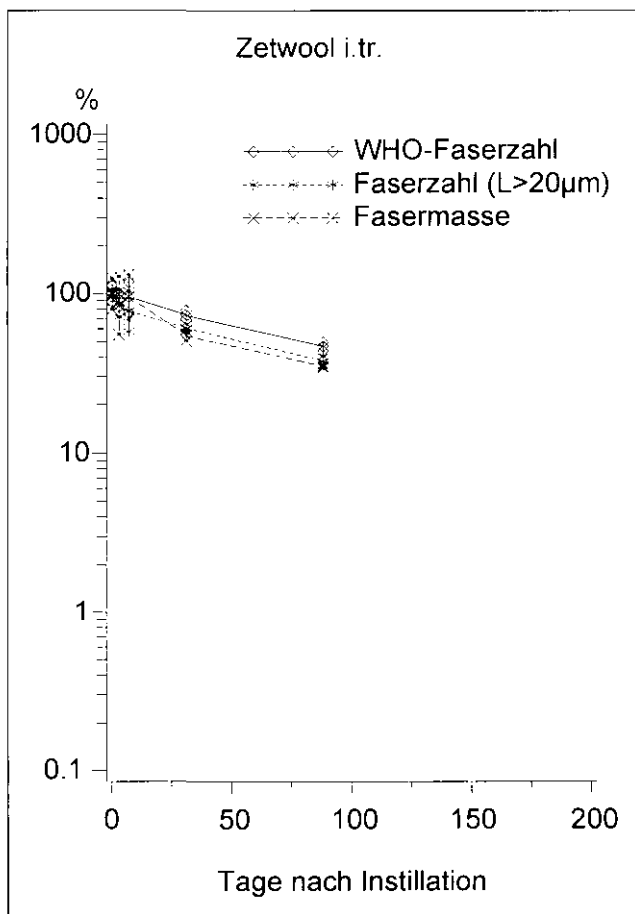


Abbildung A 11:
Abnahme von Faserzahl
und Fasermasse
(i.tr. Instillation Zetwool).
Normierung auf Retentions-
werte vom Sektionstermin
eine Stunde nach Applikations-
ende (= 100 %)

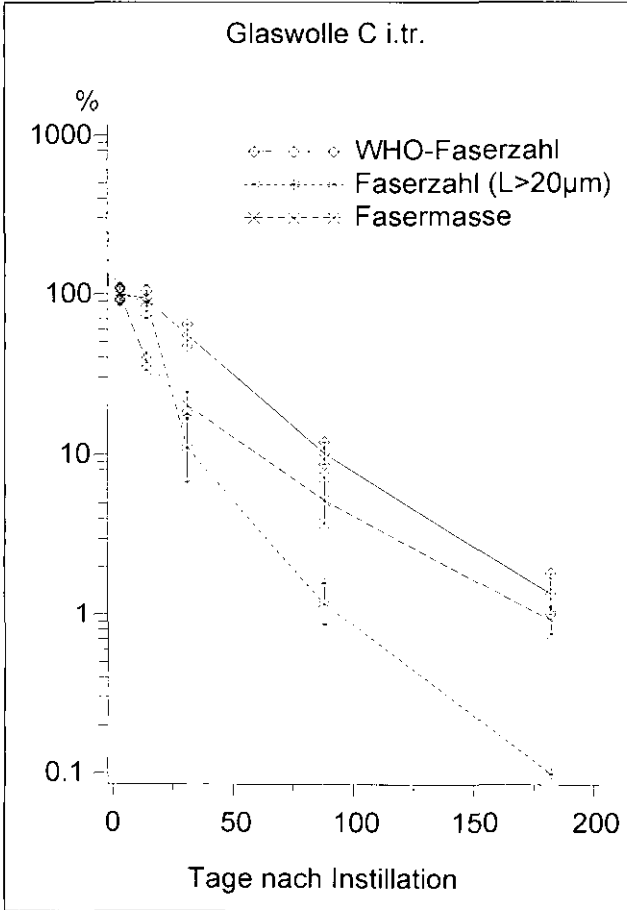


Abbildung A 12:
 Abnahme von Faserzahl
 und Fasermasse
 (i.tr. Instillation Glaswolle C).
 Normierung auf Retentions-
 werte vom Sektionstermin
 drei Tage nach Applikations-
 ende (= 100 %)

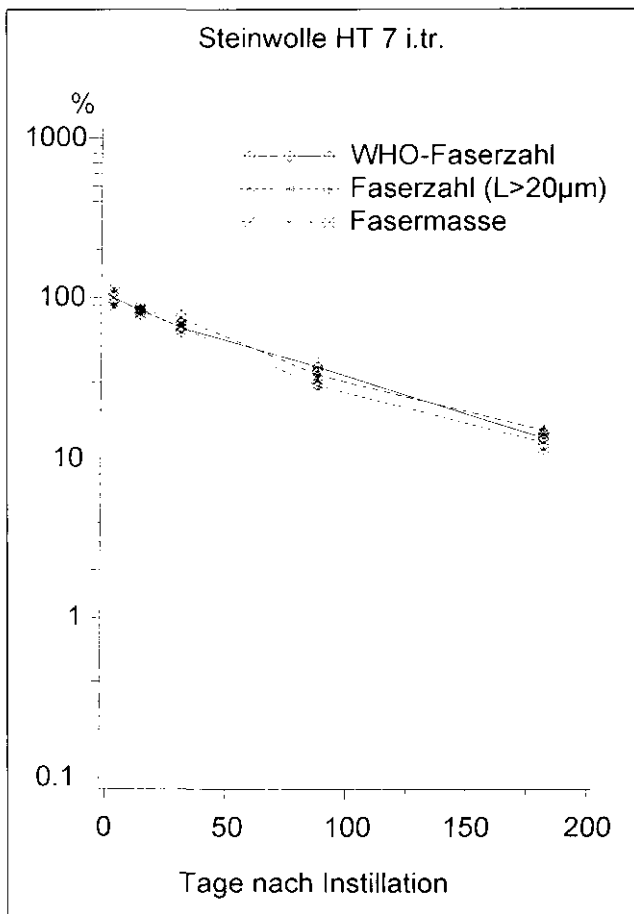


Abbildung A 13:
Abnahme von Faserzahl
und Fasermasse
(i.tr. Instillation
Steinwolle HT 7).
Normierung auf Retentions-
werte vom Sektionstermin
drei Tage nach Applikations-
ende (= 100 %)

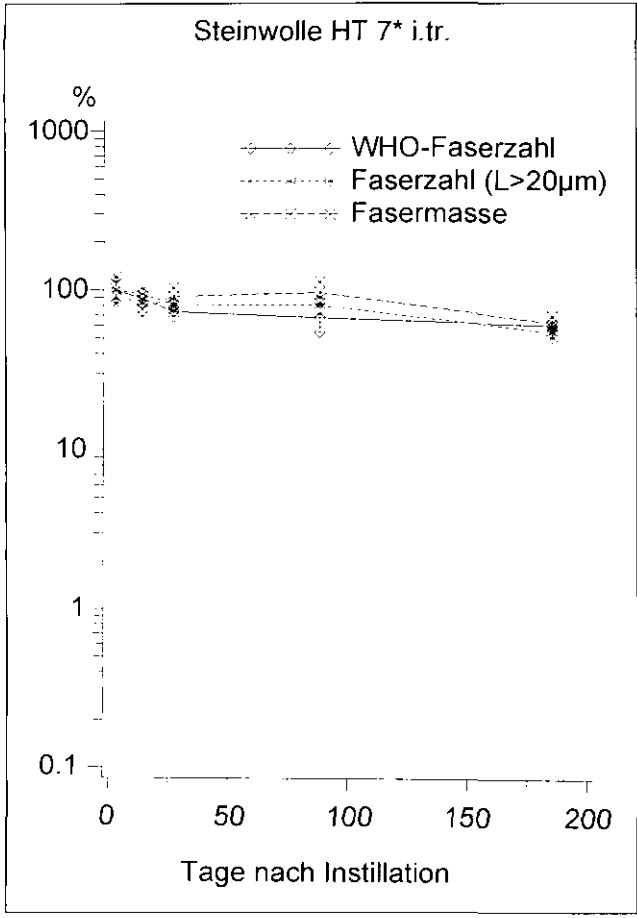


Abbildung A 14:
 Abnahme von Faserzahl
 und Fasermasse
 (i.tr. Instillation
 Steinwolle HT 7*
 Normierung auf Retentions-
 werte vom Sektionstermin
 drei Tage nach Applikations-
 ende (= 100 %)

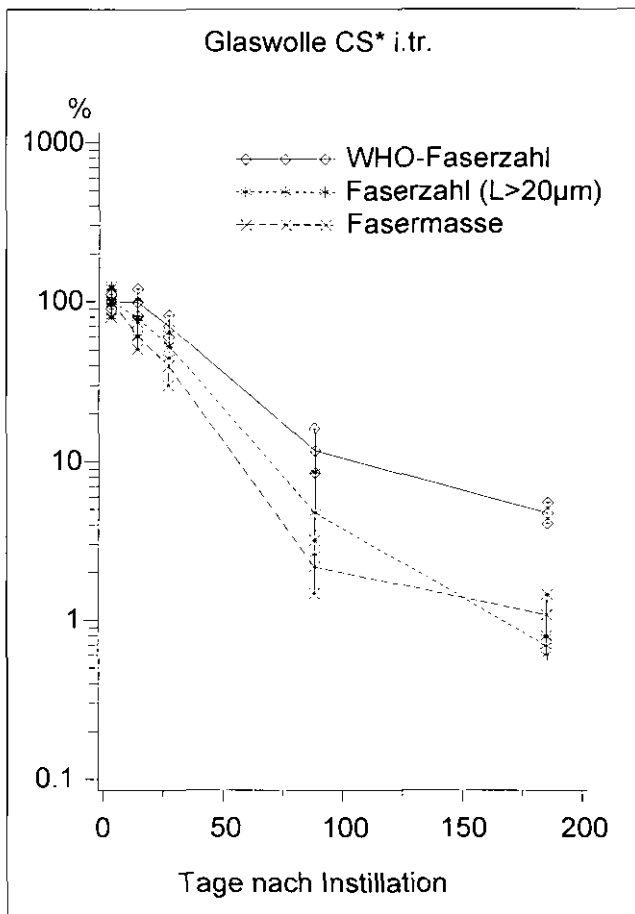


Abbildung A 15:
Abnahme von Faserzahl
und Fasermasse
(i.tr. Instillation
Glaswolle CS*
Normierung auf Retentions-
werte vom Sektionstermin
drei Tage nach Applikations-
ende (= 100 %)

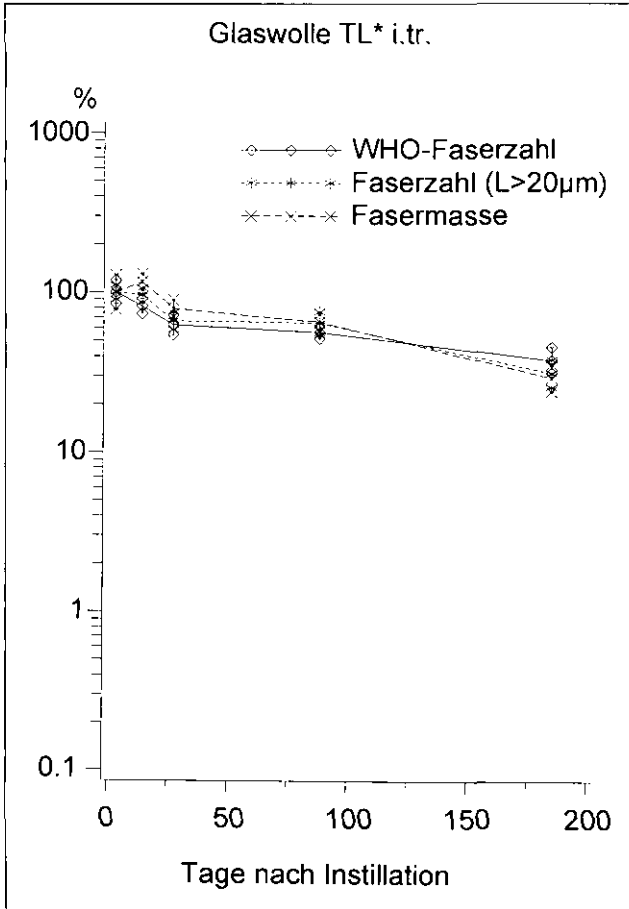
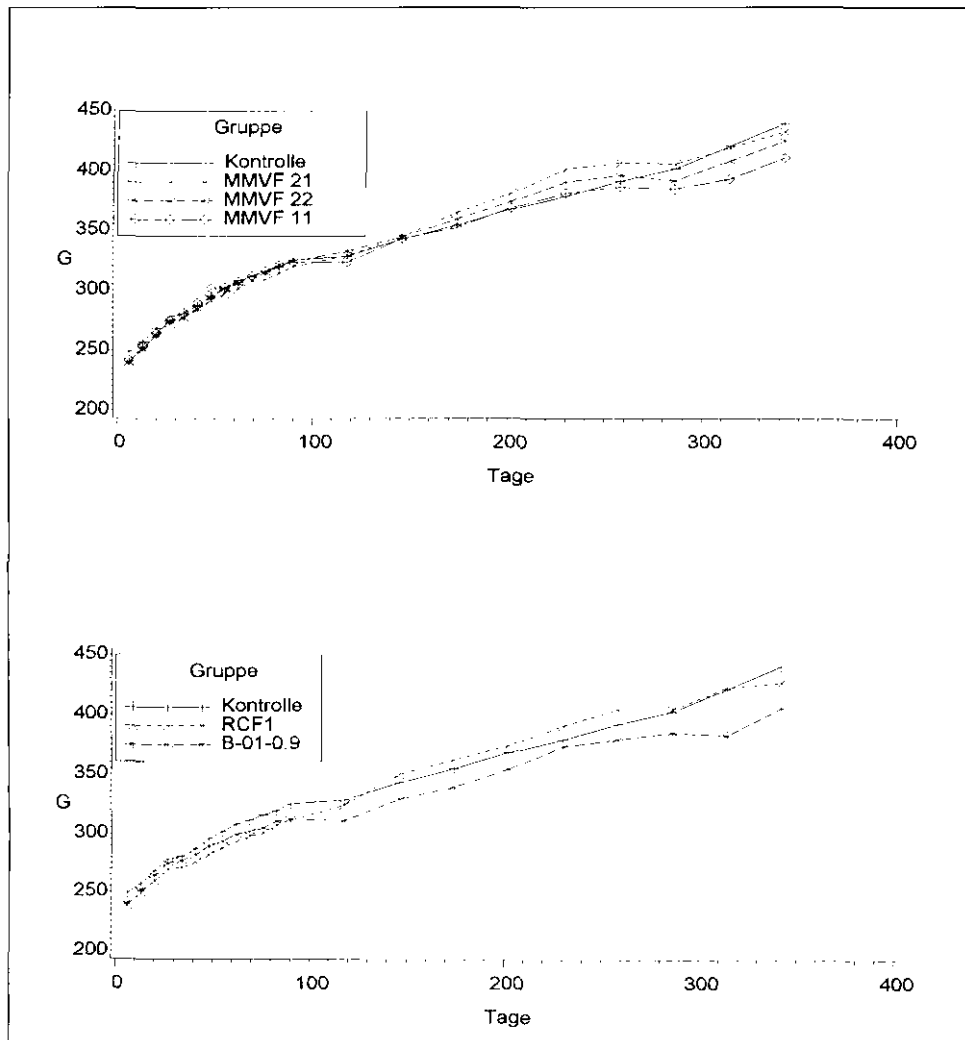


Abbildung A 16:
 Abnahme von Faserzahl
 und Fasermasse
 (i.tr. Instillation Glaswolle TL*
 Normierung auf Retentions-
 werte vom Sektionstermin
 drei Tage nach Applikations-
 ende (= 100 %)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Abbildungen A 1 bis A 22

Abbildung A 17:
Körpergewichtsentwicklung nach intraperitonealer Injektion



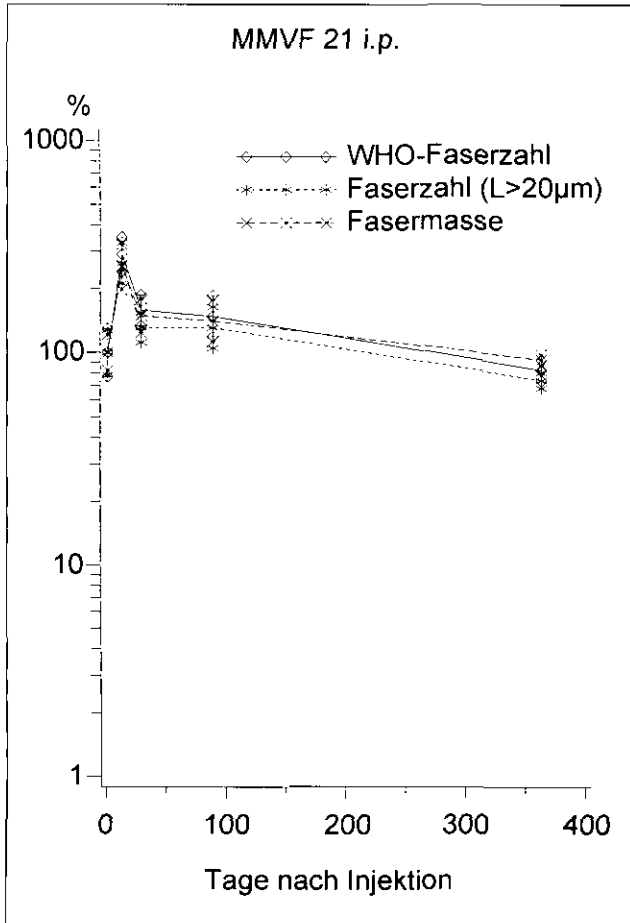


Abbildung A 18:
 Abnahme von Faserzahl
 und Fasermasse
 (i.p. Injektion MMVF 21).
 Normierung auf Retentions-
 werte vom Sektionstermin
 zwei Tage nach Applikations-
 ende (= 100 %)

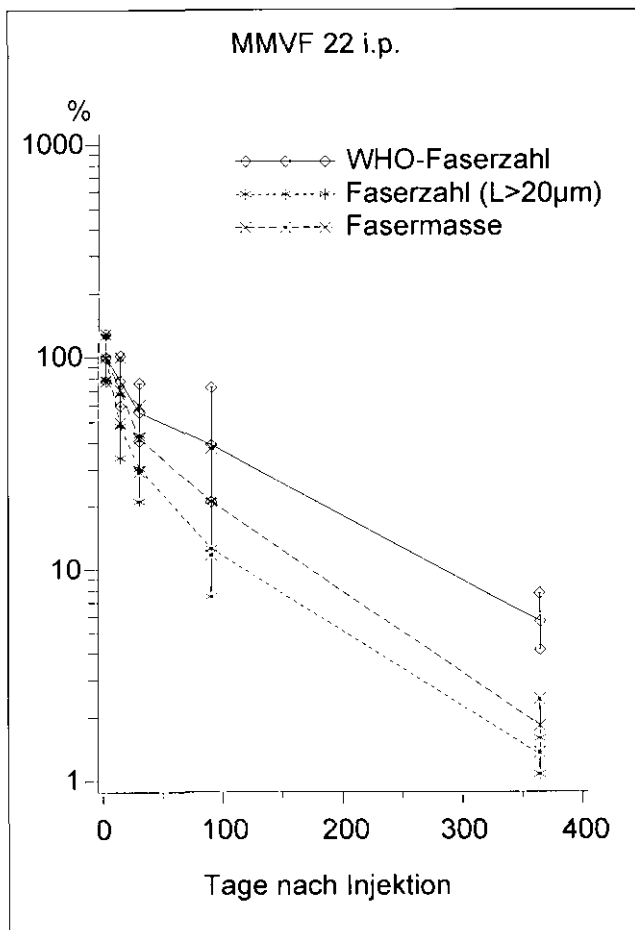


Abbildung A 19:
Abnahme von Faserzahl
und Fasermasse
(i.p. Injektion MMVF 22).
Normierung auf Retentions-
werte zwei Tage nach Applikations-
ende (= 100 %)

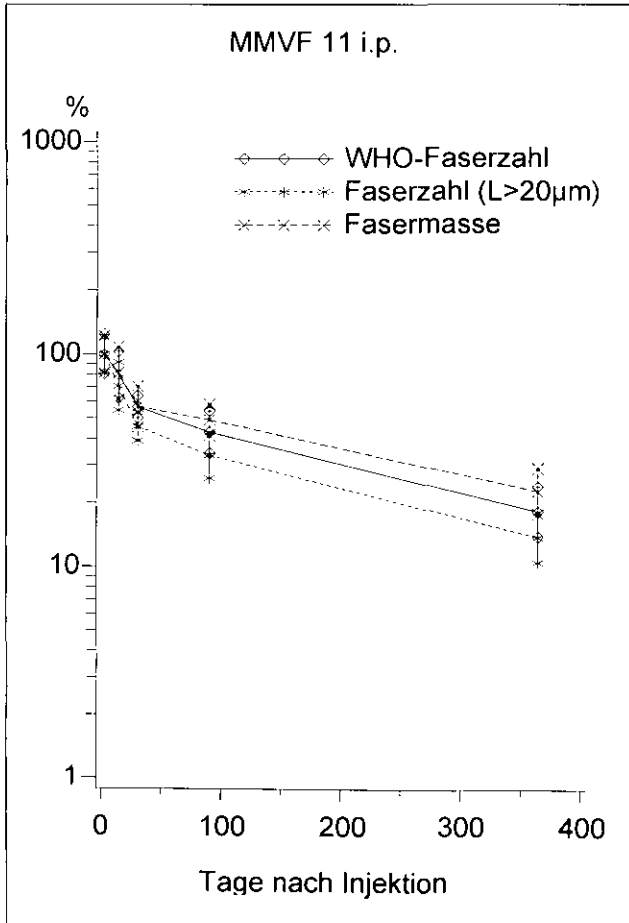


Abbildung A 20:
 Abnahme von Faserzahl
 und Fasermasse
 (i.p. Injektion MMVF 11).
 Normierung auf Retentions-
 werte vom Sektionstermin
 zwei Tage nach Applikations-
 ende (= 100 %)

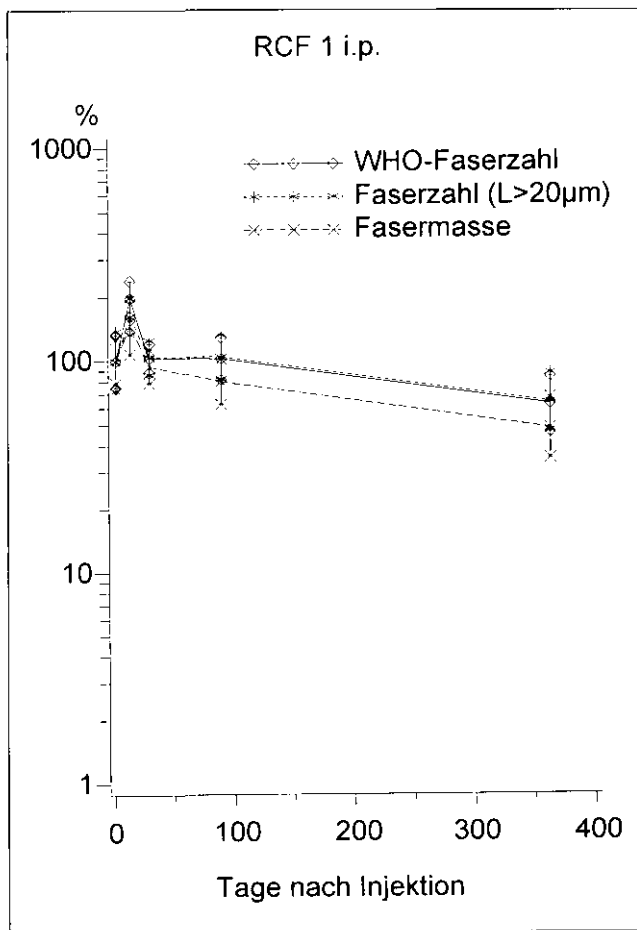


Abbildung A 21:
Abnahme von Faserzahl
und Fasermasse
(i.p. Injektion RCF 1).
Normierung auf Retentions-
werte vom Sektionstermin
zwei Tage nach Applikations-
ende (= 100 %)

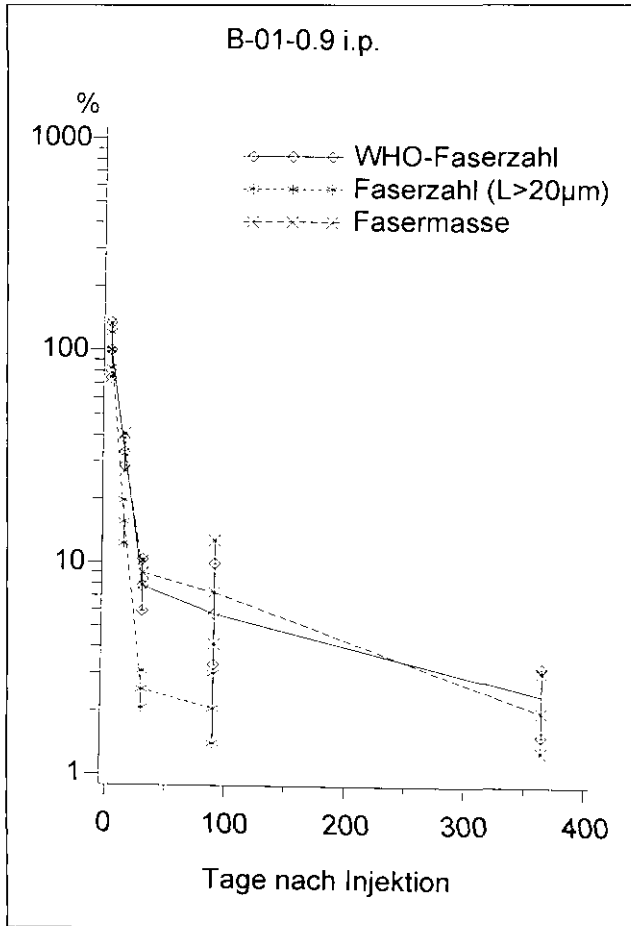
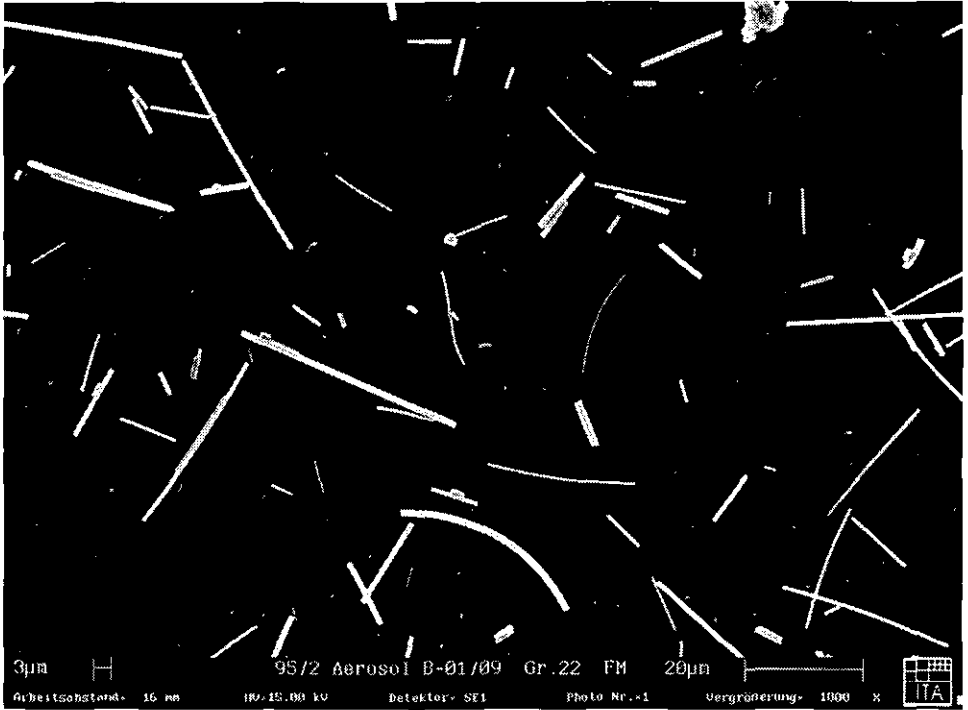


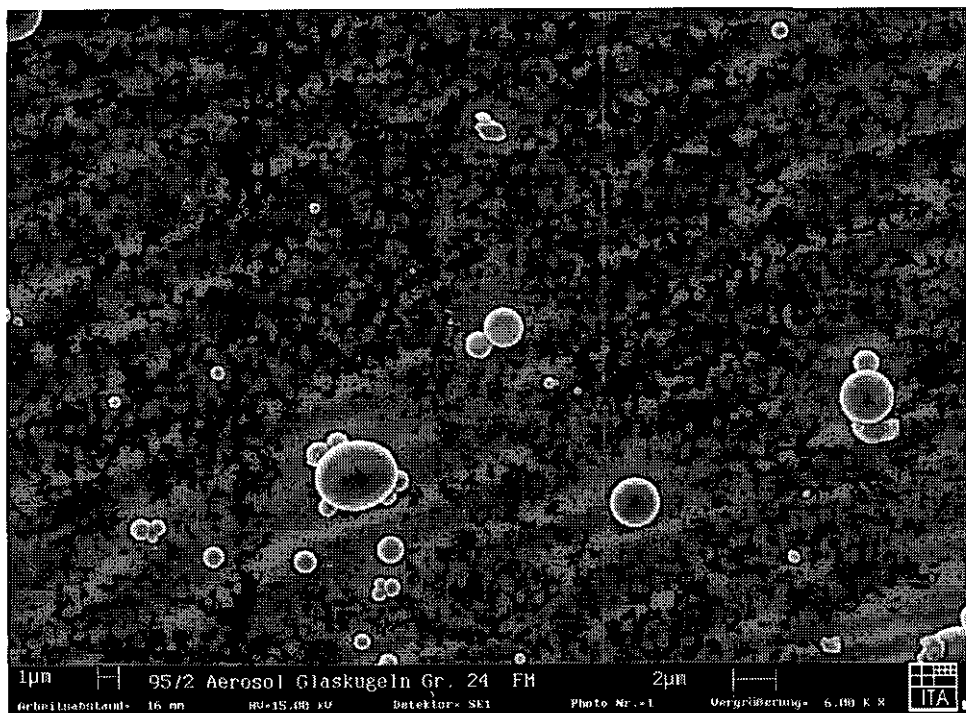
Abbildung A 22:
 Abnahme von Faserzahl
 und Fasermasse
 (i.p. Injektion B-01-0.9).
 Normierung auf Retentions-
 werte vom Sektionstermin
 zwei Tage nach Applikations-
 ende (= 100 %)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte Prüfmaterialien)



Glasfaser B-01-0.9 (Aerosolprobe aus Inhalationsversuch)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte Prüfmaterialien)

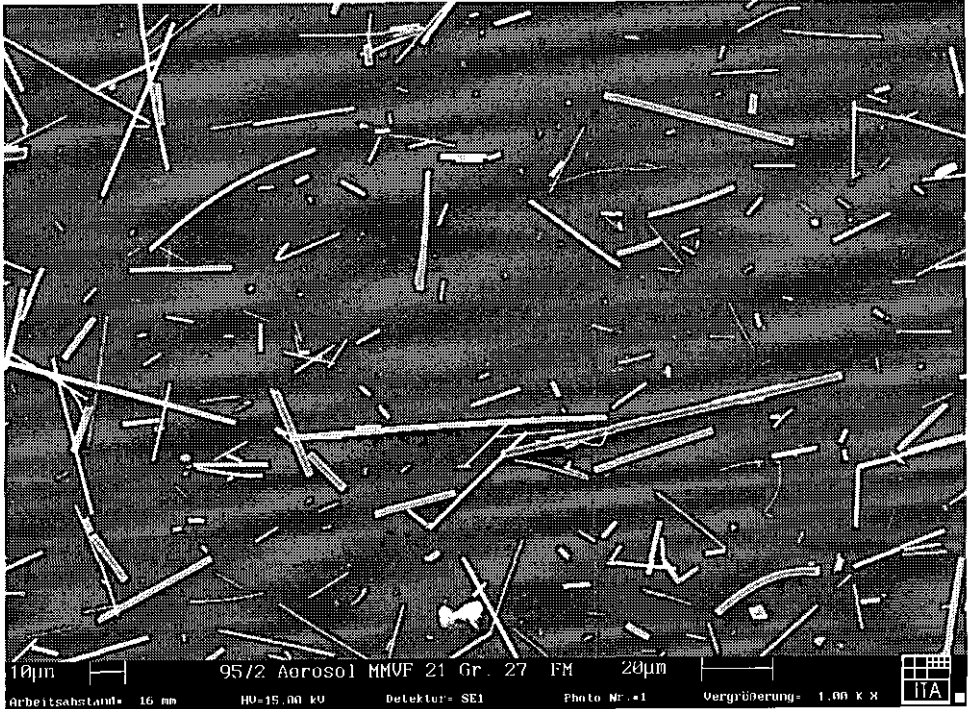


Glaskugeln (Aerosolprobe aus Inhalationsversuch)



Keramikfaser RCF 1 (Aerosolprobe aus Inhalationsversuch)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte Prüfmaterialien)

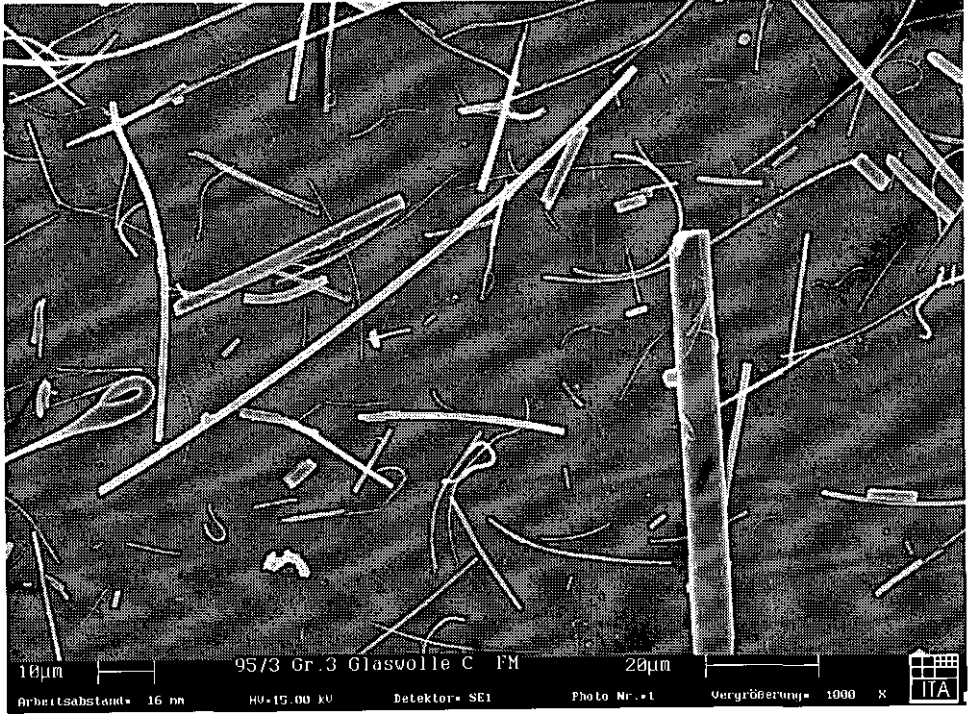


Steinwolle MMVF 21 (Aerosolprobe aus Inhalationsversuch)



Zetwool (Intratrachealversuch)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte Prüfmaterialien)

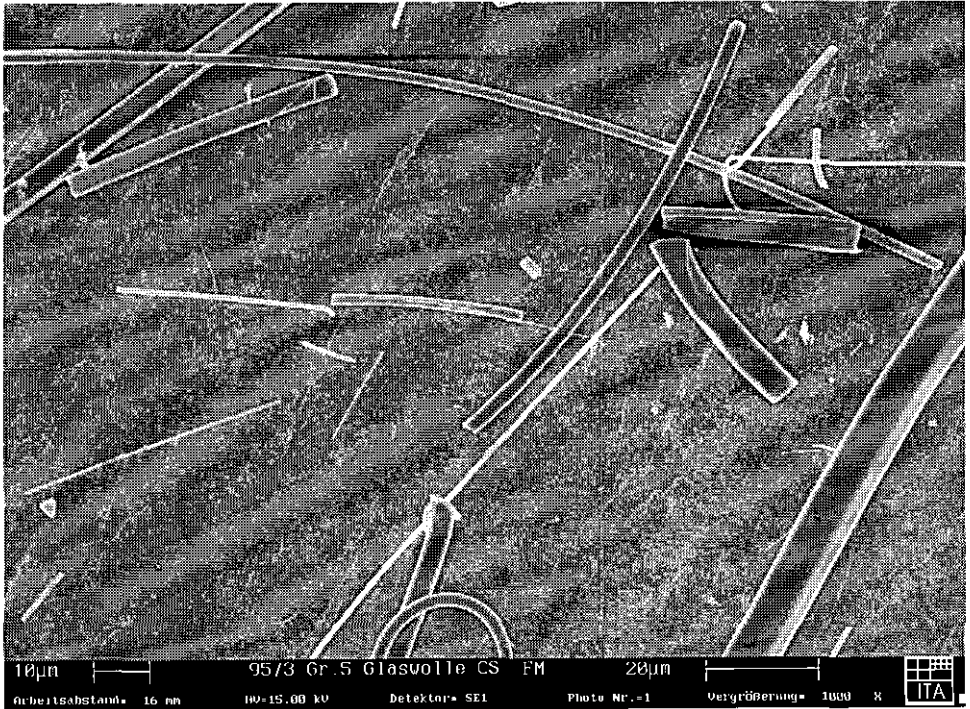


Glaswolle C (Intratrachealversuch)

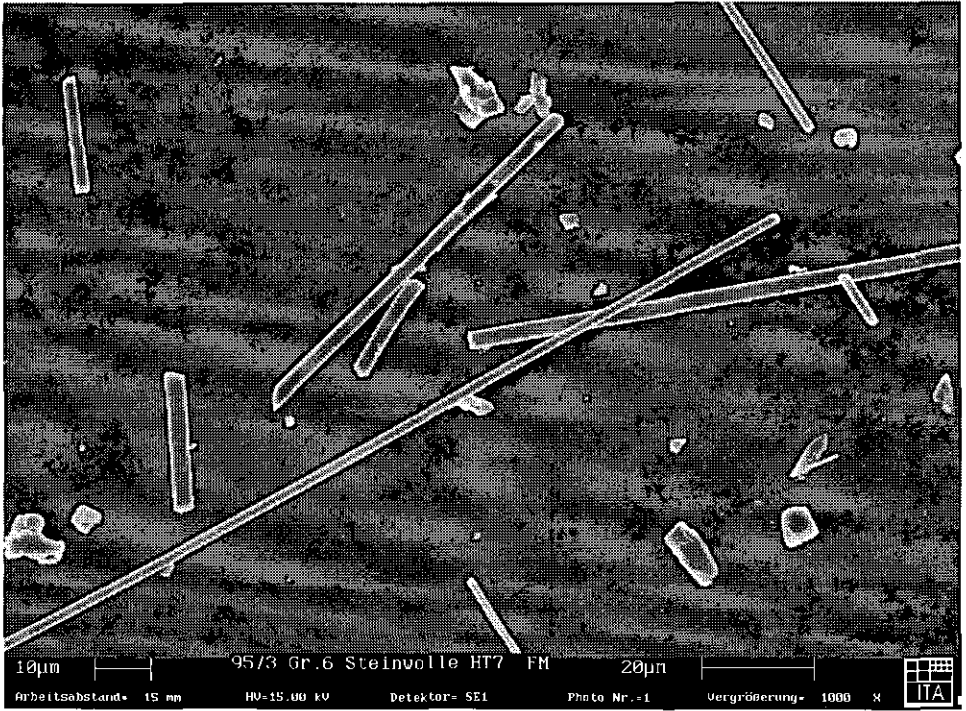


Steinwolle HT 7 (Intratrachealversuch)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte Prüfmaterialien)

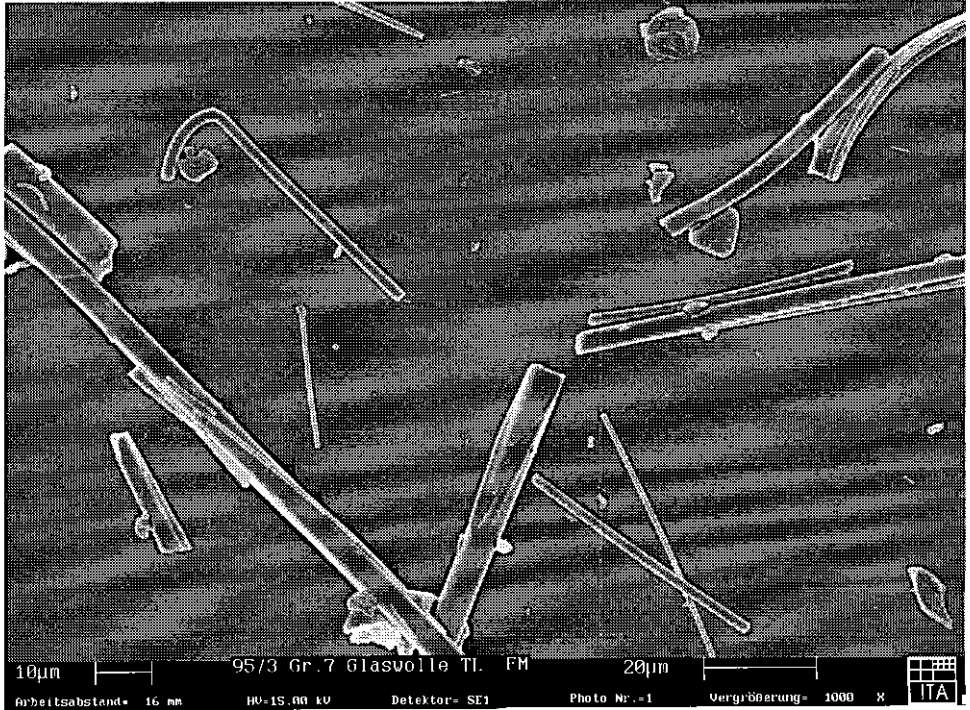


Glaswolle CS* (dicke Fraktion, Intratrachealversuch)

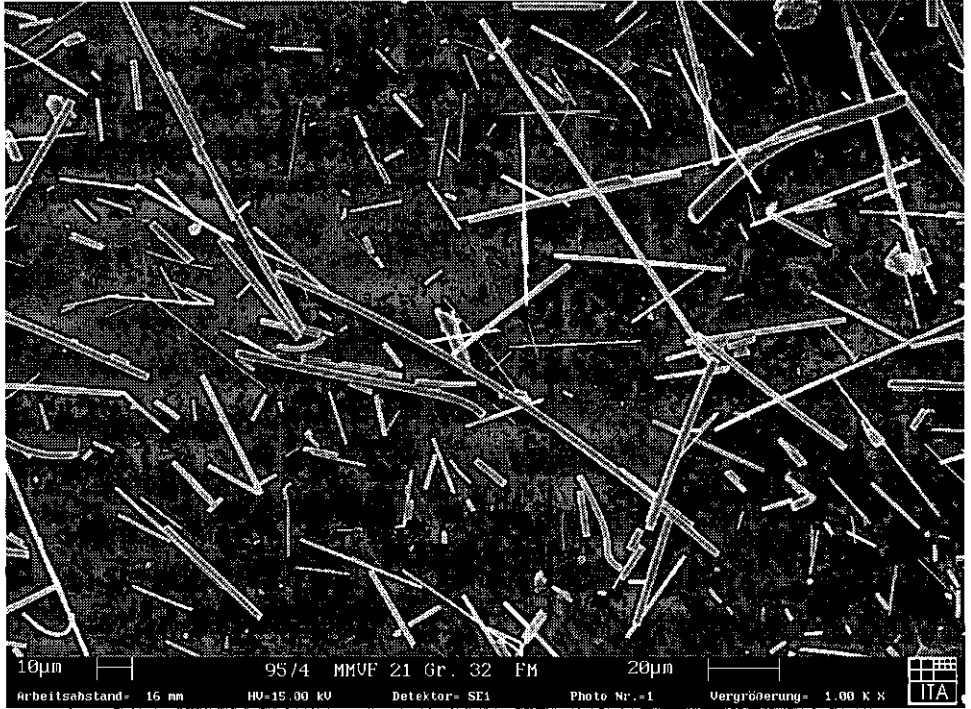


Steinwolle HT 7* (dicke Fraktion, Intratrachealversuch)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte Prüfmaterialien)



Glaswolle TL* (dicke Fraktion, Intratrachealversuch)

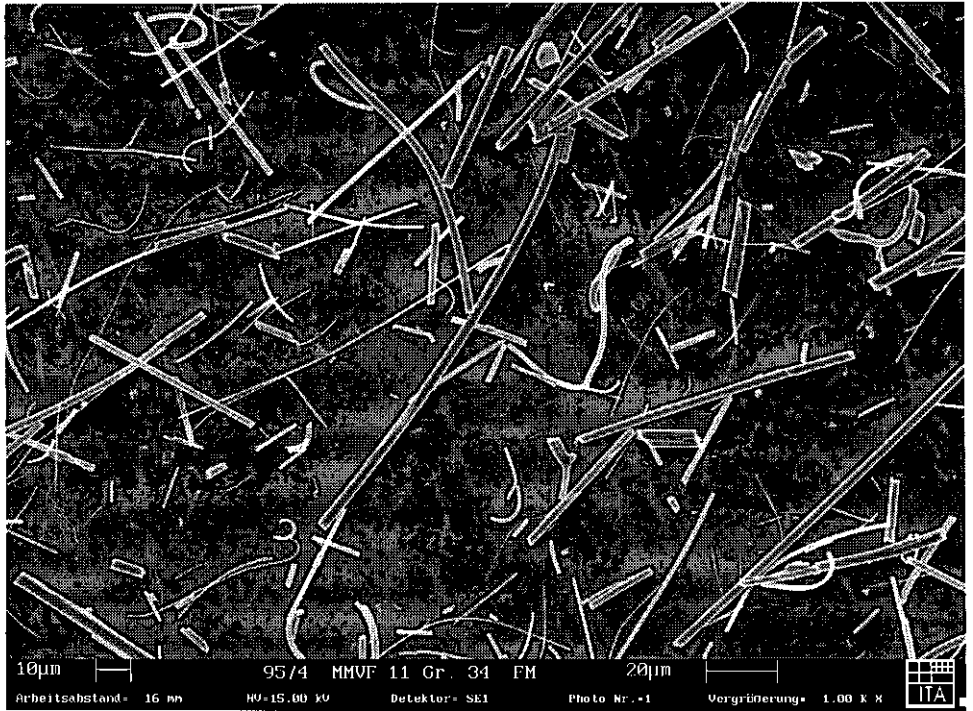


Steinwolle MMVF 21 (Intraperitonealversuch)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte Prüfmaterialien)

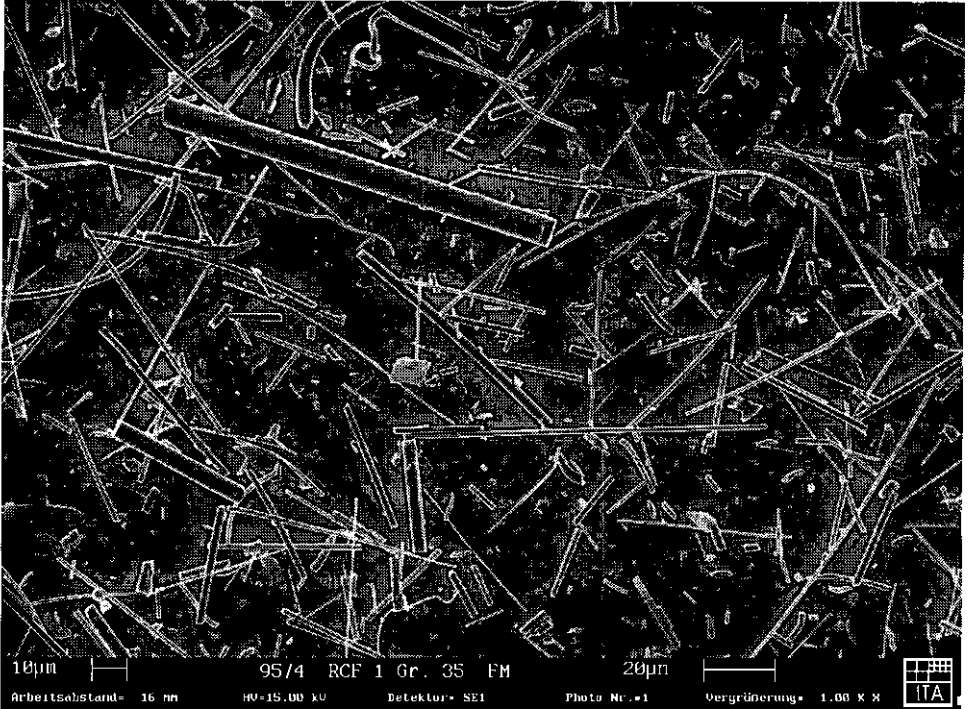


Schlackenvolle MMVF 22 (Intraperitonealversuch)



Glaswolle MMVF 11 (Intraperitonealversuch)

Zu Teil I: In-vivo-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte Prüfmaterialien)



Keramikfaser RCF I (Intraperitonealversuch)

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen

Tabellen A 22 bis A 32
Abbildungen A 23 bis A 57
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen

Tabellen A 22 bis A 32

Tabelle A 22:

Geometrische Daten der Faserproben; Angaben des ITA und logarithmischer Normalverteilungsfit des ISC

Probe	Typ Verteilungs- summe	Quelle	Regres- sionskoeffi- zient r^2	Dichte [g/cm ³]	Durch- messer [μ m] d_5	Durch- messer [μ m] d_{50}	Durch- messer [μ m] d_{95}	spezifische Ober- fläche [m ² /g]
Wollastonit	Anzahl	ITA	0,990	2,9	0,21	0,57	2,04	0,596
	Anzahl	ISC-Fit			0,19	0,59	1,81	0,722
	Masse	ISC-Fit			0,83	2,79	9,45	0,650
B-01-0.9	Anzahl	ITA	0,962	2,5	0,19	0,70	1,40	1,457
	Anzahl	ISC-Fit			0,25	0,64	1,62	1,115
	Masse	ISC-Fit			0,53	1,27	3,06	1,452
RCF 1	Anzahl	ITA	0,981	2,5	0,17	0,94	2,38	0,886
	Anzahl	ISC-Fit			0,23	0,80	2,75	0,482
	Masse	ISC-Fit			0,75	2,29	6,99	0,880
Zetwool	Anzahl	ITA	0,979	2,9	0,22	0,56	1,70	1,162
	Anzahl	ISC-Fit			0,21	0,59	1,65	0,876
	Masse	ISC-Fit			0,56	1,5	4,04	1,101
MMVF 11	Anzahl	ITA	0,981	2,5	0,34	0,86	2,92	0,766
	Anzahl	ISC-Fit			0,28	0,87	2,71	0,559
	Masse	ISC-Fit			0,89	2,53	7,21	0,774
Glaswolle C	Anzahl	ITA	0,983	2,5	0,26	0,52	1,63	0,867
	Anzahl	ISC-Fit			0,20	0,56	1,59	1,058
	Masse	ISC-Fit			0,69	2,20	7,08	0,934
HT 7	Anzahl	ITA	0,988	2,5	0,30	1,08	3,31	0,691
	Anzahl	ISC-Fit			0,32	1,08	3,62	0,380
	Masse	ISC-Fit			1,02	2,79	7,66	0,692

Fit: Anpassungs-, Ausgleichs-, Regressionsrechnung des ISC

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
 Tabellen A 22 bis A 32

Tabelle A 23:

Chemische Zusammensetzungen der untersuchten Proben in Prozent Massenanteilen;

1: theoretische Zusammensetzung gemäß $\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$

2: Chemische Analyse des ISC

3: aus VDI-Bericht 853

4: lt. Angabe Manville Technology Center

5: Herstellerangabe

KI: Kanzerogenitätsindex

Proben- nahme	Wollast.	Wollast.	B-01-0.9	B-01-0.9	RCF 1	MMVF 11	Zet- wool	Zet- wool	Glas- wolle C	HT 7
Erläuterung	1	2	3	2	4	4	5	2	2	2
SiO_2	51,72	50,9	60,7	59,6	47,7	63,4		0,53	61,0	38,8
TiO_2		0,01		0,06	2,05	0,06		0,01	0,01	2,02
CaO	48,28	47,5	16,5	15,4	0,07	7,45	40,5	42,8	6,71	14,7
MgO		0,08	3,20	3,02	0,08	2,82		0,40	2,69	10,6
BaO				0,01		0,04			0,01	
SrO				0,01				0,02	0,01	0,05
MnO		0,23				0,01		0,02	0,01	0,18
K_2O		0,02	0,70	0,70	0,16	1,32		0,01	0,56	0,81
Na_2O		0,07	15,4	14,7	0,54	15,45		0,13	15,1	1,80
Li_2O									0,01	0,01
B_2O_3			3,30	3,33		4,45		0,12	9,43	
Al_2O_3		0,30		0,37	48,0	3,88	58,8	56,0	0,94	22,1
Fe_2O_3		0,65	0,20	0,03	0,97	0,25		0,11	0,09	7,63
Cr_2O_3					0,03				0,01	0,07
P_2O_5								0,02	1,17	0,31
ZrO_2		0,01		0,03	0,11	0,03		0,01		0,05
NiO										0,02
ZnO										
SO_3				0,26		0,33			0,23	
$\text{LOI}^{a)}$						0,58				
Summe	100,00	99,77	100,00	97,52	99,71	100,07	99,30	100,18	97,98	99,15
KI		47,1		36,4	-95,2	23,8	-77,1	-68,5	32,6	-16,3

^{a)} Glühverlust (loss of ignition)

Tabelle A 24:
Versuchsparameter der Durchflußversuche

Probe	Soll-F/A: 0,003 $\mu\text{m/s}$			Soll-F/A: 0,01 $\mu\text{m/s}$			Soll-F/A: 0,01 $\mu\text{m/s}$ (bis 200 Tage)			Soll-F/A: 0,1 $\mu\text{m/s}$		
	Ein- waage [mg]	Durch- flußrate [ml/Tag]	Ist-F/A [$\mu\text{m/s}$]	Ein- waage [mg]	Durch- flußrate [ml/Tag]	Ist-F/A [$\mu\text{m/s}$]	Ein- waage [mg]	Durch- flußrate [ml/Tag]	Ist-F/A [$\mu\text{m/s}$]	Ein- waage [mg]	Durch- flußrate [ml/Tag]	Ist-F/A [$\mu\text{m/s}$]
Wollastonit	194	24	0,0022	194	80	0,0073	58	24	0,0074	58	240	0,0737
B-01-0.9	59	24	0,0032	59	80	0,0108	18	24	0,0106	18	240	0,106
RCF 1	93	24	0,0034	93	80	0,0113	28	24	0,0113	28	240	0,113
MMVF 11	119	24	0,0030	119	80	0,0101	36	24	0,0100	36	240	0,100
Zetwool	87	24	0,0029	87	80	0,0097	26	24	0,0097	26	240	0,097
Glaswolle C	125	24	0,0024	125	80	0,0079	37	24	0,0080	37	240	0,080
HT 7	128	24	0,0031	128	80	0,0105	38	24	0,0106	38	240	0,106

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
 Tabellen A 22 bis A 32

Tabelle A 25:
 Zusammensetzungen der Lösungen in mg/l

Komponente	pH 4,5 - 5 ^{a)}	pH 7,5 - 7,6 ^{a)}
MgCl ₂ ·6H ₂ O	106	212
NaCl	3 208	6 415
CaCl ₂ ·4H ₂ O	159	318
Na ₂ SO ₄ ·10H ₂ O	90	179
Na ₂ HPO ₄	74	148
NaHCO ₃	—	2 703
(Na ₂ -tartrat)·2H ₂ O	90	180
(Na ₂ -citrat)·2H ₂ O	5 313	186
Na-lactat	88	175
Glycin	59	118
Na-pyruvat	86	172

^{a)} 1 ml Formaldehyd pro 1 l Lösung wird zur Verhinderung von Algenwachstum zugesetzt

Tabelle A 26 a:

Massenverluste J in % der Faserproben, ermittelt auf der Basis der SiO₂-Analyse
(Zetwool: auf Basis der Al₂O₃-Analyse);

pH: 7,5; Soll-F/A: 0,003 $\mu\text{m/s}$; SA: Standardabweichung des Mittelwertes der drei Zellen

Zeit [Tage]	Wollastonit		B-01-0.9		RCF 1		MMVF 11		Zetwool		Glaswolle C		HT 7	
	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]
1	0,94	0,27	4,35	2,10	0,04	0,00	0,43	0,16	0,05	0,01	1,74	0,55	0,13	0,04
3	2,84	0,50	15,93	1,91	0,17	0,02	3,94	0,96	0,08	0,03	7,86	1,19	0,44	0,03
7	4,68	0,40	34,10	7,60	0,51	0,03	11,66	2,74	0,13	0,03	18,86	2,59	0,98	0,20
15	8,45	1,06	56,93	14,51	1,26	0,21	26,11	5,49	0,17	0,04	36,72	5,56	2,34	0,33
25	14,34	2,64			2,26	0,42	35,36	5,49	0,22	0,03	52,79	7,60	3,74	0,47
37	22,63	4,39			3,39	0,57	44,54	7,24	0,25	0,09			4,78	0,74
60	39,28	7,51			6,45	1,24	54,36	7,96	1,81	0,54			7,47	0,70

Tabelle A 26 b:

Massenverluste J in % der Faserproben, ermittelt auf der Basis der SiO₂-Analyse
(Zetwool: auf Basis der Al₂O₃-Analyse);

pH: 7,5; Soll-F/A: 0,01 $\mu\text{m/s}$ (60 Tage); SA: Standardabweichung des Mittelwertes der drei Zellen

Zeit [Tage]	Wollastonit		B-01-0.9		RCF 1		MMVF 11		Zetwool		Glaswolle C		HT 7	
	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]
1	4,37	0,39	21,07	1,62	0,22	0,04	1,58	0,34	0,45	0,02	7,22	1,50	0,61	0,08
3	8,22	0,66	51,87	6,19	0,67	0,17	7,66	1,86	0,91	0,07	20,75	3,43	1,58	0,20
7	20,03	2,28			1,26	0,64	18,88	4,64	1,90	0,16	39,40	4,45	3,38	0,35
15	36,08	5,50			2,79	1,63	37,33	7,95	5,31	0,44	61,61	7,26	6,88	0,79
25	48,16	4,65			4,96	1,65	51,16	9,80	9,00	1,28			10,55	2,13
42	64,52	8,68			7,42	1,09			11,35	0,77			15,93	3,11
60					10,68	0,76			18,30	0,68			22,97	2,54

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Tabellen A 22 bis A 32

Tabelle A 26 c:

Massenverluste J in % der Faserproben, ermittelt auf der Basis der SiO₂-Analyse
{Zetwool: auf Basis der Al₂O₃-Analyse};

pH: 7,5; Soll-F/A: 0,01 µm/s (200 Tage); SA: Standardabweichung des Mittelwertes der drei Zellen

Zeit [Tage]	Wollastonit		B-01-0.9		RCF I		MMVF 11		Zetwool		Glaswolle C		HT 7	
	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]
1	0,89	0,48	6,78	0,51	0,17	0,09	0,38	0,20	0,20	0,01	1,43	0,71	0,25	0,24
3	2,99	2,19	44,43	2,09	0,78	0,09	4,96	2,97	1,17	0,02	15,23	6,29	1,23	0,23
7	8,54	4,82	79,30	0,40	2,04	0,19	20,41	2,89	2,26	0,09	43,56	7,70	3,35	0,66
15	21,61	8,79	91,86	0,56	4,45	0,39	43,09	1,79	3,37	0,22	67,36	8,64	7,54	2,22
25	51,69	2,09	95,45	0,70	7,15	0,47	60,16	1,83	4,56	0,41	75,99	8,46	12,61	4,17
39	69,64	6,51			10,93	0,73	74,24	2,75	6,02	0,46	82,40	8,10	20,05	5,84
60	78,11	6,59			16,60	1,43	83,73	3,46	10,33	0,38	87,37	7,87	27,91	8,51
91	83,24	4,39			24,88	1,99	88,66	3,82	18,25	1,15	88,82	7,39	37,78	12,91
112	86,80	1,41			31,26	2,13	90,51	4,27	24,68	1,73	89,07	7,40	45,29	15,43
140	88,83	0,59			38,96	2,80	91,60	4,28	32,10	1,84	89,47	7,32	53,49	16,87
170	89,95	1,74			45,36	2,95	92,35	3,25	40,67	2,03			62,29	14,88
200					51,42	3,21			49,06	2,67			68,71	12,37

Tabelle A 26 d:

Massenverluste J in % der Faserproben, ermittelt auf der Basis der SiO₂-Analyse
{Zetwool: auf Basis der Al₂O₃-Analyse};

pH: 7,5; Soll-F/A: 0,1 µm/s; SA: Standardabweichung des Mittelwertes der drei Zellen

Zeit [Tage]	Wollastonit		B-01-0.9		RCF I		MMVF 11		Zetwool		Glaswolle C		HT 7	
	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]
1	4,77	0,78	35,58	2,92	0,92	0,91	3,25	0,21	1,04	0,77	18,50	5,17	0,97	0,41
3	11,11	1,92	69,83	4,00	2,55	1,60	12,57	0,33	1,00	0,19	46,02	7,47	3,21	1,37
7	29,01	7,03			5,01	2,21	29,21	0,26	3,79	0,57	69,60	9,25	7,91	2,22
15	60,76	13,45			9,38	3,79	51,65	4,13	7,02	1,94			14,83	6,50
25					14,24	2,96			14,02	4,22			22,96	5,28
39					18,52	4,03			25,15	8,19			34,68	2,69
60					21,46	4,51			29,13	9,24			38,92	2,24

Tabelle A 26 e:

Massenverluste J in % der Faserproben, ermittelt auf der Basis der SiO₂-Analyse
(Zetwool: auf Basis der Al₂O₃-Analyse);

pH: 4,5; Soll-F/A: 0,003 μm/s; SA: Standardabweichung des Mittelwertes der drei Zellen

Zeit [Tage]	Wollastonit		B-01-0.9		RCF 1		MMVF 11		Zetwool		Glaswolle C		HT 7	
	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]
1	3,67	1,69	1,83	0,49	0,35	0,02	0,06	0,01	47,14	7,89	0,19	0,05	13,40	4,01
3	9,92	3,02	3,85	0,87	1,08	0,03	0,08	0,01	85,59	2,97	1,16	0,05	34,71	6,34
7	19,28	1,83	8,08	1,03	3,54	0,07	0,19	0,02			3,80	0,22	70,08	2,37
16	32,23	1,38	20,77	2,06	9,98	0,42	0,44	0,02			9,18	4,11		
25			31,77	3,07	15,91	0,84	0,72	0,02			17,95	6,85		
42			42,88	4,28	25,63	1,22	1,22	0,01			36,66	8,24		
64			49,70	4,83	36,23	1,71	1,96	0,01			53,24	8,11		

Tabelle A 26 f:

Massenverluste J in % der Faserproben, ermittelt auf der Basis der SiO₂-Analyse
(Zetwool: auf Basis der Al₂O₃-Analyse);

pH: 4,5; Soll-F/A: 0,01 μm/s (60 Tage); SA: Standardabweichung des Mittelwertes der drei Zellen

Zeit [Tage]	Wollastonit		B-01-0.9		RCF 1		MMVF 11		Zetwool		Glaswolle C		HT 7	
	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]
1	6,75	0,99	1,74	0,18	0,50	0,04	0,05	0,00	78,06	1,66	0,29	0,04	34,91	3,53
3	17,82	1,90	3,87	0,14	1,48	0,04	0,11	0,03			1,21	0,11	77,41	3,92
7	31,40	2,93	9,33	0,06	4,29	0,15	0,23	0,05			4,15	0,20		
15	48,00	5,54	23,39	0,17	10,63	0,08	0,40	0,13			13,20	0,88		
25	63,77	7,02	37,82	0,63	18,48	0,09	0,57	0,27			28,90	3,21		
39			50,91	0,73	28,16	0,08	1,08	0,36			50,13	4,84		
60					38,75	0,23	2,13	0,83						

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
 Tabellen A 22 bis A 32

Tabelle A 26 g:

Massenverluste J in % der Faserproben, ermittelt auf der Basis der SiO₂-Analyse
 [Zetwool: auf Basis der Al₂O₃-Analyse];

pH: 4,5; Soll-F/A: 0,01 µm/s (200 Tage); SA: Standardabweichung des Mittelwertes der drei Zellen

Zeit [Tage]	Wollastonit		B-01-0.9		RCF I		MMVF II		Zetwool		Glaswolle C		HT 7	
	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]
1	5,90	0,47	0,97	0,37	0,36	0,05	0,09	0,01	43,77	3,50	0,28	0,10	10,54	2,01
3	19,06	2,09	2,34	0,69	1,02	0,08	0,02	0,01	73,14	14,43	1,05	0,21	36,15	14,40
7	36,96	3,77	7,14	1,87	3,66	0,22	0,10	0,02	75,44	14,43	3,31	1,18	48,26	27,48
16	59,10	8,22	23,56	6,26	10,98	0,27	0,35	0,05	78,06	12,99	13,11	5,02	52,83	30,05
25	70,24	8,77	34,59	8,05	17,52	0,36	0,70	0,05	80,66	10,82	25,44	8,56	62,95	20,90
42	80,64	6,66	43,70	9,09	27,96	0,41	1,29	0,17	86,83	4,80	41,67	11,00	67,43	16,42
64	86,45	4,27	49,30	10,07	40,69	0,11	2,41	0,25	90,85	1,60	53,82	11,83	68,94	14,91
91	90,04	2,52	53,86	10,10	50,77	0,42	3,88	0,25	92,04	1,60	66,17	8,89	68,94	14,48
113	91,59	1,53	56,02	10,74	57,31	0,78	5,79	0,54			71,05	6,81	69,29	14,83
141	92,58	0,89	57,72	11,12	63,89	1,17	8,37	0,55			74,62	5,73	69,51	14,83
171			59,65	11,13	69,57	1,74	11,46	0,45			77,65	5,22	69,83	14,51
200			60,25	11,13	73,63	2,12	13,44	0,43			79,22	4,84	69,83	14,51

Tabelle A 26 h:

Massenverluste J in % der Faserproben, ermittelt auf der Basis der SiO₂-Analyse

[Zetwool: auf Basis der Al₂O₃-Analyse];

pH: 4,5; Soll-F/A: 0,1 µm/s; SA: Standardabweichung des Mittelwertes der drei Zellen

Zeit [Tage]	Wollastonit		B-01-0.9		RCF I		MMVF II		Zetwool		Glaswolle C		HT 7	
	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]	J [%]	SA [%]
1	14,51	3,92	0,89	0,11	0,85	0,31	0,09	0,03	97,40	0,87	0,14	0,09	70,17	5,22
3	37,16	8,33	2,51	0,01	2,05	0,71	0,09	0,03			0,72	0,20		
7	62,07	12,48	8,27	0,31	5,04	1,05	0,28	0,05			4,11	0,06		
15			26,18	1,62	12,43	0,80	0,28	0,05			19,49	2,26		
25			39,57	2,65	19,72	1,35	0,25	0,05			37,55	2,80		
39			49,03	3,64	27,60	2,79					57,43	2,40		
60			58,59	6,38	40,10	4,19								

Tabelle A 27:

Erscheinungsform der korrodierten Faserproben bei pH 7,5 nach Typen gemäß der Einteilung in Abschnitt 3.3.1.1 (Seite 119)

F/A-Verhältnis [$\mu\text{m/s}$]	0,003		0,01		0,01 (Langzeitversuch, max. 200 Tage)		0,1	
	Laufzeit [Tage]	Typ	Laufzeit [Tage]	Typ	Laufzeit [Tage]	Typ	Laufzeit [Tage]	Typ
Wollastonit	60	II	42	II	170	II/IIa	15	II
B-01-0.9	15	II/IIa	3	II	25	IIa	3	II
RCF 1	60	I/II	60	I/II	200	I	60	I
MMVF 11	60	II/IIa	25	IIa	170	IIa	15	I/II
Zetwool	60	II/IIa	60	IIa	200	IIa	60	IIa
Gloswolle C	25	IIa	15	IIa	140	IIa	7	IIa
HT 7	60	I/II	60	I/II	200	II	60	I/II

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
 Tabellen A 22 bis A 32

Tabelle A 28:
 Erscheinungsform der korrodierten Faserproben bei pH 4,5 nach Typen
 gemäß der Einteilung in Abschnitt 3.3.1.1

F/A-Verhältnis [μm/s]	0,003		0,01		0,01 (Langzeitversuch, max. 200 Tage)		0,1	
	Laufzeit [Tage]	Typ	Laufzeit [Tage]	Typ	Laufzeit [Tage]	Typ	Laufzeit [Tage]	Typ
Wollastonit	16	I ¹⁾	25	I ¹⁾	141	IIa	7	I ¹⁾
B-01-0.9	64	II	39	II	200	I/II	60	II
RCF I	64	I	60	I	200	I	60	I
MMVF 11	64	I	60	I	200	I	15	I
Zetwool	3	IIa	1	I ²⁾	91	IIa ³⁾	1	I ²⁾
Glaswolle C	64	II	39	II/IIa	200	II	39	II
HT 7	7	I/II	3	I/II	200	IIa	1	II/IIa

1) starke Fragmentierung, aber gegenüber Ausgangsmaterial kaum verändert

2) neben sehr wenig Fasern viele Partikeln

3) praktisch keine Fasern mehr vorhanden

Tabelle A 29:

Verwendete Meßdaten zur Korrelation der In-vitro- und In-vivo(i.tr. Inst.)-Ergebnisse gemäß Abschnitt 3.3.2.1 (Erläuterung siehe dort)

Probe	pH	$v_{0,003}$ [nm/Tag]	$v_{0,01}$ [nm/Tag]	$v_{0,1}$ [nm/Tag]	k_{pH}	$v_{0,003}^0$ [nm/Tag]	$v_{0,1}^0$ [nm/Tag]	KI	$T_{1/2}$ [Tage]	$d_{50,A}$ [μm]	v' [nm/Tag]
Wollastonit	7,5	4,50	15,4	35,5	0,89	5,41	40,3	47,1	17	0,57	16,8
	4,5	12,8	22,7	77,8	0,11						
Glaswolle C	7,5	12,9	28,1	75,6	0,89	12,0	68,3	32,6	30	0,52	8,67
	4,5	5,1	7,58	9,33	0,11						
B-01-09	7,5	14,4	61,4	97,6	0,89	13,1	87,3	36,4	33	0,7	10,6
	4,5	2,71	4,57	3,66	0,11						
Glaswolle CS*	7,5	12,9	28,1	75,6	0,89	12,0	68,3	32,6	38	0,97	12,8
	4,5	5,10	7,58	9,33	0,11						
Hi 7	7,5	0,740	2,44	4,52	0,89	10,9	76,5	- 16,3	63	1,08	8,57
	4,5	92,9	272	659	0,11						
Zetwool	7,5	0,095	1,03	1,75	0,89	20,9	128,1	- 68,5	68	0,56	4,12
	4,5	189	439	1 150	0,11						
MMVF 11	7,5	6,48	14,3	23,9	0,89	5,79	21,3	23,8	217	0,86	1,98
	4,5	0,159	0,185	0,239	0,11						
RCF 1	7,5	0,503	0,847	1,80	0,89	0,790	2,02	- 95,2	341	0,94	1,38
	4,5	3,11	3,61	3,78	0,11						

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
 Tabellen A 22 bis A 32

Tabelle A 30:

Ergebnisse der linearen Regression von simulierten und in vivo gemessenen Faserzahlabnahmen. Die Simulation wurde kumulativ durchgeführt, d.h., die Fasern wurden zu Beginn in zwei Teilensembles aufgespalten. Im ersten Ensemble wurde mit der radialen Auflösungsgeschwindigkeit, die bei pH 7,5 in vitro gemessen wurde, gerechnet. Beim zweiten Ensemble wurde die bei pH 4,5 gemessene Geschwindigkeit verwendet. Die Gewichtung der beiden Ensembles betrug 89/11, d.h., bei 89 % der Fasern wurde die Auflösungsgeschwindigkeit, die bei pH 7,5 gemessen wurde, benutzt.

Faser	F/A-Verhältnis	Steigung der Regressionsgeraden	r ²
Wollastonit	0,003	0,23	0,34
	0,01	0,89	0,77
	0,1	1,33	0,99
B-01-0.9	0,003	1,02	0,99
	0,01	1,04	0,99
	0,1	1,04	0,99
RCF 1	0,003	0,27	0,90
	0,01	0,50	0,89
	0,1	1,36	0,94
MMVF 11	0,003	1,20	0,98
	0,01	1,30	0,95
	0,1	1,33	0,93
Zetwool	0,003	0,24	0,75
	0,01	0,18	0,44
	0,1	0,17	0,43
Glaswolle C	0,003	1,14	0,91
	0,01	1,18	0,75
	0,1	1,19	0,69
HT 7	0,003	0,04	0,14
	0,01	0,03	0,06
	0,1	0,24	0,61

Tabelle A 31:

Ergebnisse der linearen Regression von simulierten und in vivo gemessenen Faserzahlabnahmen bei einem F/A-Verhältnis von 0,003. Die Simulation wurde intervallweise durchgeführt, d.h., die Fasern wurden in jedem Intervall in zwei Teilensembles aufgespalten. Im ersten Ensemble wurde mit der radialen Auflösungsgeschwindigkeit, die bei pH 7,5 in vitro gemessen wurde, gerechnet. Beim zweiten Ensemble wurde die bei pH 4,5 gemessene Geschwindigkeit verwendet. Die Gewichtung der beiden Ensembles betrug 89/11, d.h., bei 89 % der Fasern wurde die Auflösungsgeschwindigkeit, die bei pH 7,5 gemessen wurde, benutzt. Die Intervalllänge wurde so gewählt, daß die Faserzahlabnahme in einem Intervall maximal 50 % betrug.

Faser	Steigung der Regressionsgeraden	r^2
Wollastonit	0,06	0,08
B-01-0.9	1,05	0,99
RCF 1	0,38	0,89
MMVF 11	1,30	0,99
Zetwool	1,50	0,98
Glaswolle C	1,13	0,93
HT 7	0,86	0,98

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
 Tabellen A 22 bis A 32

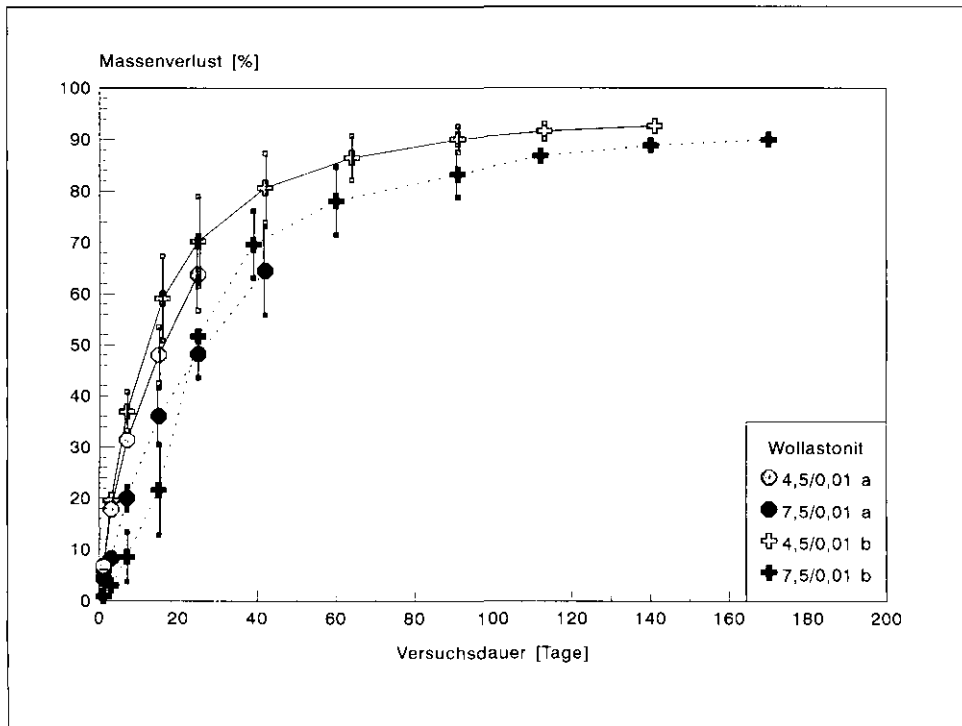
Tabelle A 32:
 Veränderung des I_{50} -Wertes im In-vivo-Versuch (i.tr. Inst.; vgl. Tabelle A 17, Seite 162)

Zeitpunkt	Wollastonit [μm]	B-01-0.9 [μm]	RCF 1 [μm]	MMVF 11 [μm]	Zetwool [μm]	Glaswolle C [μm]	HT 7 [μm]
Ausgangs- zustand	2,4	10,4	11,9	14,6	7,1	7,2	6,1
0 Tage	—	—	—	—	6,2	—	—
2 Tage	3,14	5,7	12,7	11,6	—	—	—
3 Tage	—	—	—	—	5,8	4,6	7,2
7 Tage	—	—	—	—	7,2	—	—
14 Tage	2,73	—	—	—	—	4,4	7,5
1 Monat	2,50	4,8	11,5	9,6	6,5	4,0	8,5
3 Monate	3,20	4,9	12,7	8,8	8,0	4,0	7,5
6 Monate	3,34	5,5	13,0	7,6	—	3,9	8,4
12 Monate	—	—	11,5	7,6	—	—	—
18 Monate	—	—	11,3	7,1	—	—	—

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen

Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 23:
Gemessene Massenverluste der Probe Wollastonit bei beiden pH-Werten und dem F/A-Verhältnis 0,01 $\mu\text{m/s}$ (a: max. 60 Tage; b: max. 200 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen



Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 24:
Gemessene Massenverluste der Probe B-01-0.9 bei beiden pH-Werten und
den F/A-Verhältnissen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 % Auflösung, max. 60 Tage);
die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert
von jeweils drei Meßzellen

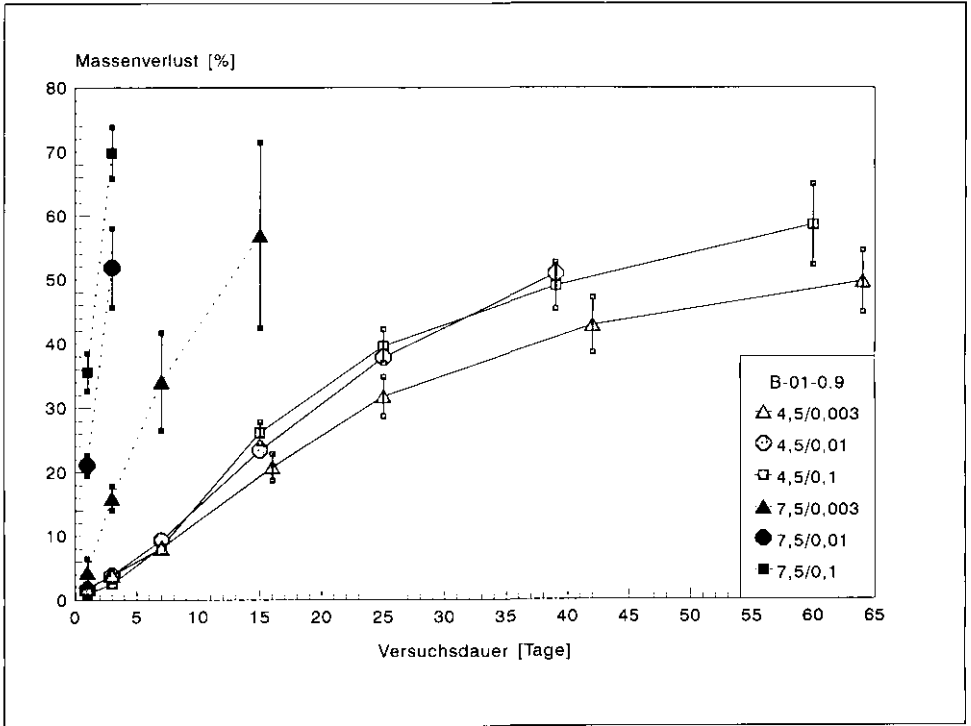
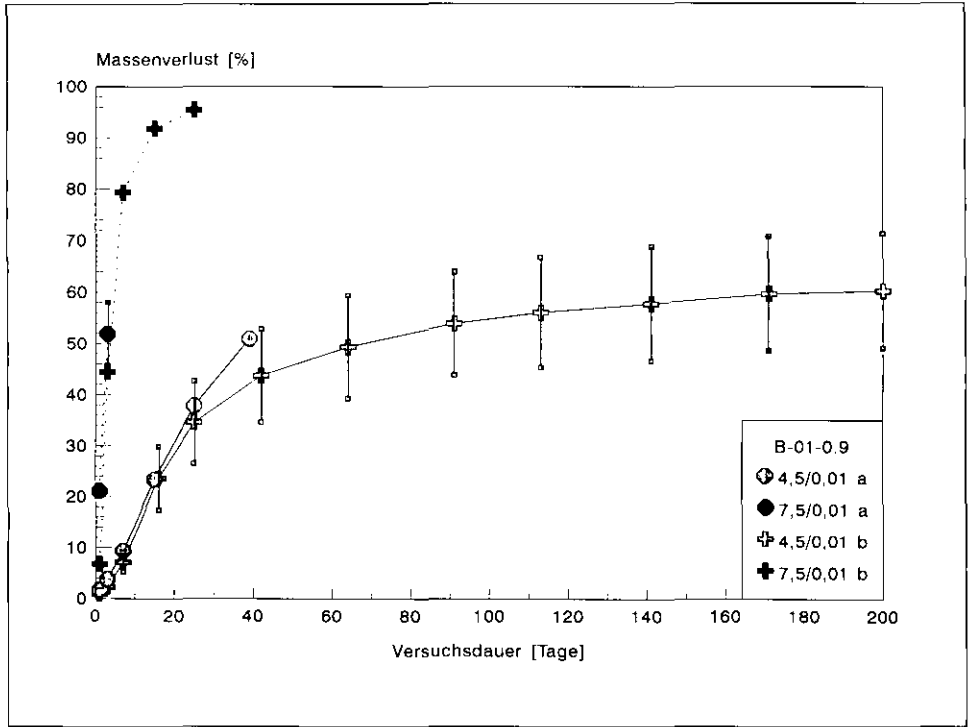


Abbildung A 25:

Gemessene Massenverluste der Probe B-01-0.9 bei beiden pH-Werten und dem F/A-Verhältnis 0,01 $\mu\text{m/s}$ (a: max. 60 Tage; b: max. 200 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen



Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 26:

Gemessene Massenverluste der Probe RCF 1 bei beiden pH-Werten und den F/A-Verhältnissen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 % Auflösung, max. 60 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen

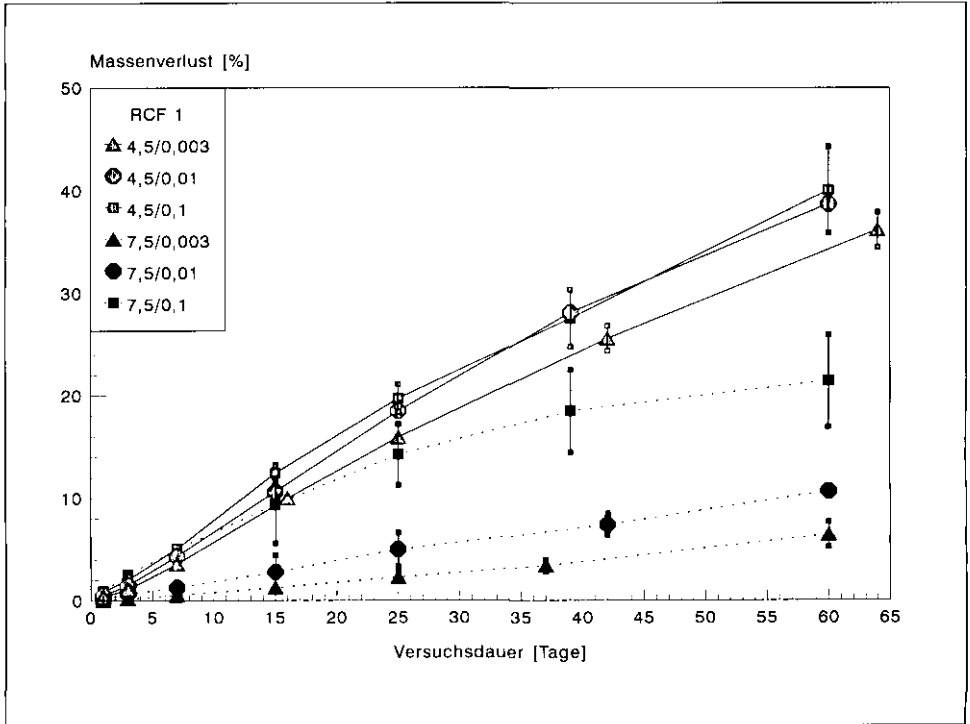
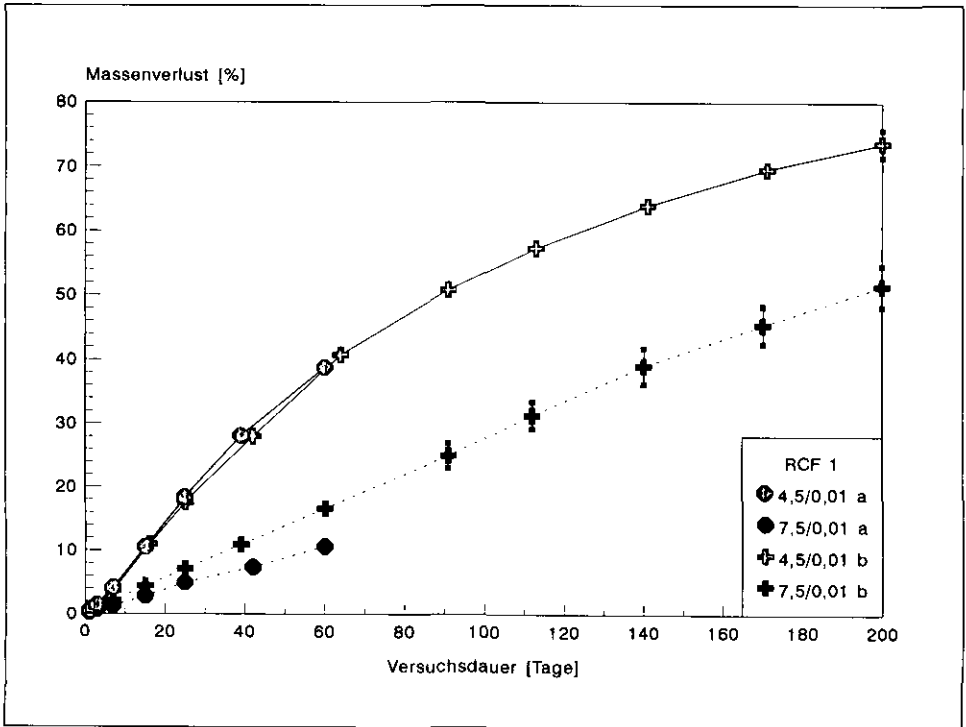


Abbildung A 27:
 Gemessene Massenverluste der Probe RCF 1 bei beiden pH-Werten und
 dem F/A-Verhältnis 0,01 $\mu\text{m/s}$ (a: max. 60 Tage; b: max. 200 Tage);
 die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert
 von jeweils drei Meßzellen



Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 28:

Gemessene Massenverluste der Probe MMVF 11 bei beiden pH-Werten und den F/A-Verhältnissen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 % Auflösung, max. 60 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen

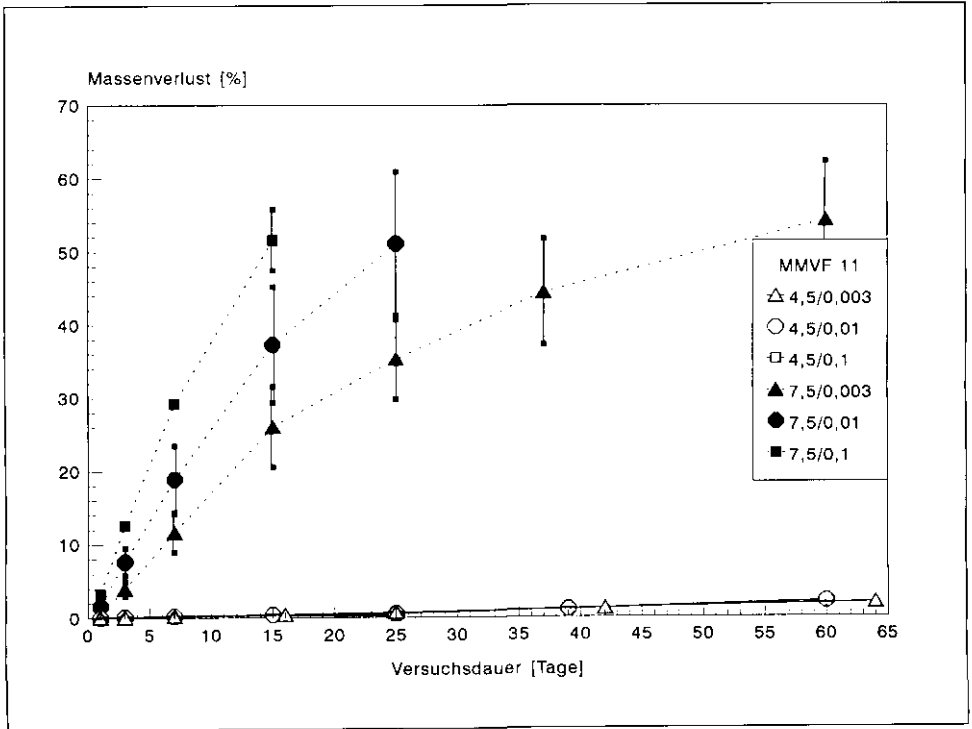
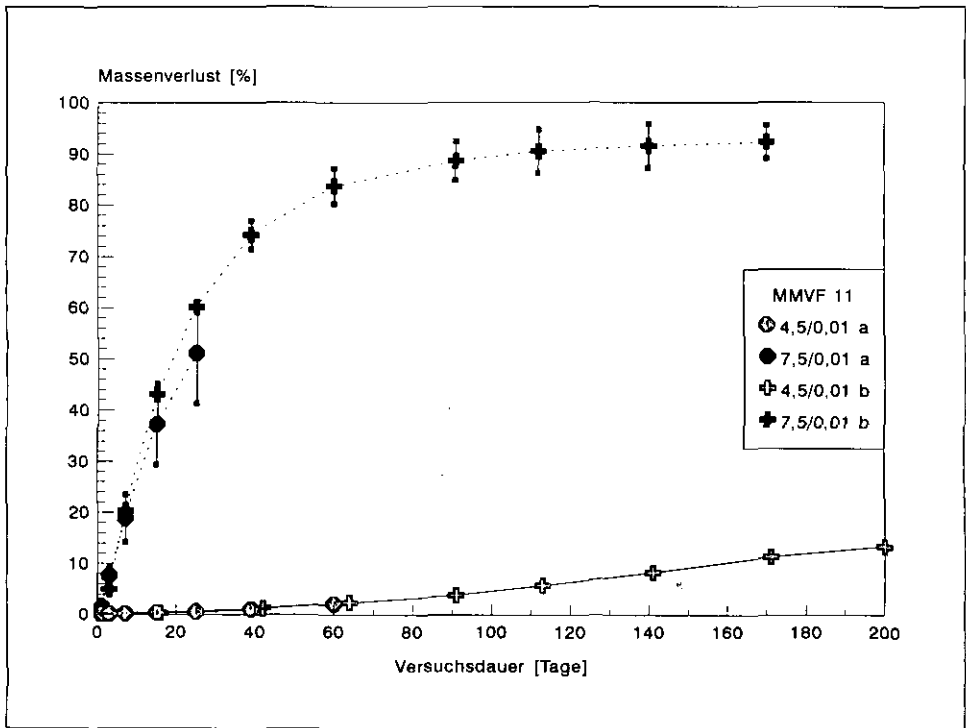


Abbildung A 29:

Gemessene Massenverluste der Probe MMVF 11 bei beiden pH-Werten und dem F/A-Verhältnis 0,01 $\mu\text{m/s}$ (a: max. 60 Tage; b: max. 200 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen



Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 30:

Gemessene Massenverluste der Probe Zetwool bei beiden pH-Werten und den F/A-Verhältnissen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 % Auflösung, max. 60 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen

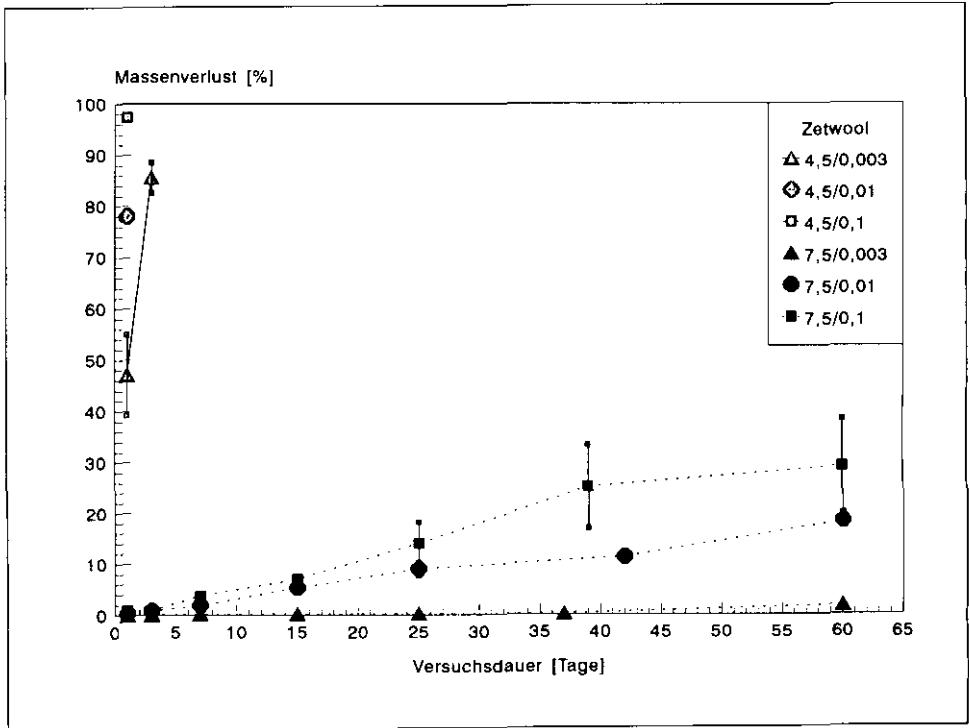


Abbildung A 31:

Gemessene Massenverluste der Probe Zetwool bei beiden pH-Werten und dem F/A-Verhältnis 0,01 $\mu\text{m/s}$ (a: max. 60 Tage; b: max. 200 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen

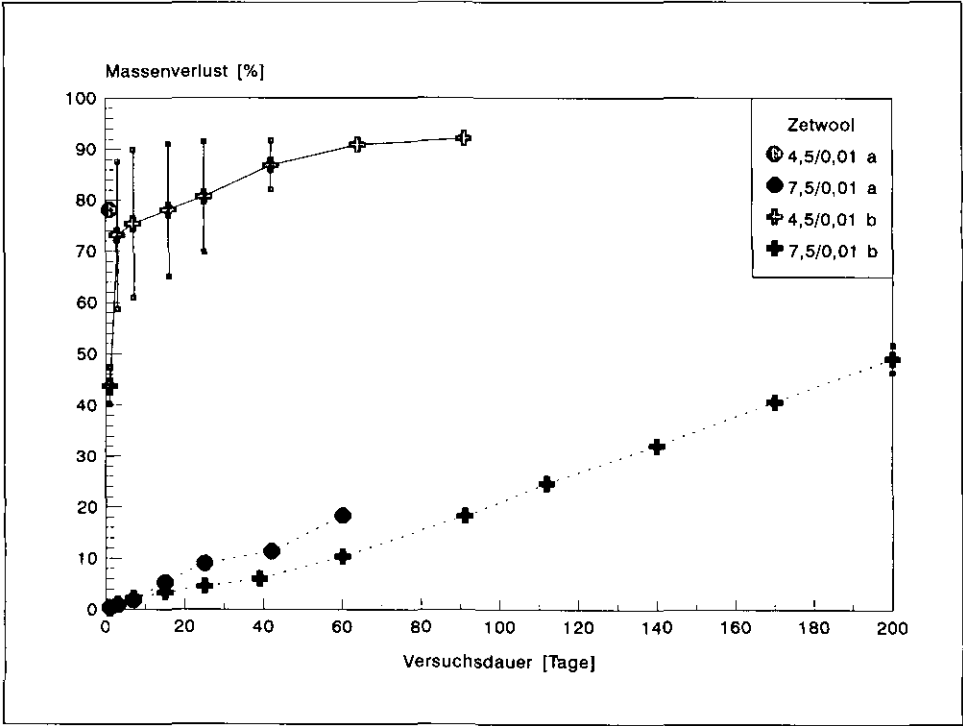


Abbildung A 32:

Gemessene Massenverluste der Probe Glasfaser C bei beiden pH-Werten und den F/A-Verhältnissen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 % Auflösung, max. 60 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen

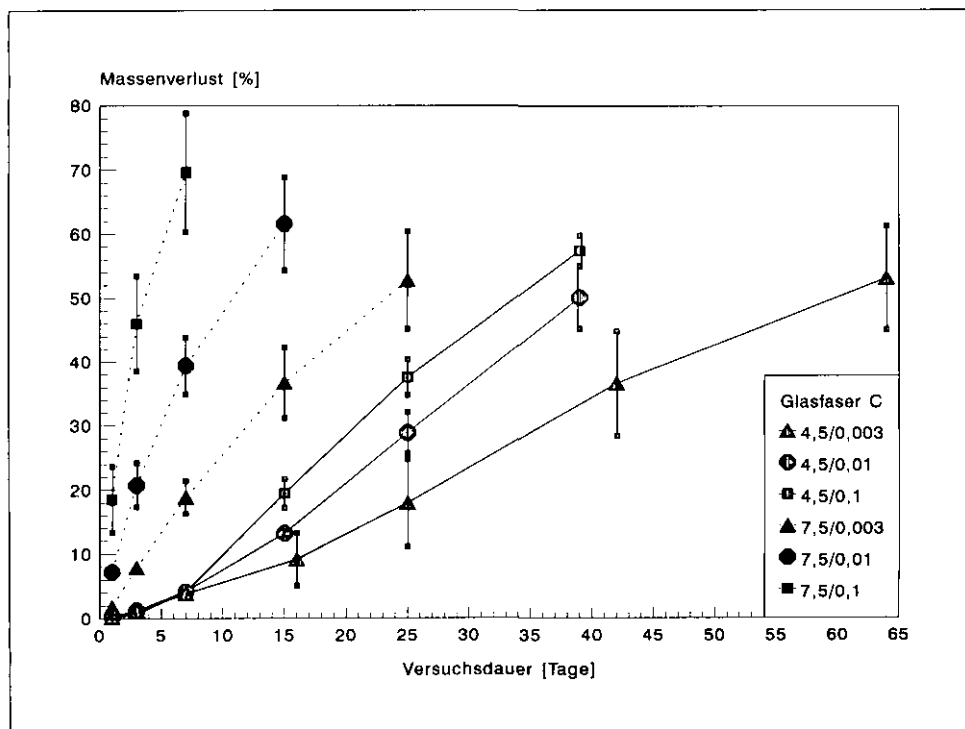
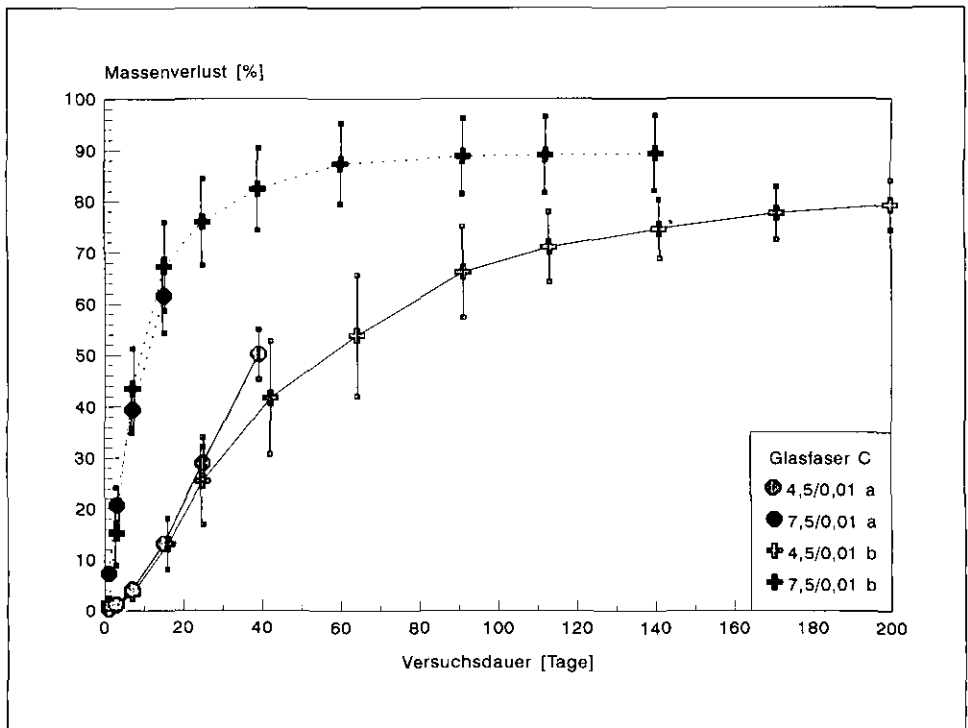


Abbildung A 33:

Gemessene Massenverluste der Probe Glaswolle C bei beiden pH-Werten und dem F/A-Verhältnis 0,01 $\mu\text{m/s}$ (a: max. 60 Tage; b: max. 200 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen



Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 34:

Gemessene Massenverluste der Probe HT 7 bei beiden pH-Werten und den F/A-Verhältnissen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 % Auflösung, max. 60 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen

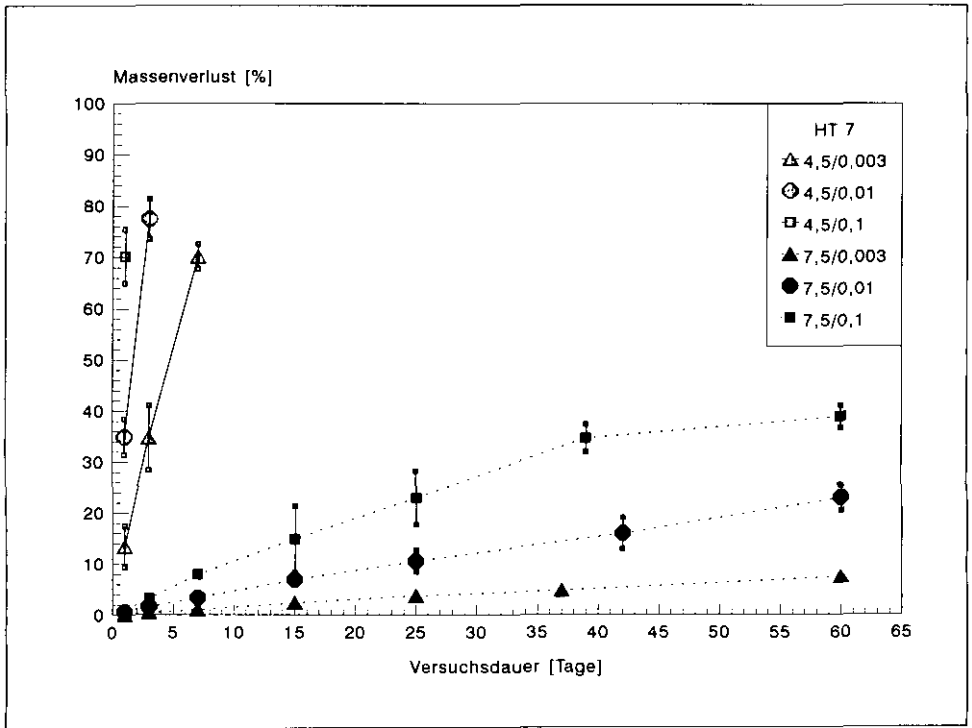
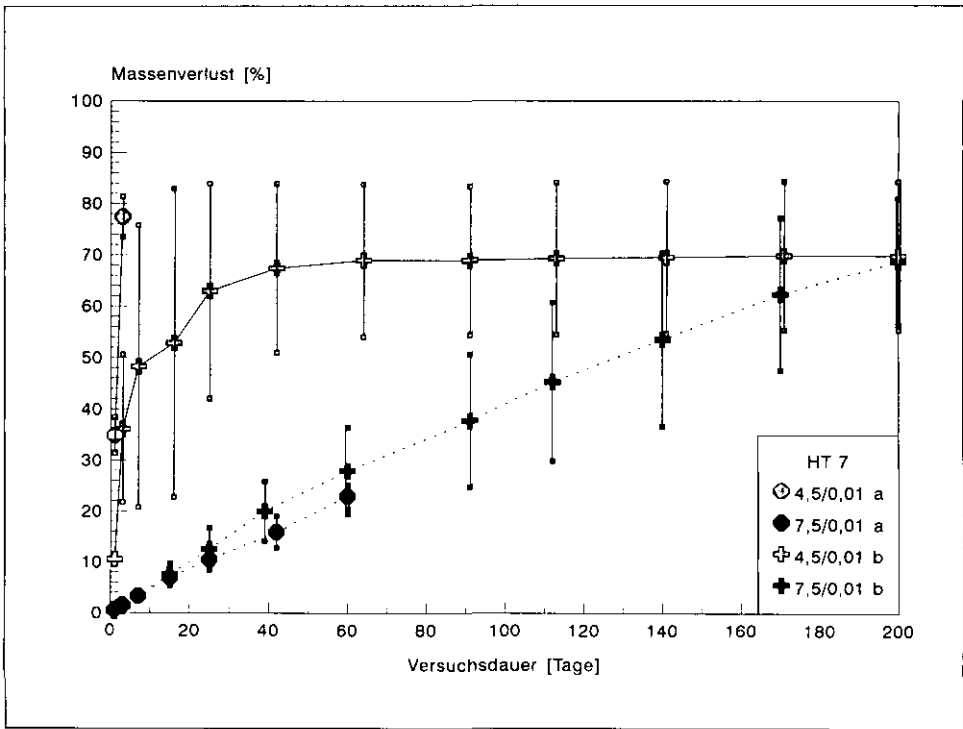


Abbildung A 35:
 Gemessene Massenverluste der Probe HT 7 bei beiden pH-Werten und
 dem F/A-Verhältnis 0,01 $\mu\text{m/s}$ (a: max. 60 Tage; b: max. 200 Tage);
 die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert
 von jeweils drei Meßzellen



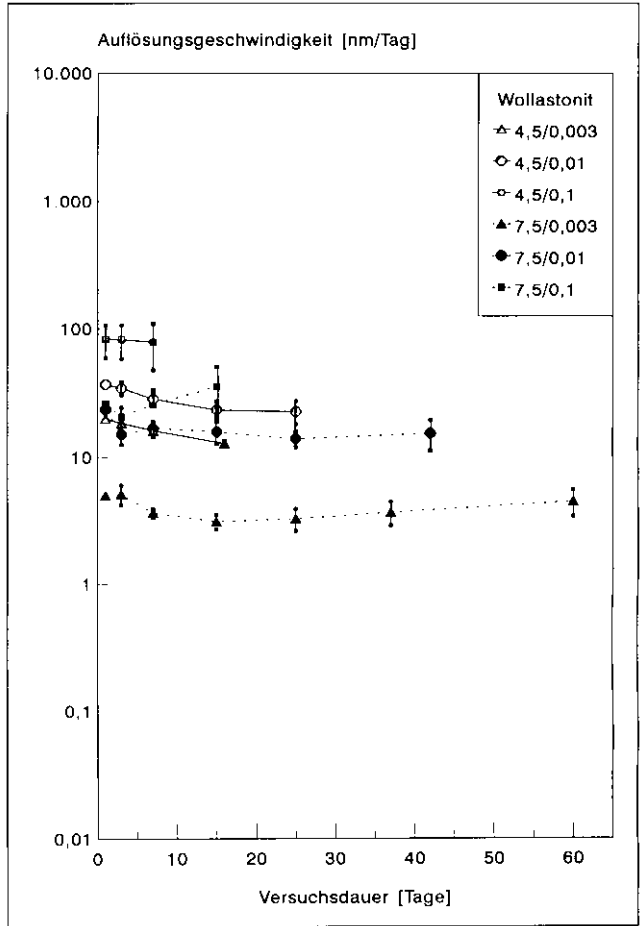


Abbildung A 36:
Gemessene Auflösungs-
geschwindigkeiten der Probe
Wollastonit bei beiden
pH-Werten und den F/A-Ver-
hältnissen 0,003, 0,01 und
0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 %
Auflösung, max. 60 Tage);
die Fehlerbalken repräsentieren
die maximale Abweichung
vom Mittelwert von jeweils
drei Meßzellen

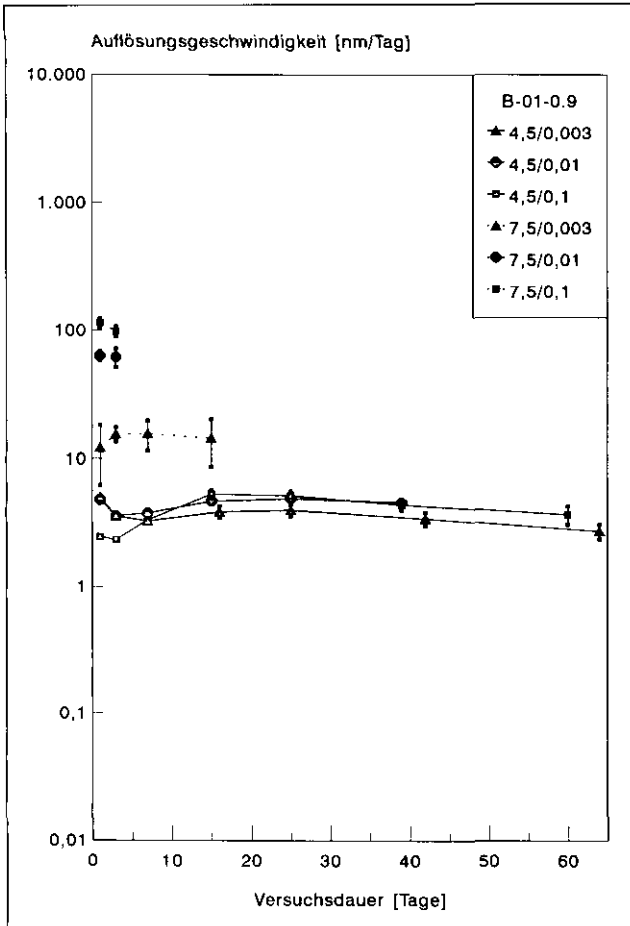


Abbildung A 37:
 Gemessene Auflösungsgeschwindigkeiten der Probe B-01-0.9 bei beiden pH-Werten und den F/A-Verhältnissen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 % Auflösung, max. 60 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen

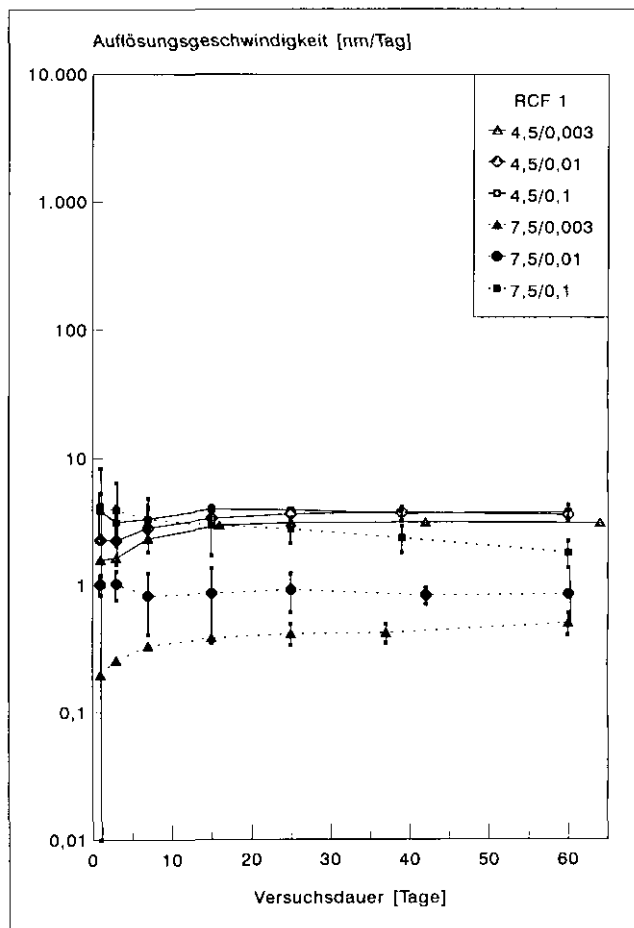


Abbildung A 38:
Gemessene Auflösungs-
geschwindigkeiten der Probe
RCF 1 bei beiden pH-Werten
und den F/A-Verhältnissen
0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$
(Versuche bis 50 % Auflösung,
max. 60 Tage);
die Fehlerbalken repräsentieren
die maximale Abweichung
vom Mittelwert von jeweils
drei Meßzellen

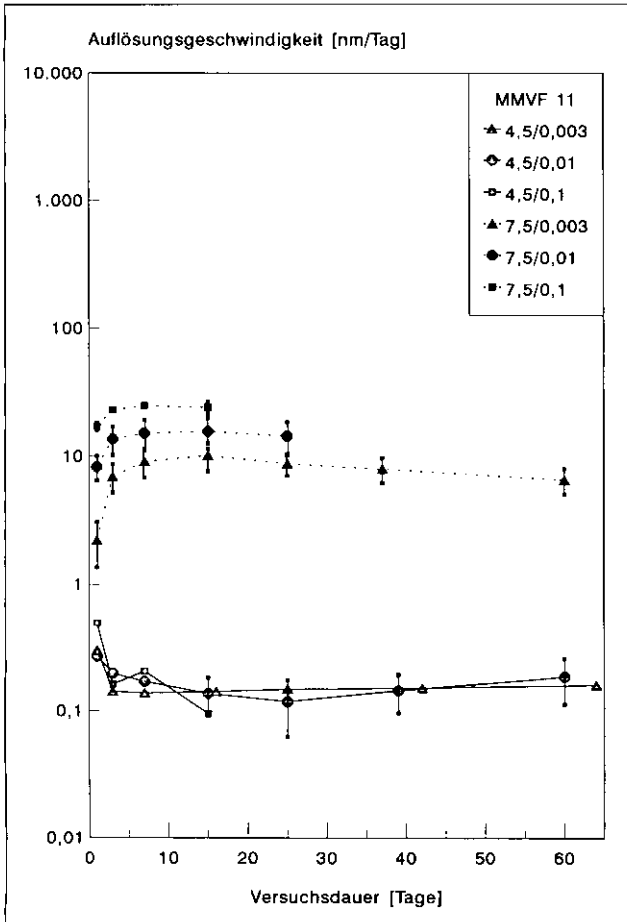


Abbildung A 39:
 Gemessene Auflösungsgeschwindigkeiten der Probe MMVF 11 bei beiden pH-Werten und den F/A-Verhältnissen 0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 % Auflösung, max. 60 Tage); die Fehlerbalken repräsentieren die maximale Abweichung vom Mittelwert von jeweils drei Meßzellen

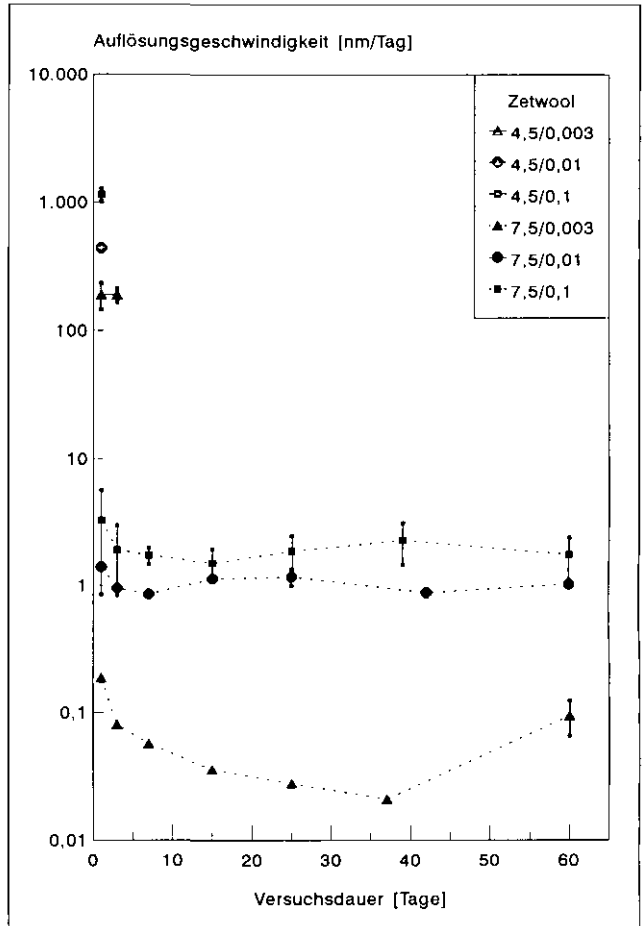


Abbildung A 40:
Gemessene Auflösungs-
geschwindigkeiten der Probe
Zetwool bei beiden
pH-Werten und den F/A-Ver-
hältnissen 0,003, 0,01 und
0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 %
Auflösung, max. 60 Tage);
die Fehlerbalken repräsentieren
die maximale Abweichung
vom Mittelwert von jeweils
drei Meßzellen

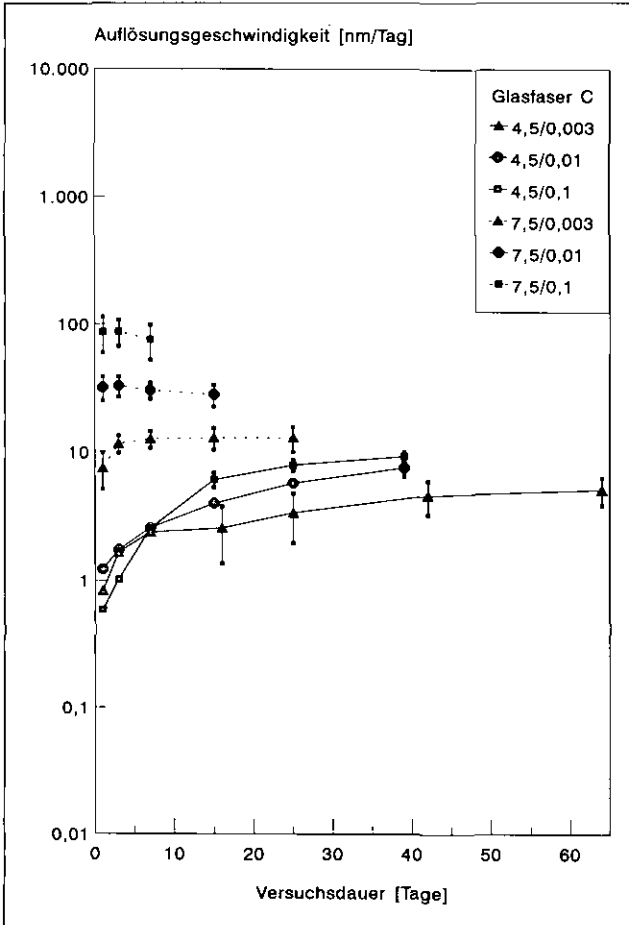


Abbildung A 41:
 Gemessene Auflösungs-
 geschwindigkeiten der Probe
 Glaswolle C bei beiden
 pH-Werten und den F/A-Ver-
 hältnissen 0,003, 0,01 und
 0,1 $\mu\text{m/s}$ (Versuche bis 50 %
 Auflösung, max. 60 Tage);
 die Fehlerbalken repräsentieren
 die maximale Abweichung
 vom Mittelwert von jeweils
 drei Meßzellen

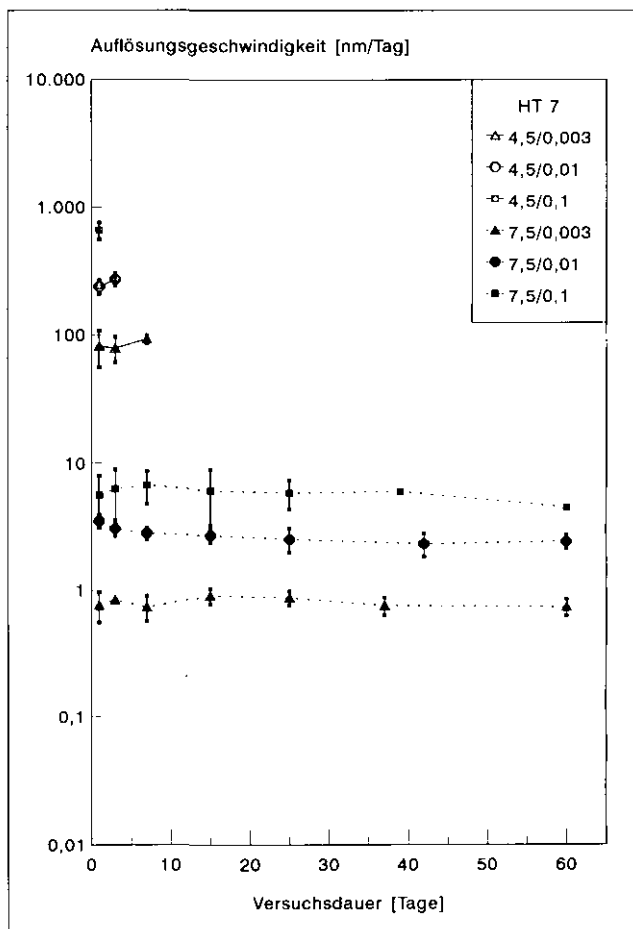


Abbildung A 42:
Gemessene Auflösungs-
geschwindigkeiten der Probe
HT 7 bei beiden pH-Werten
und den F/A-Verhältnissen
0,003, 0,01 und 0,1 $\mu\text{m/s}$
(Versuche bis 50 % Auflösung,
max. 60 Tage);
die Fehlerbalken repräsentieren
die maximale Abweichung
vom Mittelwert von jeweils
drei Meßzellen

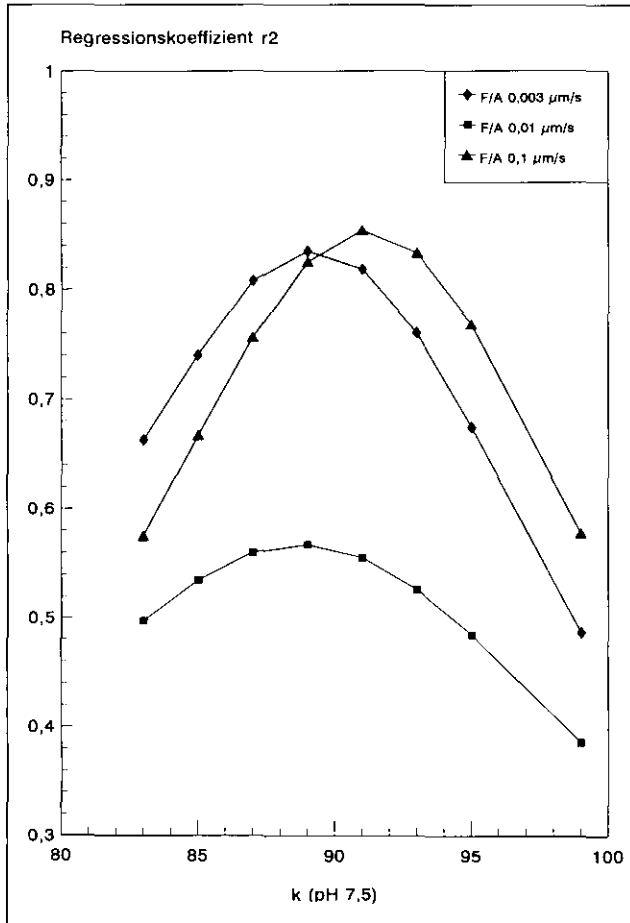


Abbildung A 43:
 Regressionskoeffizient r^2 als
 Funktion des Gewichtungsfaktors $k_{(\text{pH } 7,5)}$; in die Rechnung wurden die Fasern C, B-01-0.9, MMVF 11, HT 7, RCF 1 und CS* einbezogen

Abbildung A 44:
Veränderung der Faserzahl bei der Probe Wollastonit, gemessen im In-vivo-Versuch und
mit den Auflösungsgeschwindigkeiten aus dem In-vitro-Versuch simuliert

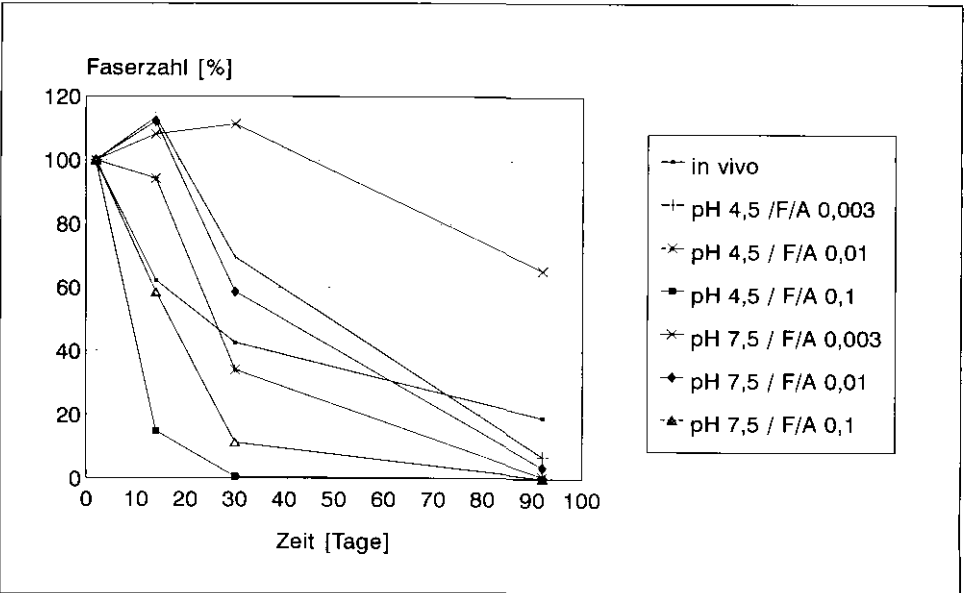


Abbildung A 45:

Veränderung der Faserzahl bei der Probe B-01-0.9, gemessen im In-vivo-Versuch und mit den Auflösungsgeschwindigkeiten aus dem In-vitro-Versuch simuliert

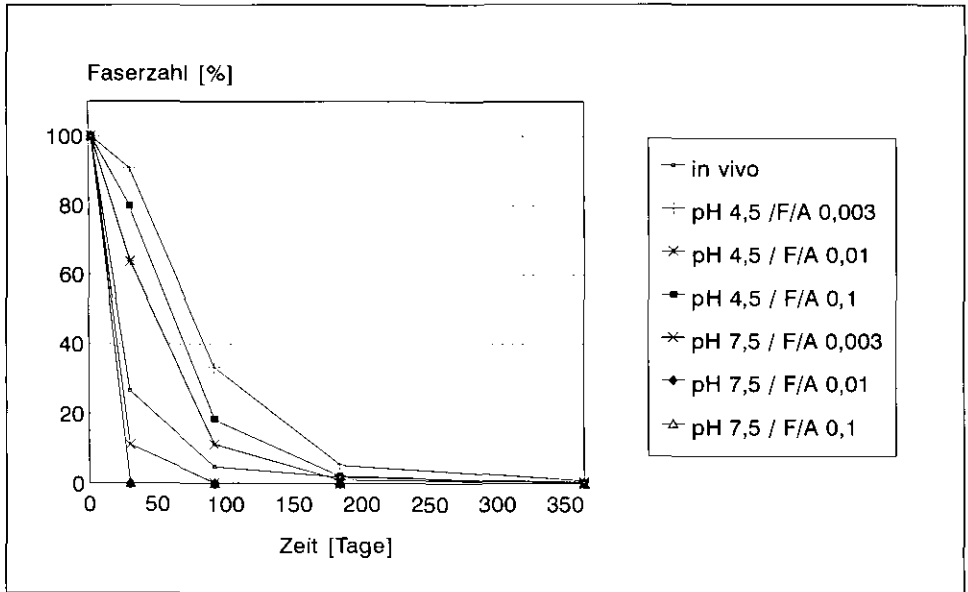


Abbildung A 46:
Veränderung der Faserzahl bei der Probe RCF 1, gemessen im In-vivo-Versuch und
mit den Auflösungsgeschwindigkeiten aus dem In-vitro-Versuch simuliert

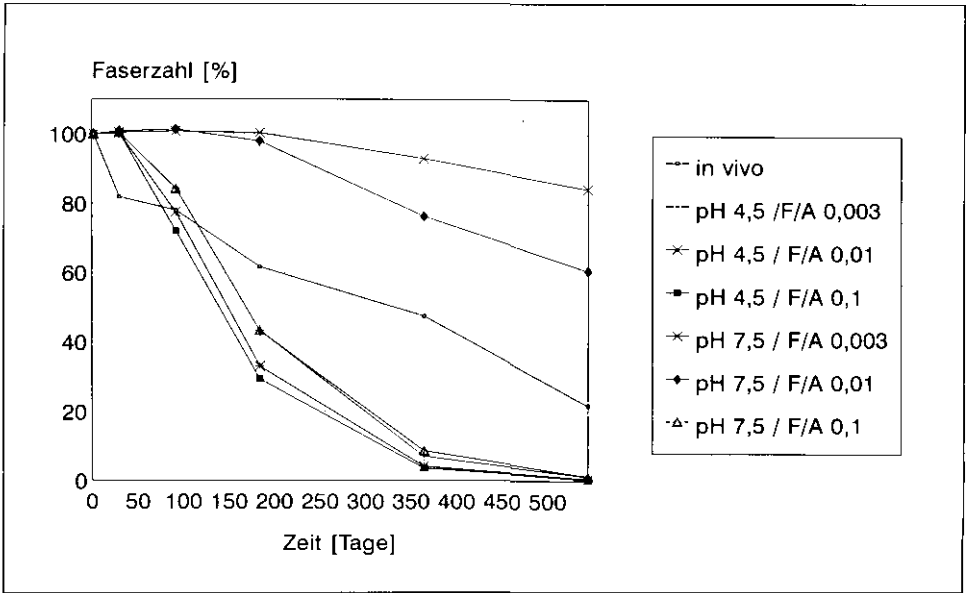
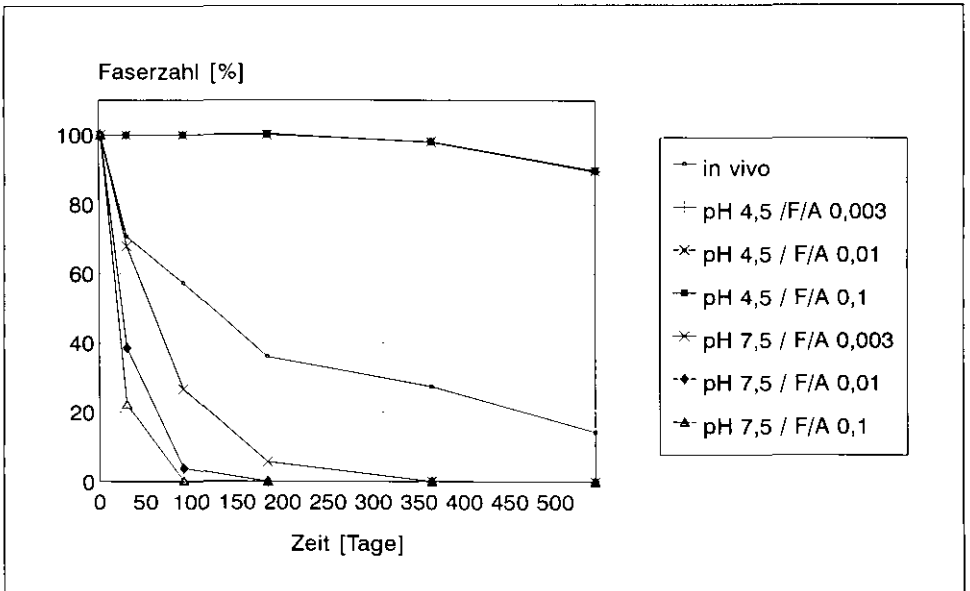


Abbildung A 47:

Veränderung der Faserzahl bei der Probe MMVF 11, gemessen im In-vivo-Versuch und mit den Auflösungsgeschwindigkeiten aus dem In-vitro-Versuch simuliert



Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 48:

Veränderung der Faserzahl bei der Probe Zetwool, gemessen im In-vivo-Versuch und mit den Auflösungsgeschwindigkeiten aus dem In-vitro-Versuch simuliert

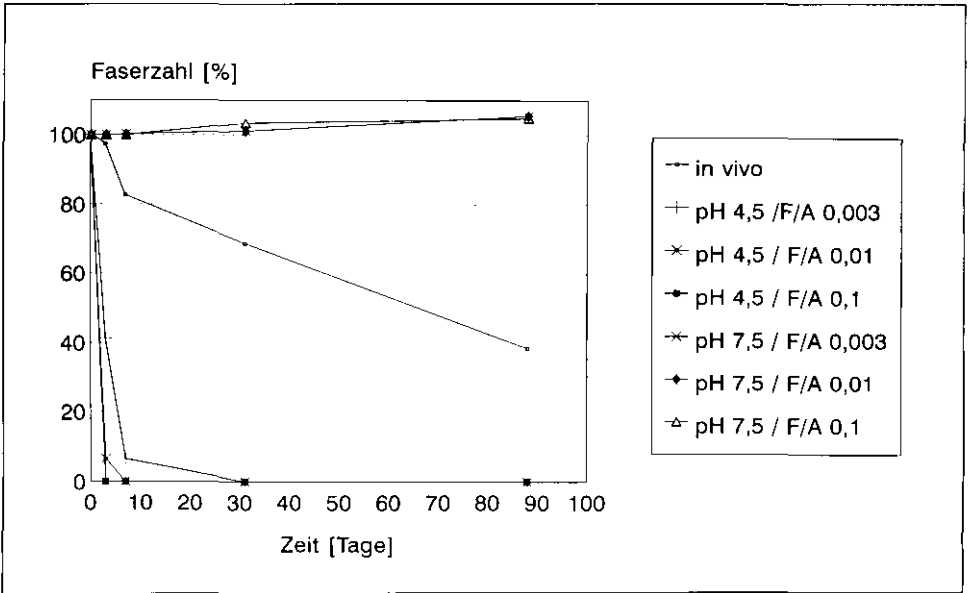
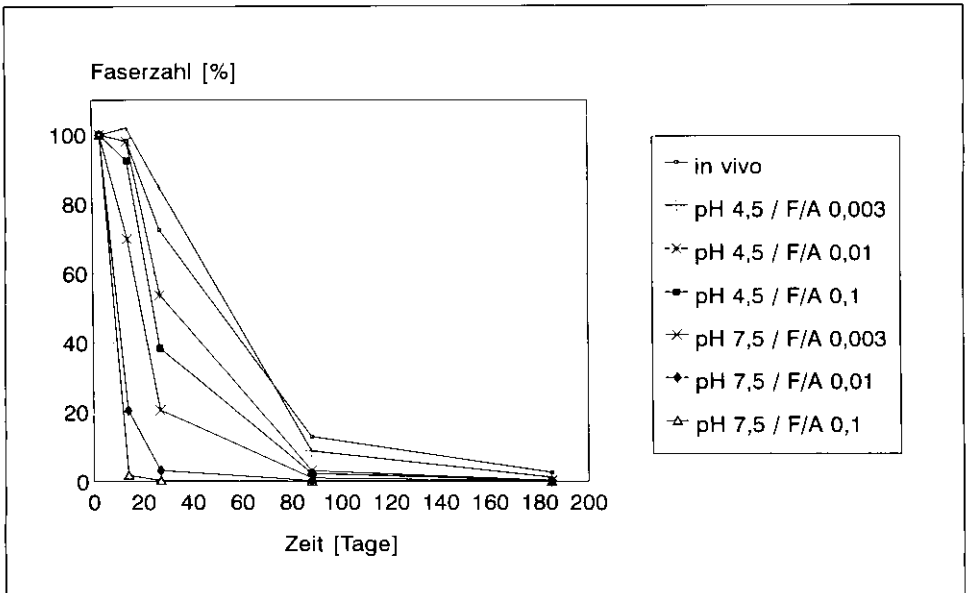


Abbildung A 49:
 Veränderung der Faserzahl bei der Probe Glaswolle C, gemessen im In-vivo-Versuch und
 mit den Auflösungsgeschwindigkeiten aus dem In-vitro-Versuch simuliert



Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 50:
Veränderung der Faserzahl bei der Probe HT 7, gemessen im In-vivo-Versuch und
mit den Auflösungsgeschwindigkeiten aus dem In-vitro-Versuch simuliert

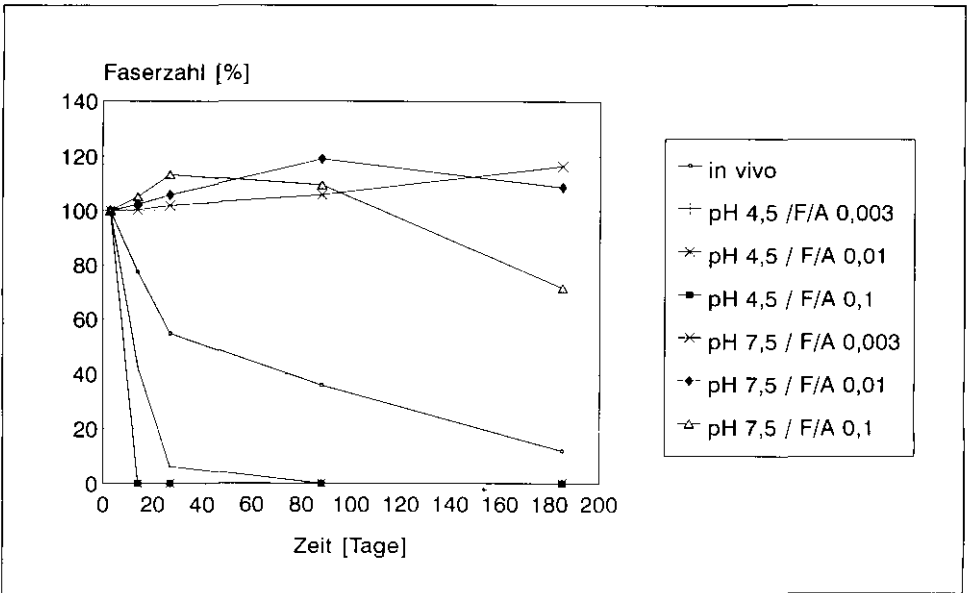
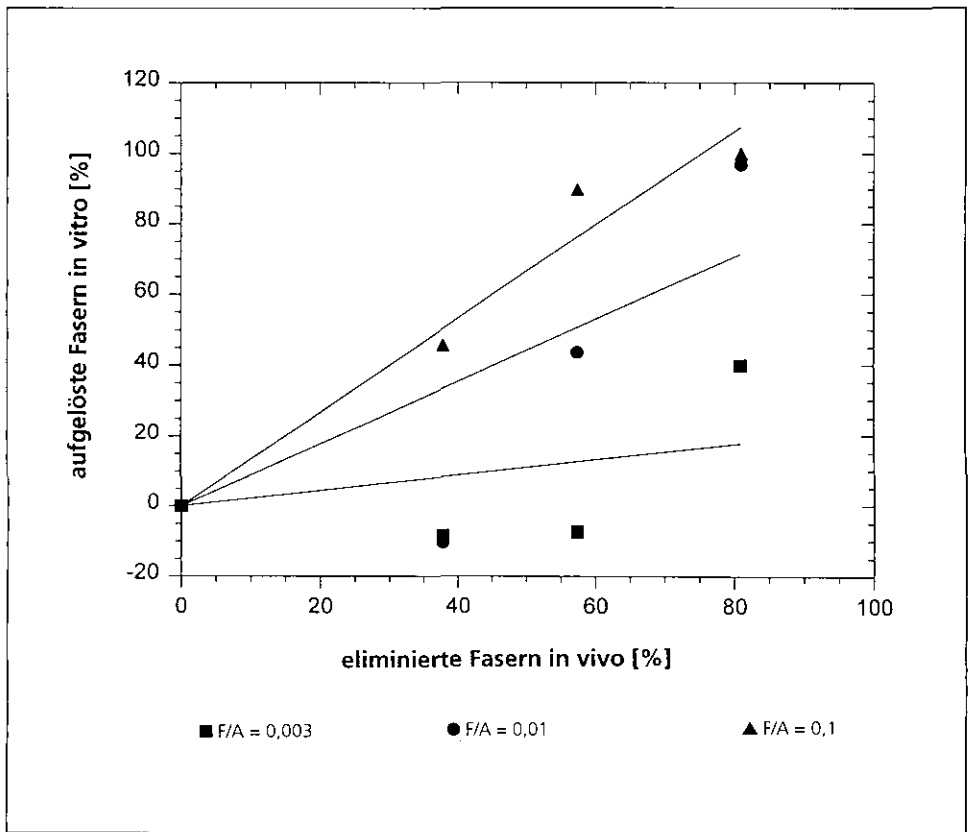


Abbildung A 51:

Probe Wollastonit: Anzahl der bereits aufgelösten Fasern, simuliert mit den In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeiten, gegen Anzahl der bereits aus der Lunge eliminierten Fasern, gemessen im In-vivo-Versuch; bei der Simulation wurden die Auflösungsgeschwindigkeiten bei pH 4,5 und pH 7,5 mit 0,11 bzw. 0,89 gewichtet; für jedes F/A-Verhältnis ist die Ausgleichsgerade der linearen Regression eingezeichnet



Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 52:
Probe B-01-0.9: Anzahl der bereits aufgelösten Fasern, simuliert mit den In-vitro-Auflösungs-
geschwindigkeiten, gegen Anzahl der bereits aus der Lunge eliminierten Fasern, gemessen
im In-vivo-Versuch; bei der Simulation wurden die Auflösungs-geschwindigkeiten bei pH 4,5
und pH 7,5 mit 0,11 bzw. 0,89 gewichtet; für jedes F/A-Verhältnis ist die Ausgleichsgerade
der linearen Regression eingezeichnet

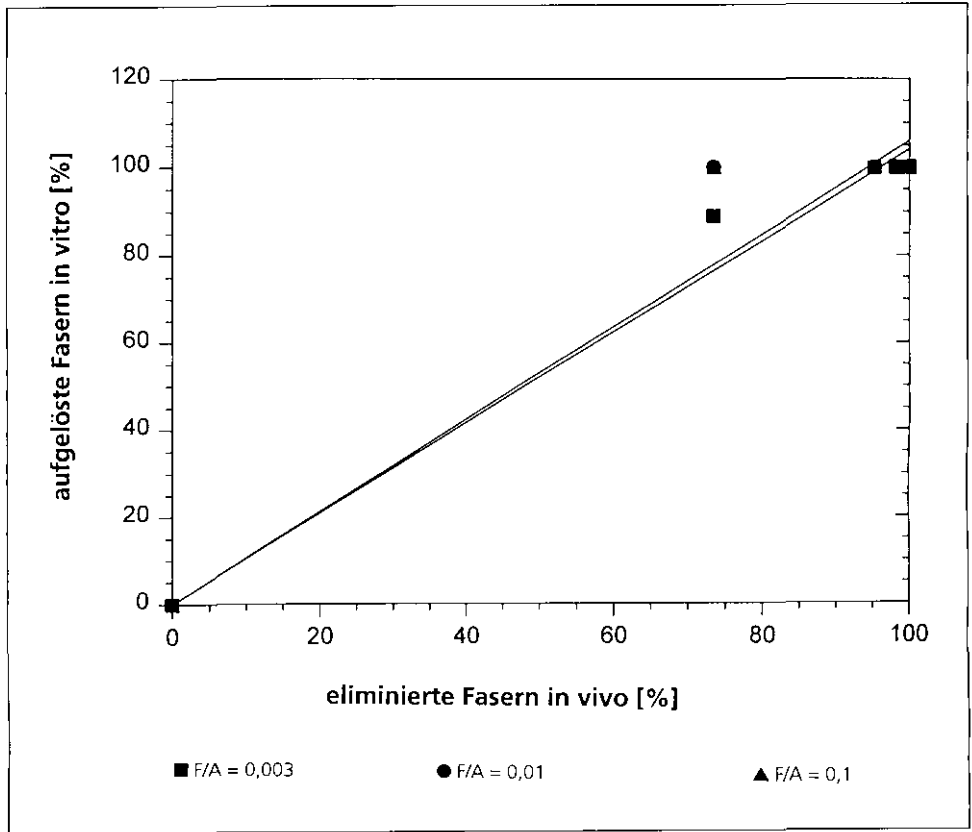


Abbildung A 53:

Probe RCF 1: Anzahl der bereits aufgelösten Fasern, simuliert mit den In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeiten, gegen Anzahl der bereits aus der Lunge eliminierten Fasern, gemessen im In-vivo-Versuch; bei der Simulation wurden die Auflösungsgeschwindigkeiten bei pH 4,5 und pH 7,5 mit 0,11 bzw. 0,89 gewichtet; für jedes F/A-Verhältnis ist die Ausgleichsgerade der linearen Regression eingezeichnet

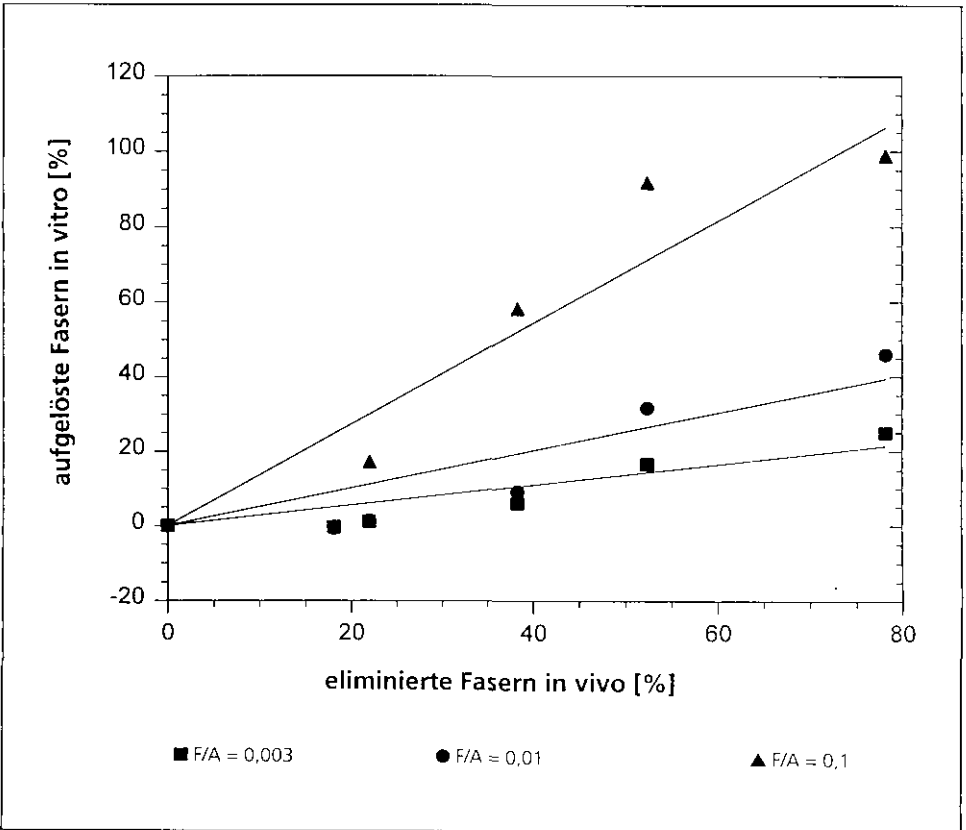


Abbildung A 54:
Probe MMVF 11: Anzahl der bereits aufgelösten Fasern, simuliert mit den In-vitro-Auflösungs-
geschwindigkeiten, gegen Anzahl der bereits aus der Lunge eliminierten Fasern, gemessen
im In-vivo-Versuch; bei der Simulation wurden die Auflösungsgeschwindigkeiten bei pH 4,5
und pH 7,5 mit 0,11 bzw. 0,89 gewichtet; für jedes F/A-Verhältnis ist die Ausgleichsgerade
der linearen Regression eingezeichnet

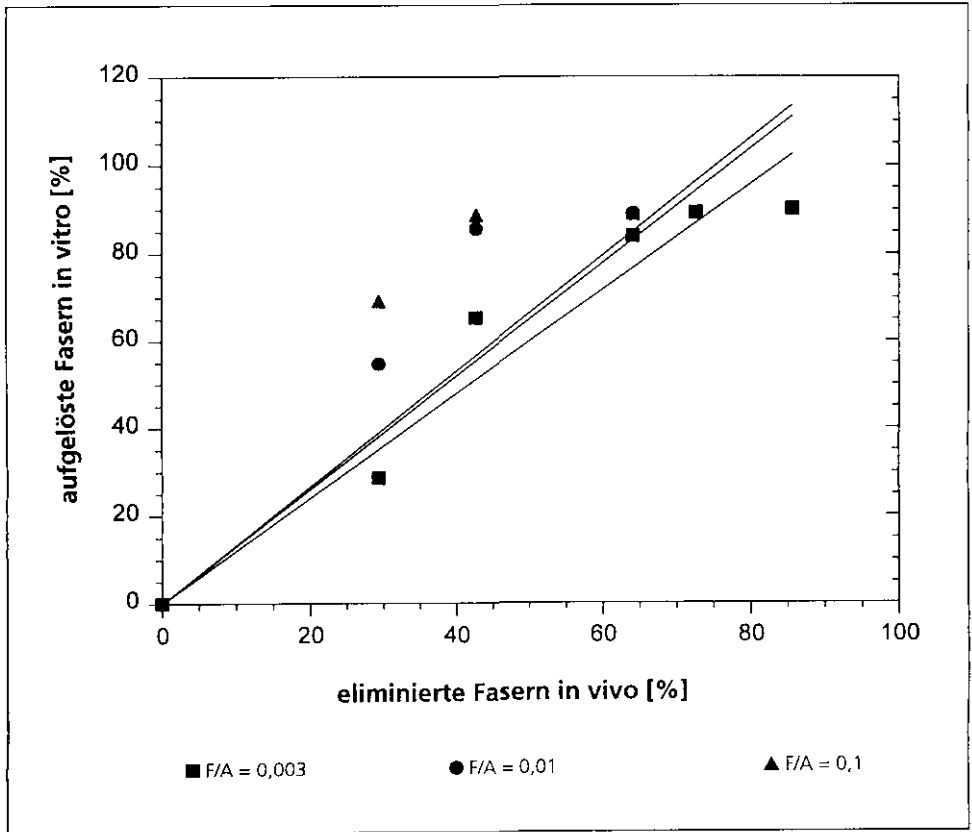
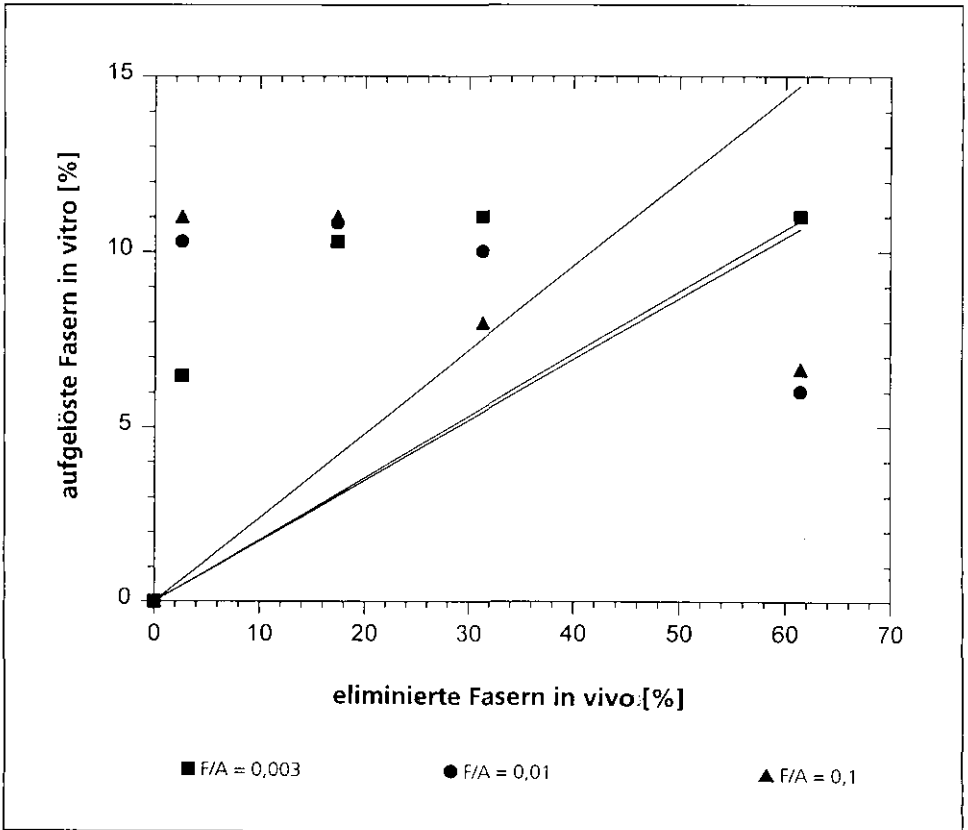


Abbildung A 55:

Probe Zetwool: Anzahl der bereits aufgelösten Fasern, simuliert mit den In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeiten, gegen Anzahl der bereits aus der Lunge eliminierten Fasern, gemessen im In-vivo-Versuch; bei der Simulation wurden die Auflösungsgeschwindigkeiten bei pH 4,5 und pH 7,5 mit 0,11 bzw. 0,89 gewichtet; für jedes F/A-Verhältnis ist die Ausgleichsgerade der linearen Regression eingezeichnet



Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Abbildungen A 23 bis A 57

Abbildung A 56:
Probe Glaswolle C: Anzahl der bereits aufgelösten Fasern, simuliert mit den In-vitro-Auflösungs-
geschwindigkeiten, gegen Anzahl der bereits aus der Lunge eliminierten Fasern, gemessen
im In-vivo-Versuch; bei der Simulation wurden die Auflösungsgeschwindigkeiten bei pH 4,5
und pH 7,5 mit 0,11 bzw. 0,89 gewichtet; für jedes F/A-Verhältnis ist die Ausgleichsgerade
der linearen Regression eingezeichnet

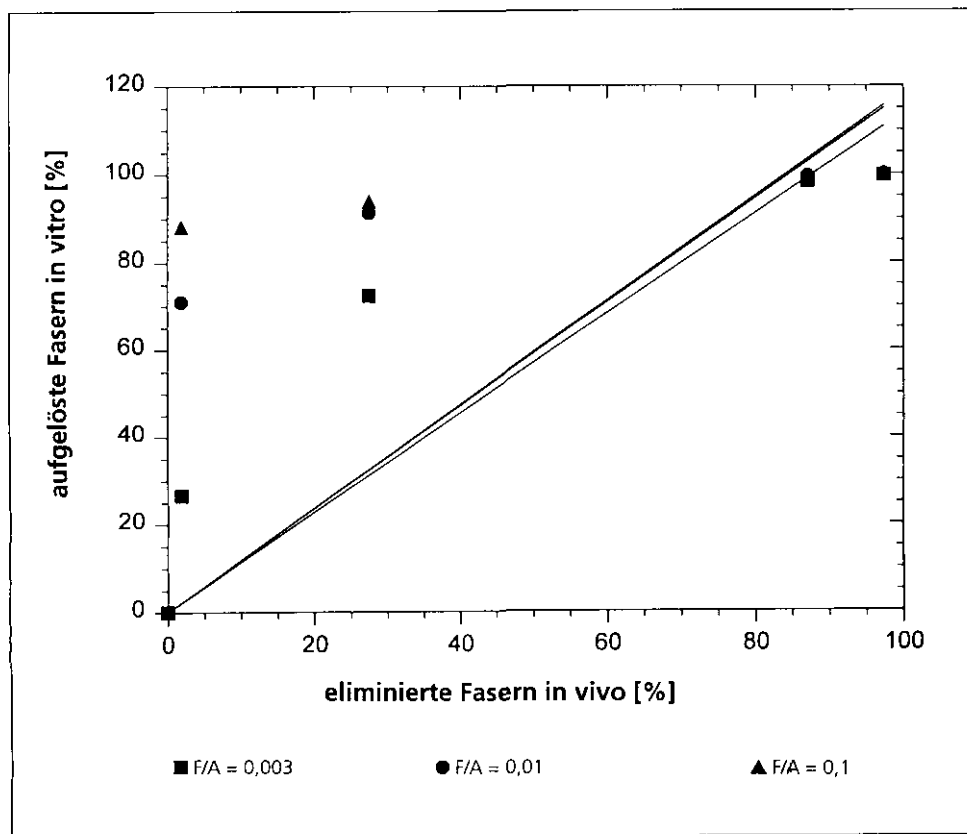
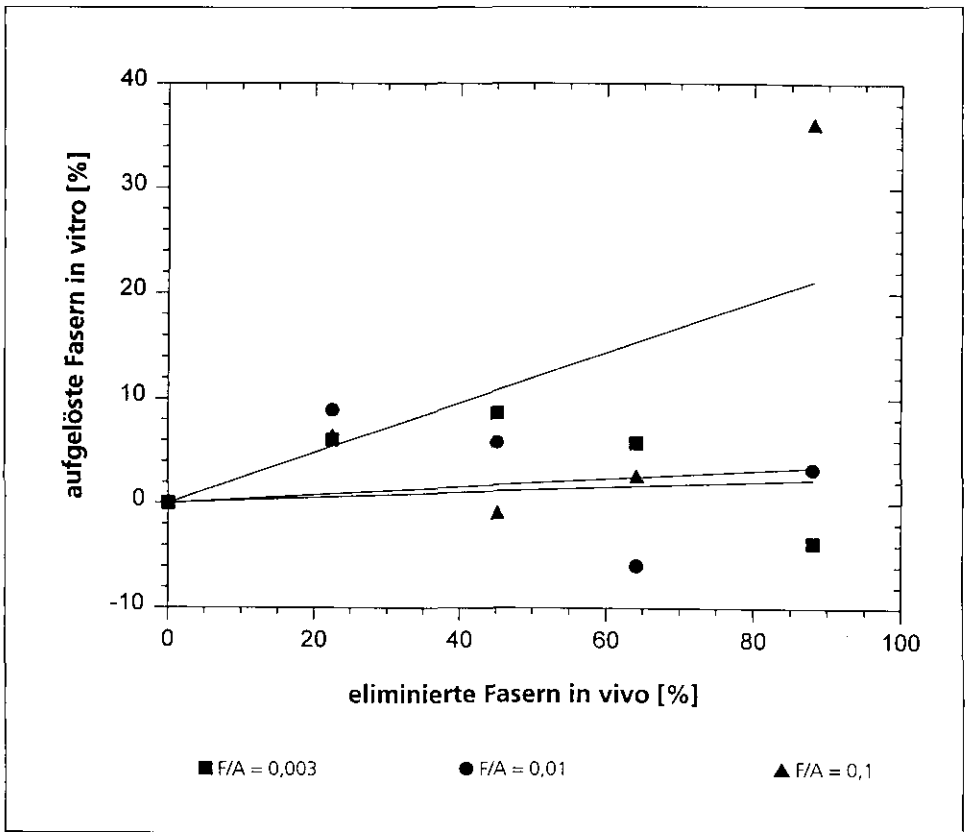


Abbildung A 57:

Probe HT 7: Anzahl der bereits aufgelösten Fasern, simuliert mit den In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeiten, gegen Anzahl der bereits aus der Lunge eliminierten Fasern, gemessen im In-vivo-Versuch; bei der Simulation wurden die Auflösungsgeschwindigkeiten bei pH 4,5 und pH 7,5 mit 0,11 bzw. 0,89 gewichtet; für jedes F/A-Verhältnis ist die Ausgleichsgerade der linearen Regression eingezeichnet

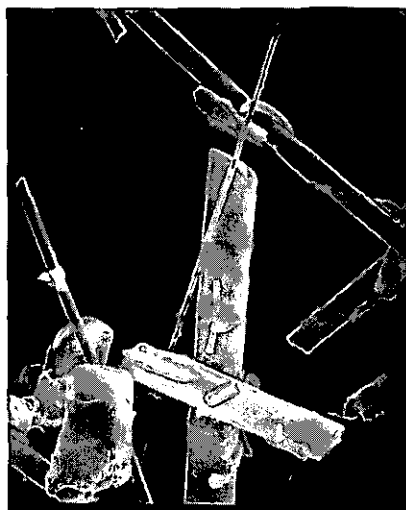


Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte und korrodierte Prüfmaterialien)



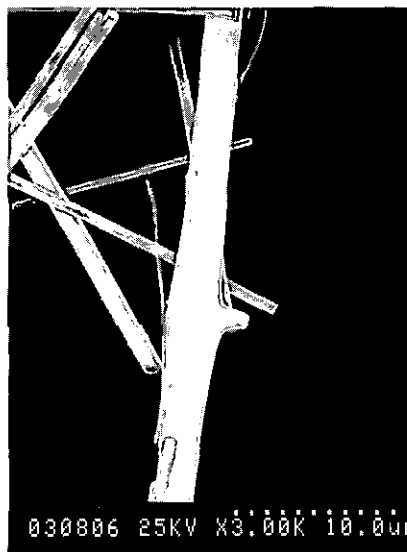
032703 25KV X3.00K 10.0um

a)



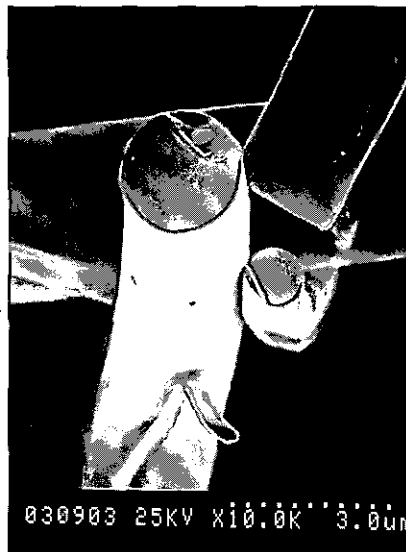
028202 25KV X3.00K 10.0um

b)



030806 25KV X3.00K 10.0um

c)

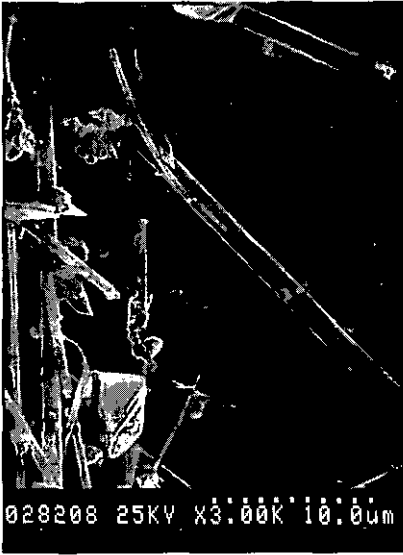


030903 25KV X10.0K 3.0um

d)

Unkorrodierte Proben: a) Wollastonit; b) RCF 1; c) B-01-0.9; d) MMVF 11

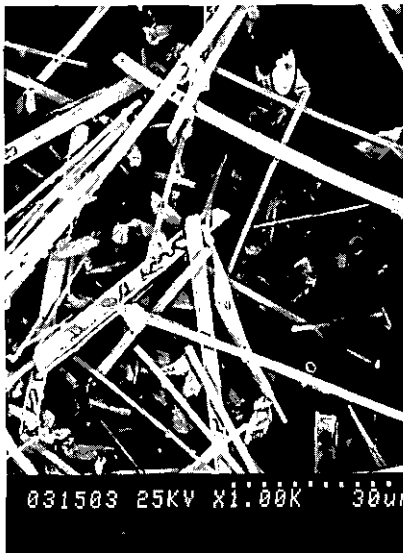
Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte und korrodierte Prüfmateriale)



e)

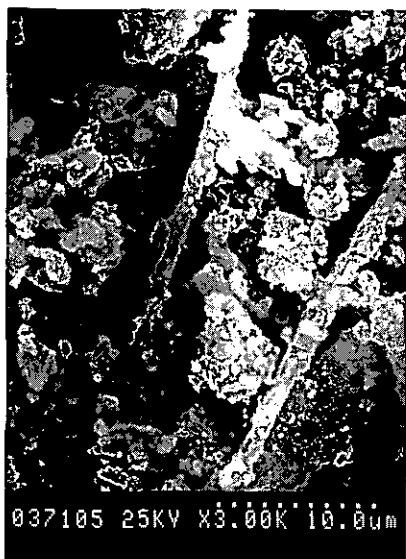


f)

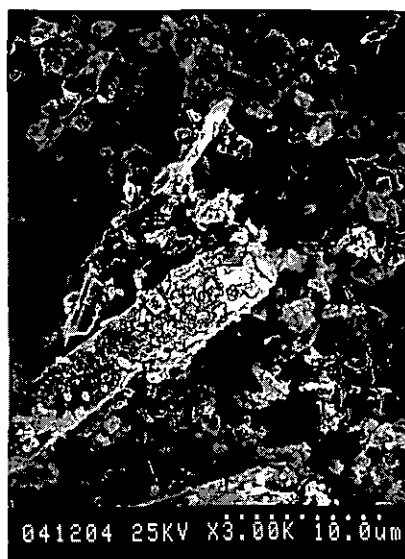


g)

Unkorrodierte Proben: e) Zetwool; f) Glaswolle C; g) HT 7



a)



b)



c)



d)

Korrodierte Probe Wollastonit (pH 7,5): a) $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$; b) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (60 Tage);
c) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (200 Tage); d) $F/A = 0,1 \mu\text{m/s}$

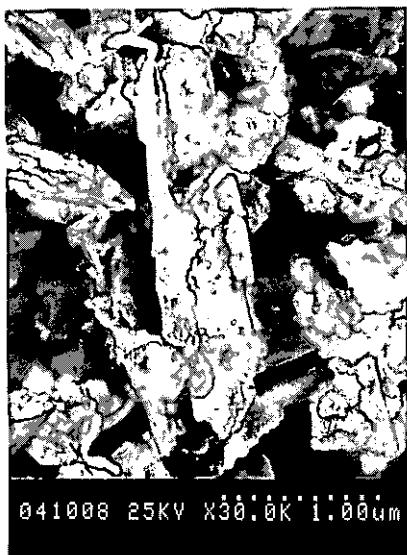
Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte und korrodierte Prüfmaterialien)



e)



f)

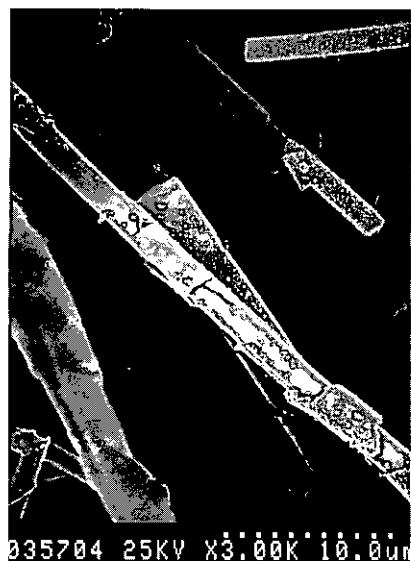


g)



h)

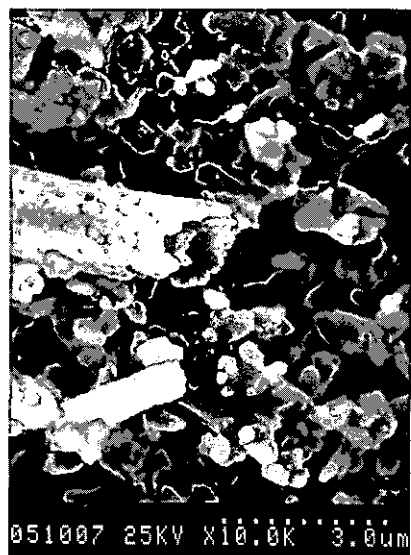
Korrodierte Probe Wollastonit (pH 4,5): e) F/A = 0,003 $\mu\text{m/s}$; f) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (60 Tage);
g) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (200 Tage); h) F/A = 0,1 $\mu\text{m/s}$



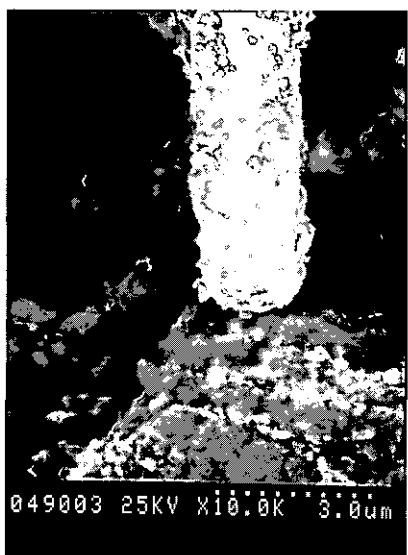
a)



b)



c)



d)

Korrodierte Probe B-01-0.9 (pH 7,5): a) F/A = 0,003 $\mu\text{m/s}$; b) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (60 Tage);
c) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (200 Tage); d) F/A = 0,1 $\mu\text{m/s}$

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte und korrodierte Prüfmaterialien)



e)



f)

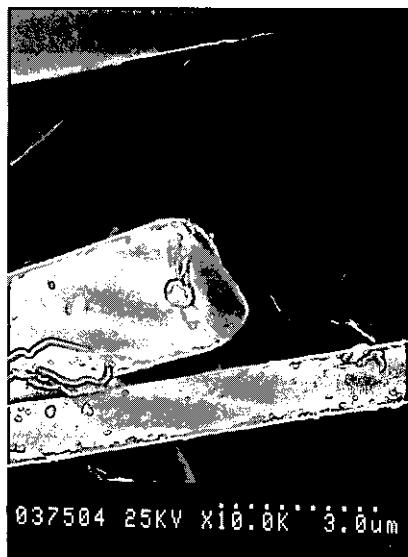


g)

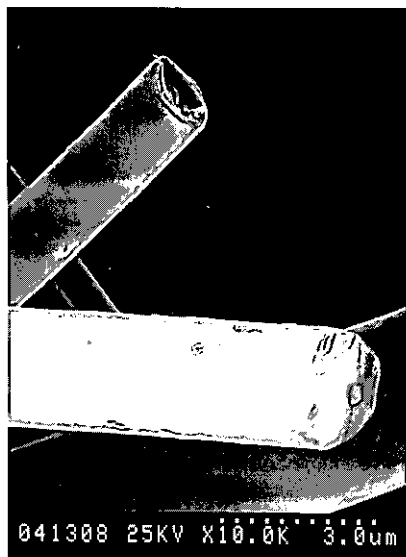


h)

Korrodierte Probe B-01-0.9 (pH 4,5): e) $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$; f) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (60 Tage);
g) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (200 Tage); h) $F/A = 0,1 \mu\text{m/s}$



a)



b)



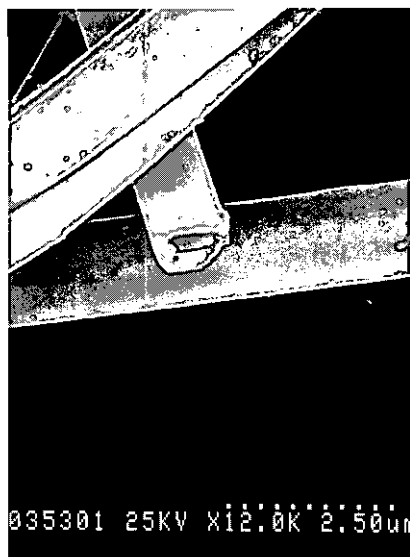
c)



d)

Korrodierte Probe RCF 1 (pH 7,5): a) $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$; b) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (60 Tage);
c) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (200 Tage); d) $F/A = 0,1 \mu\text{m/s}$

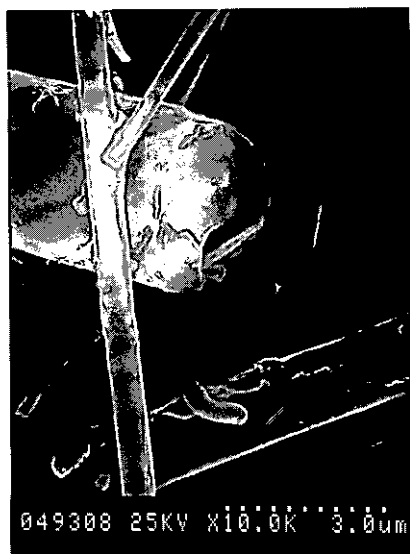
Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte und korrodierte Prüfmaterialien)



e)



f)

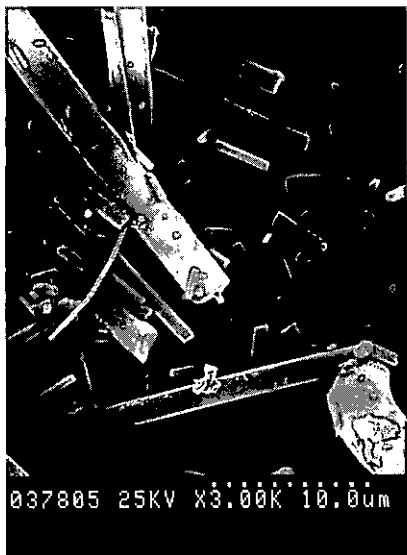


g)



h)

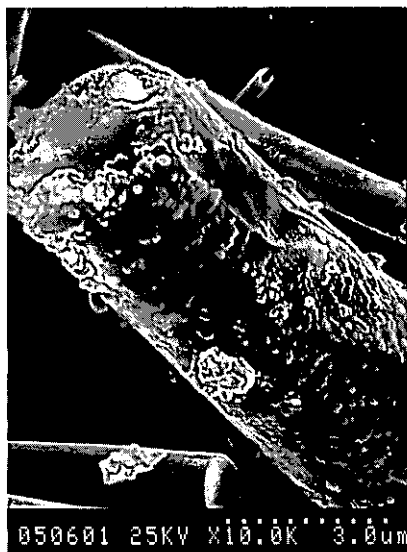
Korrodierte Probe RCF 1 (pH 4,5): e) F/A = 0,003 $\mu\text{m/s}$; f) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (60 Tage);
g) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (200 Tage); h) F/A = 0,1 $\mu\text{m/s}$



a)



b)



c)

Korrodierte Probe MMVF 11 (pH 7,5): a) $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$;
b) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (60 Tage); c) $F/A = 0,1 \mu\text{m/s}$

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte und korrodierte Prüfmaterialien)



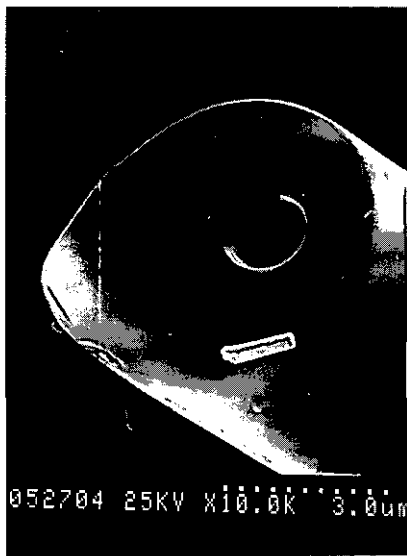
d)



e)

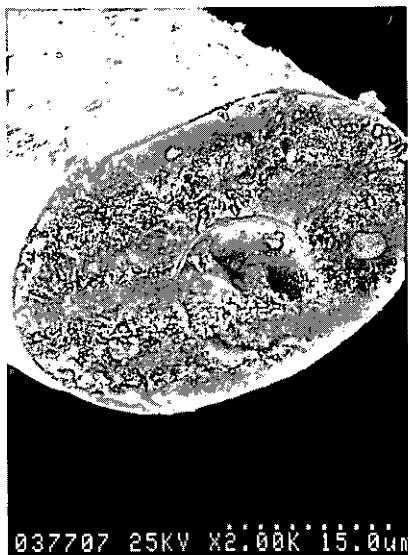


f)

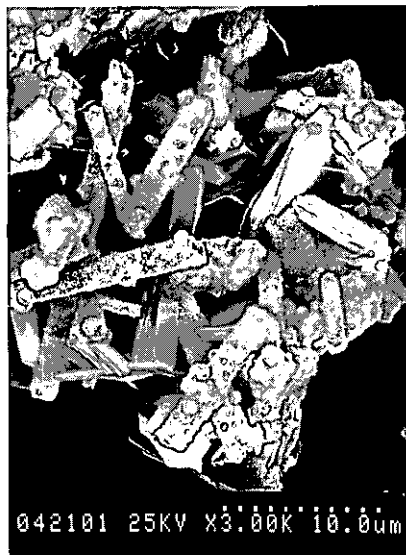


g)

Korrodierte Probe MMVF 11 (pH 4,5): d) F/A = 0,003 $\mu\text{m/s}$; e) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (60 Tage);
f) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (200 Tage); g) F/A = 0,1 $\mu\text{m/s}$



a)



b)



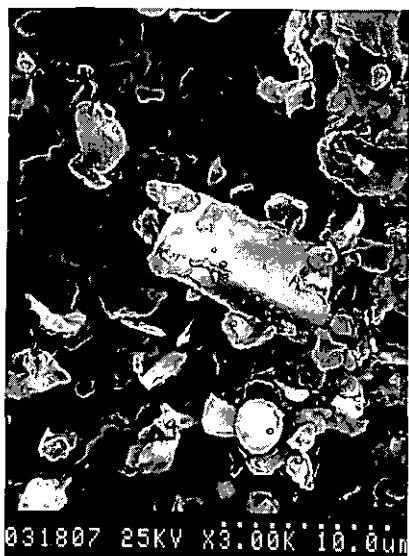
c)



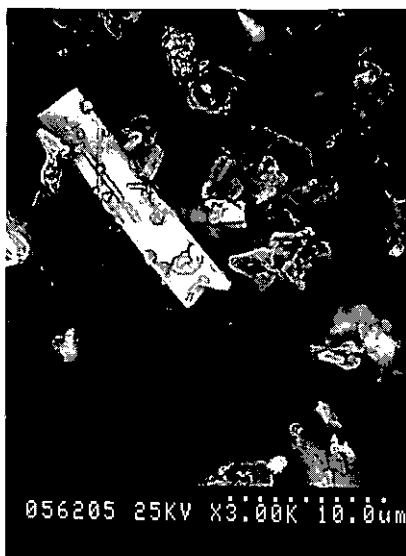
d)

Korrodierte Probe Zetwool (pH 7,5): a) F/A = 0,003 $\mu\text{m/s}$; b) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (60 Tage);
c) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (200 Tage); d) F/A = 0,1 $\mu\text{m/s}$

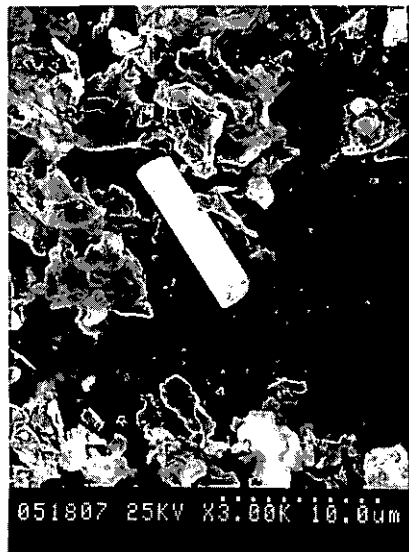
Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte und korrodierte Prüfmaterialien)



e)



f)

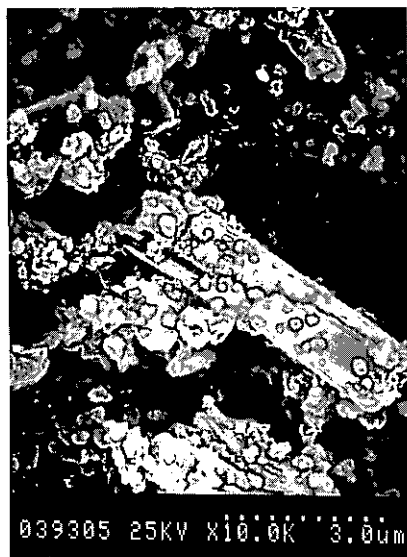


g)

Korrodierte Probe Zetwool (pH 4,5): e) $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$;
f) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (60 Tage); g) $F/A = 0,1 \mu\text{m/s}$



a)



b)



c)

Korrodierte Probe Glaswolle C (pH 7,5): a) $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$;
b) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (60 Tage); c) $F/A = 0,1 \mu\text{m/s}$

Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte und korrodierte Prüfmaterialien)



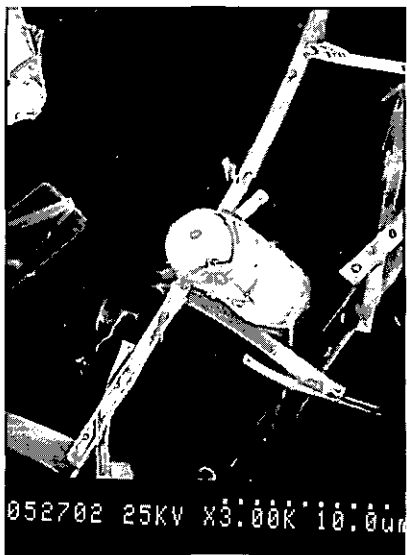
d)



e)

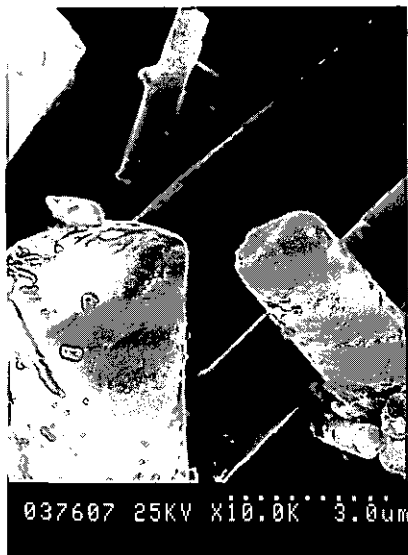


f)

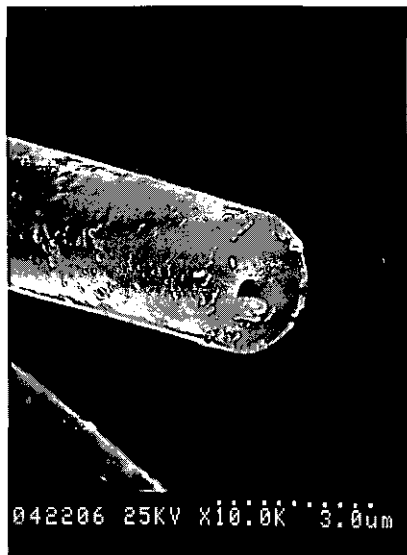


g)

Korrodierte Probe Glaswolle C (pH 4,5): d) F/A = 0,003 $\mu\text{m/s}$; e) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (60 Tage);
f) F/A = 0,01 $\mu\text{m/s}$ (200 Tage); g) F/A = 0,1 $\mu\text{m/s}$



a)



b)



c)



d)

Korrodierte Probe HT 7 (pH 7,5): a) $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$; b) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (60 Tage);
 c) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (200 Tage); d) $F/A = 0,1 \mu\text{m/s}$

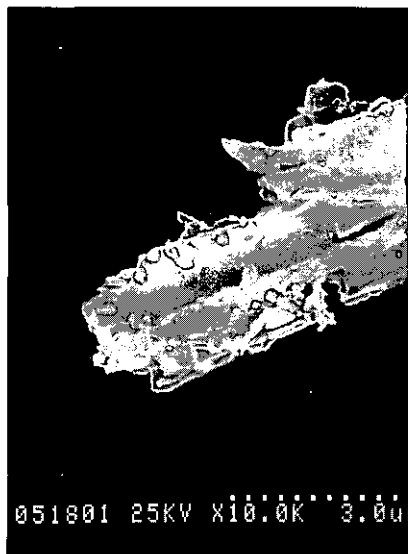
Zu Teil II: In-vitro-Untersuchungen
Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen
(unkorrodierte und korrodierte Prüfmaterialien)



e)



f)



g)

Korrodierte Probe HT 7 (pH 4,5): e) $F/A = 0,003 \mu\text{m/s}$;
f) $F/A = 0,01 \mu\text{m/s}$ (60 Tage); g) $F/A = 0,1 \mu\text{m/s}$

6.1 Einführung

Bereits vor Aufnahme der ersten Experimente konstituierte sich unter Federführung des BIA ein Lenkungsreis zum Forschungsvorhaben „Persistenzuntersuchungen von Mineralfasern in vivo und in vitro und Entwicklung von Beurteilungskriterien für die Biobeständigkeit“, welcher aus Vertretern der mit der Projektdurchführung beauftragten Fraunhofer-Institute ITA und ISC, der Mineralfaserindustrie, der Wissenschaft, relevanter Bundesoberbehörden und Berufsgenossenschaften sowie der beiden Förderinstitutionen zusammengesetzt

war. Dieses Beratergremium trat regelmäßig zusammen, bewertete die Zwischenergebnisse und entschied über das weitere Vorgehen.

Nach Vorliegen des von Muhle, Sebastian, Bellmann und Böhm in eigener Verantwortung verfaßten Abschlußberichts (Seite 29 ff.) wurde jedem Mitglied des Projektleitungskreises die Möglichkeit eingeräumt, aus seiner Sicht die Ergebnisse und Schlußfolgerungen des Berichts schriftlich zu kommentieren bzw. zu ergänzen. Es gingen insgesamt drei persönliche Stellungnahmen ein, die im folgenden abgedruckt sind.

6.2 Stellungnahme R.C. Brown, U. Nebe European Ceramic Fibres Industry Association, Paris

Die vorliegenden Untersuchungen zur Biobeständigkeit, die im Anschluß an Inhalationsversuche und Versuche mit intratrachealer Instillation erarbeitet wurden, und die In-vitro-Untersuchungen zur Löslichkeit gehören zu den umfassendsten Untersuchungen, die bislang durchgeführt worden sind. Sie wurden entsprechend den hohen Anforderungen, die wir gewöhnlich an die beteiligten Wissenschaftler stellen, durchgeführt. Aus diesem Grund haben wir kaum Einzelanmerkungen zu dem Forschungsbericht. Unsere Besorgnis betrifft nicht die technischen Aspekte dieser Studien, sondern bezieht sich auf die ihnen zugrundeliegenden Überzeugungen, d.h. die Extrapolation der Ergebnisse auf Abschätzungen gesundheitlicher Gefahren im Zusammenhang mit der Verwendung von Fasern und der Stichhaltigkeit von einigen Vergleichen zwischen verschiedenen Endpunkten.

Einige Wissenschaftler haben die Inhalationsversuche als zu unempfindlich verworfen, und zwar hauptsächlich deshalb, weil in den betreffenden Studien zu kurze Asbestfasern benutzt wurden und deshalb unangemessene, negative Ergebnisse resultierten. Beiden Wissenschaftlergruppen, sowohl jenen, die die Testprotokolle für die Inhalationsversuche entworfen haben, als auch jenen, die an Injektionsversuchen in den Bauchraum und in den Pleuraspalt teilnahmen, lag

mehr daran, ihre einmal gewählte Art der Verabreichung der Stoffe zu untermauern als wahrzunehmen, daß die Ergebnisse beider Untersuchungen logisch und konsequent sind. Kürzlich durchgeführte Inhalationsversuche bestätigen die Erkenntnis über die Bedeutung der Faserlänge, die sich zuerst in den Intraperitonealversuchen gezeigt hatte. Diejenigen, die die Biobeständigkeit untersuchen, treten heute als Befürworter von verschiedenen Wegen für Untersuchungen zur Kanzerogenität auf. Es hat den Anschein, daß sie mehr darum bemüht sind, die eine oder andere Methode zu verteidigen, als sich mit den Daten selbst zu beschäftigen.

In Anbetracht der Tatsache, daß dieselben Variablen sowohl nach Inhalations- wie nach Injektionsversuchen zum Ergebnis „krebserzeugend“ führen, ist es die feste Überzeugung der European Ceramic Fibres Industry Association (ECFIA), daß Tierversuche die richtige Grundlage für ein Modell zur Übertragbarkeit auf den Menschen darstellen. Der Mensch ist gegenüber Fasern in geringen Dosen durch Inhalation über Jahre hinweg exponiert. Das beste Modell für eine derartige chronische Form der Exposition ist daher eine ähnliche chronische Exposition von Labortieren gegenüber einem Aerosol von entsprechenden Fasern. Die physiologischen und anatomischen Unterschiede zwischen Menschen und

Nagetieren sollten keinesfalls vernachlässigt werden; das Injizieren eines Klumpens von Fasersuspension in die Lunge oder in den Bauchraum bzw. den Pleuraspalt ist jedoch als Modell völlig ungeeignet, um die Einwirkungen auf den Menschen am Arbeitsplatz zu simulieren.

Die Schlußfolgerungen dieses Berichts enthalten einige Behauptungen, die darauf abzielen, die intratracheale Instillation der Inhalation vorzuziehen. Aber wir meinen, daß dies weder durch die Untersuchungsergebnisse noch durch andere Arbeiten gerechtfertigt ist. Wir teilen die augenscheinliche Präferenz der Verfasser für die intratracheale Instillation nicht, und zwar aus folgenden Gründen:

1. Die Theorie, nach der mehr lange Fasern in den oberen Atemwegen bei der Inhalation als bei der Instillation abgelagert werden, ist eine Vermutung. Es wird angenommen, daß bei einer Instillation die Viskosität der suspendierten Flüssigkeit zu hoch für eine Sedimentation der Fasern sei und darum keine Fasern an den Wänden der Luftwege angelagert werden. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß Fasersuspensionen sich nicht wie eine Newtonsche Flüssigkeit verhalten. Vor allem durch Turbulenz werden die Fasern an die Ränder der Atemwege gedrückt und

dabei mehr lange Fasern abgelagert. Die einmalige Injektion der gesamten Fasersuspension führt dazu noch zu kleinen Faserklumpen, die in einer anderen Beziehung zu der Lungenflüssigkeit stehen als einzelne durch Inhalation abgelagerte Fasern. Dies kann mit dem Raster-Elektronenmikroskop nicht untersucht werden.

2. Das mathematische Modell in Abschnitt 2.4.2 ist wissenschaftlich korrekt, kann jedoch nicht den Nutzen von Kurzzeitinhalation oder intratrachealer Instillation rechtfertigen. Die Zahlen, die für die Clearance-Rate angegeben werden, sind nicht begründet und ergeben sich nicht aus den vorhergehenden Abschnitten. Wenn die Gründe, die für die „ungewöhnliche“ Clearance bei den Inhalationsversuchen angeführt werden, zutreffen, dann würden die Inhalationsversuche übertrieben vorsichtige Clearance-Raten ergeben.

In vielen, wenn auch nicht in allen Fällen wurde jedoch festgestellt, daß die Faser-Clearance nach Inhalation schneller und nicht langsamer war. Im Falle der leicht löslichen Glasfaser B-01-0.9, die in dieser Untersuchung benutzt wurde, verlief die Faserelimination nach einwöchiger Inhalation langsamer und wesentlich

langsamer nach dreiwöchiger Inhalation im Vergleich zu intratrachealer Instillation (siehe Abbildung 13, Seite 105). Es stellt sich die Frage, ob diese Unterschiede nicht eher von der Meßgenauigkeit herrühren als auf systematische Unterschiede zwischen den beiden Expositionswegen zurückzuführen sind. Die Verfasser scheinen auch zu glauben, daß sich mit Inhalationszeiten von mehr als fünf Tagen die relative Deposition von Fasern in den verschiedenen Teilen der Lunge ändert — warum? Die Faserverteilung ändert sich, aber ein Strömungsgleichgewicht wird ziemlich schnell erreicht. Auch wenn die Daten nicht ausreichen, um diesen Prozeß vollständig zu beschreiben, so kann erwartet werden, daß sich drei Clearance-Halbwertszeiten für jedes Kompartiment ergeben.

3. An mehreren Stellen räumen die Verfasser ein, daß die Faser-Clearance bei einer Lungenbelastung zwischen 1 und 2 mg „überlastet“ ist. Dies ist bei den Studien mit intratrachealer Instillation immer der Fall. Es gibt keinen Grund anzunehmen, daß Menschen bei chronischer Exposition eine „Overload“-Situation erreichen. Das ist der Grund, warum Untersuchungen, die die Makrophagen-vermittelte Clearance hemmen, nicht als Grundlage für die Extrapolation von

Tieren auf den Menschen benutzt werden sollten.

4. Wenn ein Stoff als toxisch für die Makrophagen gilt — wobei die Toxizität eher auf der chemischen Zusammensetzung beruht als auf der Faserform — dann könnte das „natürliche“ Ergebnis Überlastung heißen, sogar bei einer Exposition gegenüber sehr geringen Dosen. Keine der hier in den Untersuchungen benutzten Fasern hat irgendeine zytotoxische Aktivität trotz zahlreicher Laborstudien gezeigt. Die Verfasser hingegen meinen, daß bei RCF 1 ein zytotoxischer Effekt vorliegen könne. Diese Vermutung ist unberechtigt. Der RCF-1-Befund wird auch, was nach unserer Auffassung korrekt ist, auf den hohen Anteil nicht faseriger Partikeln zurückgeführt.
5. Alle Arbeiten über In-vitro-Löslichkeit und alle In-vivo-Studien zeigen, daß Fasern aufgrund der Meßergebnisse zur Biobeständigkeit in viele Testsysteme eingeordnet werden können und daher eine gewisse Korrelation der mit verschiedenen Methoden erzielten Ergebnisse besteht.

Das ist nicht weiter überraschend, denn alle Tests beinhalten die Deposition von Fasern in ein wäßriges Umfeld, in dem sie sich auflösen.

Die Löslichkeit wird als ein solch grundlegender Faktor angesehen, daß die Art der Korrelation zwangsweise als Ergebnis erscheinen muß. Die Ergebnisse rechtfertigen jedoch sicherlich nicht den KI als Index für die Karzinogenität. Sie bestätigen lediglich, daß für wenige Fasern die Löslichkeit in Beziehung zum KI steht: Dies wiederum war zu erwarten, weil dies die ursprüngliche Grundlage für die Ableitung des KI war. Die gefundene Korrelation läßt vermuten, daß die „Probleme“ mit Kurzzeitinhalation, wenn sie denn bestehen, keinen spürbaren Effekt haben würden. Von Interesse ist dies sicherlich für solche Stoffe wie die HT-Steinwollen, die ein anderes Verhalten aufzeigen und die aufgrund eines anderen Wirkungsmechanismus eliminiert werden müssen.

Ein Problem durchzieht den gesamten Bericht. Es werden im Inhalationsversuch lediglich drei Fasertypen untersucht, und dennoch wird augenscheinlich das Verhalten von ganzen Stoffkategorien (Glasfasern, Keramikfasern und Steinwolle) von dieser geringen Probenzahl abgeleitet. Es sollte darauf hingewiesen werden, daß alle verwendeten Fasern Gläser waren, jedoch zwei von ihnen „ungewöhnliche“. Die Faser, die als „Glasfaser“ (B-01-0.9) bezeichnet wird, wurde ausgewählt, weil sie wesentlich löslicher ist als die meisten anderen „Glasfasern“. RCF war stark durch nicht

faserige Staubpartikeln verunreinigt und entsprach nicht dem Fasertyp, der in Europa hergestellt wird. Untersuchungen mit einer so geringen Anzahl von Faserspezies können nicht dazu benutzt werden, Regeln aufzustellen oder ganze Kategorien von Fasern zu verdammen. Daten aus früheren Untersuchungen oder Untersuchungen, die an anderen Fasern durchgeführt wurden, werden für die Schlußfolgerungen herangezogen und bilden in einigen Fällen sogar den Hauptbeweis für die Schlußfolgerungen. Dies halten wir nicht für ein wissenschaftliches Vorgehen.

Die Verfasser gehen zu Recht davon aus, daß heutzutage eine große Zahl von Erkenntnissen über die Biobeständigkeit vorliegt. Der vorliegende Bericht vergrößert im übrigen die bestehende Datenlage in erheblichem Umfang. Jedoch bleiben mehrere Unsicherheiten bestehen. Es sollte denen, die versuchen, eine Methode unter Ausschluß anderer Methoden zu rechtfertigen, keine besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden.

Der Bericht erweckt den Eindruck, daß als Ausgangspunkt die Hypothese gewählt wurde, Kurzzeitinhalationsuntersuchungen seien von geringerer Aussagekraft und daß die Erkenntnisse für die Beweisführung verzerrt wurden. Die Befürworter von Inhalationsstudien sind

ebenso „verdächtig“ aufgrund ihres ähnlichen Festhaltens an der Ansicht, ihre Methoden stellten den „Gold-Standard“ dar. Einen derartigen Standard gibt es nicht, es gibt lediglich gute und schlechte Daten. ECFIA ist der Ansicht, daß diese Art von Druck zu der verfrühten Verabschiedung von standardisierten Testprotokollen geführt hat. Bevor diese Protokolle und die Daten, die aufgrund dieser Protokolle erlangt werden, für gesetzliche Regeln genutzt werden kön-

nen, müssen noch sehr viele Überlegungen angestellt werden, wenn die zu erstellenden Regelungen auf guter wissenschaftlicher Grundlage basieren sollen.

Im übrigen teilen wir die Ansicht, daß es weiterhin notwendig ist, nicht nur binderfreies Material zu untersuchen, das in der Arbeitswelt kaum auftaucht, sondern Faserprodukte in handelsüblicher Form.

Allgemeine Anmerkungen

Für die Zielstellung des Projektes, Standardmethoden zur Bestimmung der Biobeständigkeit mineralischer Fasern zu erarbeiten, ergeben sich aus den Ergebnissen wichtige Hinweise sowohl hinsichtlich der Eignung des In-vivo-Verfahrens, der intratrachealen Instillation (i.tr.-Test) und der Inhalation als auch der Einsatzmöglichkeiten der beschriebenen In-vitro-Verfahren.

Der Schlußfolgerung der Autoren, daß die beiden angewandten In-vivo-Verfahrensmethoden inhärente Schwächen aufweisen, die die Aussagekraft einschränken können, ist zuzustimmen. Die Ergebnisse bestätigen insbesondere für den i.tr.-Test, daß eine Reihe ungelöster Probleme der Anwendung für regulatorische Zwecke entgegensteht. Das sind vor allem die offenen Fragen des Einflusses der Dickenabhängigkeit der Faserproben und der retinierten Dosis auf die Ergebnisse. Auch sind die Konsequenzen möglicher Agglomeratbildungen und des Entstehens von Granulomen durch die intratrachealen Instillationen unzureichend untersucht.

Die Methode, eine Faserprobe von insgesamt 2 mg zur bewußten Erzeugung von Overload-Effekten zu instillieren, soll die Anwendung des i.tr.-Tests für regulatorische Zwecke unterstützen.

Hierdurch werden jedoch in erster Linie weitere Fragen aufgeworfen. Durch die Blockade der Makrophagen und das Hervorrufen von Entzündungsreaktionen werden weitere unbekannte Parameter eingeführt, die die Interpretation der Ergebnisse zusätzlich erschweren.

Die Ergebnisse zur Untersuchung der Biobeständigkeit nach Kurzzeitinhalation bestätigen im Zusammenhang mit den umfangreichen Literaturdaten, daß diese Methode im wesentlichen für regulatorische Zwecke geeignet ist, insbesondere, wenn die Biobeständigkeit auf die biologisch relevanten Fasern mit einer Länge $> 20 \mu\text{m}$ bezogen wird.

Die interessante Fragestellung, ob die Biobeständigkeit nach intraperitonealer Injektion verwertbare Daten liefert, muß mit den vorliegenden Ergebnissen verneint werden. Die weitere Beibehaltung dieser Methode erscheint nicht sinnvoll.

Die relativ gute Übereinstimmung der Ergebnisse nach intratrachealer Instillation und Kurzzeitinhalation für Fasern mit einer Länge $> 20 \mu\text{m}$ unterstützt die Schlußfolgerung der Autoren, daß beide Methoden zur Bewertung der Biobeständigkeit von Faserproben herangezogen werden könnten. Das setzt jedoch unbedingt die Klärung der oben angeführten Fragen für den i.tr.-Test voraus und gilt nicht für Faserproben, deren geringe

Biobeständigkeit auf einer hohen Löslichkeit im sauren Medium basiert (z.B. die HT-Faser).

Auch nach den Ergebnissen dieses Projektes sind In-vitro-Versuche z.Z. als Grundlage für die Einstufung von Faserstäuben nicht geeignet. Aus diesen Ergebnissen ist jedoch ableitbar, inwieweit neu zu bewertende Faserstäube ein ähnliches Löslichkeitsprofil im Vergleich zu den bereits hinsichtlich ihrer Biobeständigkeit untersuchten Fasern besitzen. Wesentlich sind Untersuchungen bei beiden pH-Werten pH 7,4 und pH 4,5, wie die Ergebnisse des Projektes ausweisen.

Hinsichtlich des in der TRGS 905 definierten Kanzerogenitätsindex KI bestätigen die Ergebnisse, daß er bei weitem nicht für alle Faserstäube brauchbare Hinweise auf die Biobeständigkeit liefert. Als alleiniges Einstufungskriterium ist er somit ungeeignet.

Anmerkungen zur Methode der intratrachealen Instillation

Agglomeratbildung und Faserverteilung in der Lunge

Durch inhalative Verabreichung der Faserstäube wird in den Lungen der Versuchstiere allmählich eine Faserbelastung

aufgebaut, wie sie der Exposition am Arbeitsplatz entspricht. Die Verteilung der Fasern erfolgt gleichmäßig über die gesamte Lunge. Hiervon kann bei der intratrachealen Instillation nicht ausgegangen werden. Im vorliegenden Endbericht wird beispielsweise auf die Agglomeratbildungen bei der Faserprobe HT 7* hingewiesen. Durch die unphysiologische, plötzliche Instillation von relativ großen Fasermengen werden die normalen Mechanismen der Lungenclearance erheblich gestört.

Pritchard et al. [70] schätzten ab, daß die Staubverteilung in der Lunge nach intratrachealer Instillation deutlich weniger homogen ist als nach Inhalation. Nach Bernstein [71] ist die mögliche Agglomeratbildung in der Lunge nach intratrachealer Instillation nur in Ausnahmefällen untersucht worden. Es wird von einem erheblichen Einfluß auf die berechneten Halbwertszeiten ausgegangen.

Die niedrige Biopersistenz der HT-Faser ist sehr wahrscheinlich durch die hohe Löslichkeit im sauren Medium, wie beispielsweise innerhalb der Phagolyso-somen der Makrophagen bedingt. Ferin et al. [72, 73] zeigten, daß die plötzliche Verabreichung einer hohen Staubdosis eine Verzögerung der Phagozytose durch die alveolaren Makrophagen zur Folge hat. Hierdurch sind die

relativ hohen Halbwertszeiten für die HT-Faser im i.tr.-Test im Vergleich zu den Daten erklärbar, wie sie sich nach physiologischer Verabreichung im Inhalationstest ergeben.

Dosis, Durchmesser, retinierte Masse

In der Literatur werden hinsichtlich der i.tr.-Tests unterschiedliche experimentelle Rahmenbedingungen angegeben. Das betrifft beispielsweise die Art der Verabreichung (einmalige oder mehrmalige Instillation), die Dosis oder die Zahl und die Festlegung der Tötungstage. Hinsichtlich der instillierten und retinierten Massen (Fasermassen in den Lungen am ersten Tötungstag) gibt es erhebliche Inkonsistenzen. Die Vernachlässigung des Einflusses der retinierten Massen

auf die ermittelten Halbwertszeiten führt zu falschen Schlußfolgerungen hinsichtlich der Rangfolge von Fasern in bezug auf die Biopersistenz [74]. Im vorliegenden Endbericht schwanken die retinierten Massen zwischen einigen Prozent und etwa 100 % der instillierten Masse.

Hinsichtlich der Dosis- bzw. Durchmesserabhängigkeit der Ergebnisse von Biopersistenzuntersuchungen mittels i.tr.-Tests seien zwei Beispiele angeführt.

Für die Glasfaser vom Typ B-01 liegen Ergebnisse aus i.tr.-Tests mit verschiedenen instillierten Dosen bzw. Faserdurchmessern vor, die in Tabelle 1 angegeben sind [54, 31]. Hier ist eine Durchmesser-Abhängigkeit der Halbwertszeiten deutlich erkennbar.

Tabelle 1:
Halbwertszeiten nach i.tr.-Tests für die Faser B-01

Faser	Dosis [mg]	$T_{1/2}$ (WHO) [Tage]	Mittlerer Durchmesser ^{a)} [μ m]	Mittlere Länge ^{a)} [μ m]	Labor
B-01-0.9	1 · 0,35	32 (26 - 45) ^{b)}	0,7	10,4	ITA
B-01/B-2L	1 · 2	39 (36 - 42) ^{b)}	0,51	6,0	ITA
B-01/B-1M	1 · 2	104 (96 - 112) ^{b)}	1,68	10,7	ITA

^{a)} Faserdefinition: L/D \approx 5/1

^{b)} in Klammern: 95%-Vertrauensbereich

6.3 Stellungnahme U. Draeger Deutsche Rockwool Mineralwoll-GmbH, Gladbeck

Tabelle 2:
Halbwertszeiten nach i.tr.-Tests für die Faser EXP 43

Faser	Dosis [mg]	T _{1/2} (WHO) [Tage] ^{a)}	Mittlerer Durchmesser [μm]	Mittlere Länge [μm]	Labor
EXP 43	4 · 0,25	14 (11 - 19) ^{b)}	1,5	9,9	RCC
EXP 43	4 · 0,50	35 (32 - 38) ^{b)}	1,5	9,9	RCC
EXP 43	4 · 0,50	21 (18 - 24) ^{c)}	0,9	8,8	ITA

a) in Klammern: 95%-Vertrauensbereich

b) Ergebnisse nach 90 Tagen

c) Ergebnisse nach 180 Tagen

RCC: Research & Consulting Company Ltd.

ROCKWOOL INTERNATIONAL hat Versuche mit einer Experimental-Glasfaser EXP 43 durchführen lassen, bei denen in verschiedenen i.tr.-Tests ebenfalls verschiedene instillierte Dosen sowie Faserdurchmesser verwendet wurden [75, 76]. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 angegeben. Aus den Daten

ist sowohl eine Dosis- als auch eine Durchmesserabhängigkeit der Ergebnisse offensichtlich.

In Inhalationsversuchen sind diese Effekte, bedingt durch die physiologische Verabreichungsart der Fasern, zumindest deutlich weniger ausgeprägt.

Mit Blick auf die Fülle der gebotenen *Daten und die variantenreichen Faktoren*, die die als Endpunkte der Untersuchungen berechneten Halbwertszeiten für die Faserpersistenz beeinflussen, fragt sich der Kommentator, inwieweit die Leser diese Vielfalt aufnehmen, verarbeiten, beurteilen und korrekt interpretieren können. Mißverständnisse sind bei der schwierigen Materie naheliegend, ganz abgesehen von Auslegungen, die durch Interessen auf einem heiß umkämpften Markt bestimmt sind. Da Sachverhalte eines Spezialgebiets von Nicht-Fachleuten häufig besser verstanden werden, wenn die Inhalte noch einmal mit anderen Formulierungen erläutert werden, wird im folgenden versucht, die Problematik in Ergänzung zum Text des Abschlußberichts zu verdeutlichen und sie schließlich auch mit persönlichen Stellungnahmen zu versehen.

In welchem Gesamtrahmen ist die Untersuchung zu sehen?

Letztlich geht es um eine möglichst zuverlässige einstufigsrelevante Voraussage der krebserzeugenden Wirkungsstärke von inhalierten Mineralfasern beim Menschen. Das Projekt war darauf angelegt, auf dem langen Weg zu diesem Ziel eine bestimmte Teilstrecke zu erreichen, um Kanzerogenitätsprüfungen mit

notwendigerweise großen Tierzahlen so weit wie möglich zu vermeiden. Bisher kann nach TRGS 905 ohnehin nur der Intraperitonealtest als ausreichend empfindliche Prüfmethode zur Erkennung einer krebserzeugenden Faserwirkung angesehen werden, und dies auch nur für Fasern von einem Durchmesser bis zu wenig mehr als $1\ \mu\text{m}$. Würde der Tendenz einer breiten Interessenlage bei der Industrie und in der EU nachgegeben, so würde die höchste intraperitoneale Prüfdosis auf etwa ein Zehntel oder weniger der verabreichbaren Dosis sinken; dementsprechend wäre der Nachweis eines krebserzeugenden Potentials für viele Faserproben nicht mehr möglich.

Welche Theorie liegt dem Ziel zugrunde, eine Kanzerogenitätsprüfung durch die Ermittlung der Beständigkeit (= Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit) einer Faserprobe in der Lunge zu ersetzen?

Wenn die Fasergestalt einen letztendlich zum Krebs führenden Reiz auf bestimmte Zellen ausübt, endet dieser Reiz, wenn die Fasergestalt von dem sensiblen Ort (Zellen, Gewebe) verschwindet. Dies kann durch drei Vorgänge geschehen:

1. *Auflösung*: Dieser Vorgang ist erwiesen und kann bei entsprechender chemischer Zusammensetzung inner-

halb von Tagen ablaufen. Mit intraperitonealen Kanzerogenitätsversuchen — und nicht mit dem zu wenig empfindlichen Lungenmodell — konnte nachgewiesen werden, daß Fasern mit geringer Biobeständigkeit auch eine geringe kanzerogene Potenz besitzen.

2. Zerbrechen in Stücke, die zu kurz sind, um Tumorzellen erzeugen zu können. Es ist zweifelhaft, ob dieser Vorgang kurze Halbwertszeiten korrekt erklären kann, denn Korrosionen, die einen bevorstehenden Faserbruch andeuten, werden bei gut löslichen Fasern nicht häufig beobachtet; sie treten auch als Artefakte auf. Die Auflösung von Fasern erfolgt eher gleichmäßig über die gesamte Länge. Der punktuelle Angriff der Lysosomen in Makrophagen an säureempfindlichen Fasern, der während der kurzen Lebensdauer eines Makrophagen zum Zerbrechen führen soll, ist eine Hypothese, die eher einer Spekulation entspricht.
3. Abtransport von einem für die Tumorentstehung sensiblen Ort an einen nicht sensiblen Ort im Körper oder Ausscheidung aus dem Körper. Die physiologische Lungenreinigung von Fasern ist im Zusammenhang mit der Ermittlung von Biopersistenzdaten insofern besonders wichtig, als sie die

gesuchten Ergebnisse, die auf die Ermittlung der Auflösungs- oder Zerfallsgeschwindigkeit und nicht einfach auf die Verweildauer zielen, verfälscht. Nur die Auflösung oder das Zerbrechen von Fasern — soweit nachgewiesen — zeigt das Ende ihrer Beständigkeit und damit ihres kanzerogenen Potentials an, aber nicht der Abtransport von unaufgelösten Fasern.

Wichtige Begriffe, deren Inhalte genau beachtet werden sollten

Viele Mißverständnisse des Themenbereiches „Faserbeständigkeit“ sind durch ungenaue Anwendung einiger Begriffe entstanden, insbesondere durch eine Vermischung der ähnlich klingenden, manchmal austauschbaren, aber im Prinzip randscharf zu trennenden Inhalte der Ausdrücke Biobeständigkeit und Biopersistenz. Der Unterschied wird aus den im Glossar gegebenen Definitionen deutlich. Hier nur ein Hinweis: Fasern, die lange Zeit in der Lunge persistieren (=verweilen), müssen eine dementsprechend hohe Beständigkeit besitzen; beständige Fasern können aber die Lunge auch schnell wieder verlassen. Oder anders formuliert: Die Biobeständigkeit ist eine Materialeigenschaft, die Biopersistenz von Fasern ist

von ihrer Biobeständigkeit und zusätzlichen Umgebungseinflüssen in der Lunge abhängig (Depositionsort, Ortswechsel, insbesondere Lungenreinigung).

In diesem Zusammenhang ist auf die Definition weiterer Begriffe (siehe Glossar) hinzuweisen:

- Retentionsverhalten
- Halbwertszeit
- Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit
- bronchiale Lungenreinigung
- alveoläre Lungenreinigung

Welches biologische Milieu herrscht an dem Ort, an dem Fasern eine Reaktionskette in Gang setzen, die schließlich auch ohne weitere Anwesenheit von Fasern eine Tumorentstehung zur Folge hat?

Da der Wirkungsmechanismus der Faserkanzerogenese nicht aufgeklärt ist, gibt es hierüber nur Hypothesen. Eine plausible Hypothese besagt, daß Fasern, die hinreichend lange am Ort der Tumorbildung verweilen, die Tumorentstehung initiieren. Lungentumoren entstehen beim Menschen nur zu einem sehr kleinen Prozentsatz in den Alveolen, sie nehmen meist in der Wand eines Bronchus oder Bronchiolus ihren Anfang. Bei der Ratte

beginnt das Tumorstadium mehr peripher. Dennoch könnte bei beiden Spezies der gleiche Zelltyp Ausgangspunkt des Tumors sein und seine ungleiche Verteilung im Atemtrakt von Mensch und Ratte eine der Ursachen, weshalb für die Ratte im Verhältnis zum Menschen die 100fache Faserkonzentration notwendig ist, um zur gleichen Tumorfrequenz zu führen. Wenn die in der Bronchialwand festsetzenden Fasern für die Tumorentstehung entscheidend sind, dürften dort die Makrophagen keinen Einfluß auf die Faserbeständigkeit ausüben, während bei der Ratte das alveoläre Umfeld bestimmend sein könnte. Von der letztgenannten Hypothese wird allzu selbstverständlich nicht nur für die Ratte, sondern auch für den Menschen ausgegangen, ohne die ungeklärten Fragen herauszustellen.

Es lassen sich mindestens fünf Umfelder in der Lunge aufführen, in denen die Auflösungsgeschwindigkeit von wenig beständigen Fasern unterschiedlich sein könnte (für Fasern mit hoher Biobeständigkeit dürfte hier kein Unterschied bestehen):

1. die Schleimschicht auf den Bronchien
2. die Wand der Bronchien und Bronchiolen, in die sich Fasern festgesetzt haben

3. die Surfactantflüssigkeit, die die Alveolarwand überzieht
4. das Innere von Alveolarmakrophagen mit ihrem punktuell sauren pH-Wert von 4,5 in den Lysosomen
5. das Gewebe zwischen den Alveolen

Insoweit ist die Materialeigenschaft Biobeständigkeit in der Lunge gerade bei denjenigen Fasertypen, die wegen ihrer fraglich geringen Biobeständigkeit im Mittelpunkt der Einstufungsproblematik nach TRGS 905 stehen, kein einheitlicher und konstanter Faktor.

Welches Testmodell erscheint für die Prüfung der Persistenz im Hinblick auf die Beurteilung der Faserbeständigkeit am geeignetsten?

Unabhängig davon, daß die zuletzt gestellte Frage nach dem unterschiedlichen Einfluß der genannten Umfelder in der Lunge unbeantwortet ist, liegen Erfahrungen über die Verweildauer von Fasern in drei Systemen vor:

1. die Rattenlunge
2. der Peritonealraum der Ratte und
3. wäßrige Flüssigkeiten *in vitro*, die das physiologische Milieu in der Lunge, das die Auflösungsgeschwindigkeit von Fasern bestimmt, nachahmen sollen

Das *In-vitro*-Modell scheint bisher nicht soweit ausgereift, um einen Maßstab für die Auflösungsgeschwindigkeit von Fasern stark unterschiedlicher Zusammensetzung anzugeben, mit dem für regulatorische Zwecke zwischen nicht als krebserzeugend einzustufenden Fasern und Fasern der Kategorie 3 unterschieden werden kann. Es ist aber vorstellbar, daß *in vitro* mit relativ einfachen Mitteln Fasern mit hoher Biobeständigkeit im sauren und zugleich im alkalischen Milieu erkannt werden können, was in jedem Falle für eine Einstufung in Kategorie 2 ausreicht. Dazu würden z.B. Hochleistungskeramikfasern gehören.

Der *Peritonealraum* der Ratte bietet als Prüfmodell zur Beurteilung der Faserbeständigkeit einerseits große Vorteile: Im Gegensatz zur Rattenlunge liegen große Erfahrungen über Dosis-Wirkungsbeziehungen aus Kanzerogenitätsversuchen mit zahlreichen Fasermaterialien und -größen vor. Sie waren der Ausgangspunkt für die Überlegung, daß die kanzerogene Wirkungsstärke von Fasern nicht nur von deren Größe, sondern auch von ihrer Beständigkeit im Gewebe abhängt [77]. Die Ergebnisse einer guten Korrelation zwischen Biobeständigkeit und kanzerogener Potenz beruhen daher auf Intraperitonealversuchen, die auf die Lunge übertragen wurden. Infolgedessen wäre es unlogisch, den Peritonealversuch als Prüfmodell für die

Biopersistenz zur Beurteilung der Biobeständigkeit wegen der unphysiologischen Art der Faserverabreichung abzulehnen, zumal die physiologische Verabreichung in die Lunge erst zu den Problemen bei der Beurteilung der Biopersistenzdaten im Hinblick auf die Biobeständigkeit führt (siehe unten). Nach korrekter Injektion einer Fasersuspension in die Bauchhöhle trifft die gesamte Dosis den durch Makrophagenaktivität belebten Bereich. Auch ist zwischen Peritonealmakrophagen und Alveolar-makrophagen kein qualitativer Unterschied bekannt. Allerdings ist — wie erwähnt — unklar, ob oder inwieweit die Makrophagenaktivität über das Ende der Biobeständigkeit derjenigen Fasern entscheidet, die an dem eigentlichen Wirkort verweilen und die Entstehung eines Tumors induzieren.

Jedenfalls stellt sich nicht die Frage nach der Fasergrößenselektion wie bei der inhalativen und intratrachealen Verabreichung in ein sich verjüngendes Röhrensystem. Der große Nachteil für eine Persistenzuntersuchung besteht allerdings darin, daß das Peritoneum nur unter schwierigen experimentellen Umständen insgesamt wie die Lunge entnommen und verascht werden kann.

Das Große Netz und das Zwerchfell lassen sich zwar entnehmen und enthalten einen relativ großen, aber keinen

konstanten Anteil der injizierten Fasern. Insofern ist bemerkenswert, daß sich trotz der zu erwartenden großen Streuung der Werte eine enge Korrelation zwischen den Halbwertszeiten der geprüften Fasertypen nach intraperitonealer Injektion und intratrachealer Instillation ergeben hat.

Die *Rattenlunge* wird als primäres Aufnahmeorgan von Fasern nach Inhalation üblicherweise als Testmodell für die Biopersistenz herangezogen. Allerdings müssen die Nachteile und offenen Fragen bei der Interpretation der Versuchsergebnisse im Hinblick auf die eigentlich gewünschte Aussage, nämlich die Biobeständigkeit, berücksichtigt werden:

□ Der Depositionsort ist abhängig von Faserlänge und Faserdurchmesser. Dadurch kommt es zur Selektion zwischen längeren und kürzeren Fasern. Die längeren werden eher oberhalb der Alveolen abgeschieden und haben dementsprechend eine größere Chance, ungehindert die Atemwege durch die bronchiale Lungenreinigung zu verlassen. Hierbei sind die längeren Fasern als sperriges Transportgut gegenüber den kürzeren langsamer und diese wiederum langsamer als runde Partikeln; quantitative Daten fehlen.

□ Alle Fasern werden summarisch erfaßt, unabhängig davon, ob sie in der

Schleimhaut auf den Bronchien, in den Bronchialwänden, auf den Alveolenwänden in der Surfactantflüssigkeit, in den Makrophagen oder im Gewebe zwischen den Alveolen liegen. Es ist nicht bekannt, inwieweit sich die Auflösungsgeschwindigkeiten von wenig biobeständigen Fasern in der Lunge in den genannten fünf Umfeldern voneinander unterscheiden. Falls die Makrophagenaktivität in den Alveolen den entscheidenden Faktor für die Persistenz darstellt, wie es insbesondere für die Zusammensetzung von Steinwollfasern wegen deren Säureempfindlichkeit hypothetisiert wird, wäre eine getrennte Messung der Faserzahlen in dem durch Makrophagen beherrschten Teil der Atemwege und in dem Bereich mit geringerer Makrophagenaktivität wichtig. Hierzu fehlen jedoch die Voraussetzungen.

□ Die Kenntnis der Unterschiede zwischen Mensch und Ratte bezüglich der Faserverteilung auf die fünf genannten Lokalitäten in der Lunge sowie ihre Bedeutung für Persistenz und kanzerogene Wirkung ist sehr begrenzt.

Beurteilung der Biobeständigkeit aufgrund von Persistenzdaten

Diese Thematik ist ebenso bedeutsam wie kompliziert, wird aber z.B. in der EU bisher weitgehend ignoriert. Dort

werden seit einiger Zeit Methodenbeschreibungen zur standardisierten Biopersistenzbestimmung von Fasern nach Kurzzeitinhalation (fünf Tage) und intratrachealer Instillation entwickelt [78, 79]. Das fehlende Bewußtsein für die große Problematik der Daten bei der Interpretation offenbart sich im gleichlautenden letzten Satz der Beschreibung des „Principle of the test method: The specific use of the weighed $T_{1/2}$ of fibres longer than $20 \mu\text{m}$ in length in this protocol is designed to reflect the removal of fibres by dissolution and disintegration and is considered to be analogous in both humans and rats.“ Mit diesem unkritischen Ausspruch werden die gewichteten Persistenzdaten als Ausdruck der Biobeständigkeit mißverstanden und damit in der Regel zu hohe Biolöslichkeiten vorgetäuscht. Die Verweildauer ist aber nur ein Befund, aus dem eine Aussage über die Beständigkeitsdauer eines Fasertyps in einem für den kanzerogenen Reiz sensiblen Zellverband in der Lunge des Menschen abgeleitet werden muß. Nach der gegebenen Definition

$$\text{Biopersistenz} = \text{Biobeständigkeit} \\ + \text{zusätzliche Umgebungseinflüsse}$$

ist für jedes Experiment zu prüfen, inwieweit die zusätzlichen Umgebungseinflüsse das Ergebnis der Biopersistenzuntersuchung mitbestimmen. Darüber hinaus gibt es gravierende Unter-

schiede im Effekt der zusätzlichen Umgebungseinflüsse auf das Verhalten von Fasern im Atemtrakt bei Ratte und Mensch (Depositionsort, alveoläre Lungenreinigung, mucoziläre Lungenreinigung). Falls die zusätzlichen Umgebungseinflüsse unwesentlich wären, müßten die aus den Persistenzdaten errechneten Halbwertszeiten nach Inhalation und Instillation innerhalb des Streubereichs gleich sein. Nach den in der Tabelle (Seite 292) beispielhaft gezeigten Daten sind jedoch die Halbwertszeiten nach intratrachealer Instillation meist erheblich länger als nach Inhalation. Die Diskussion hierüber kann nur ausschnittsweise an Daten einiger Fasertypen geführt werden, die aus dem breiten Spektrum von Halbwertszeiten und kanzerogenen Wirkungsstärken in der Tabelle zusammengefaßt sind.

Bei Krokydolith, Keramikfasern und Steinwolle MMVF 21 kann davon ausgegangen werden, daß ihre Biobeständigkeit über die Versuchszeit in der Ratte hinaus *andauert*. Das bedeutet: Die Unterschiede zwischen den Halbwertszeiten sind nicht durch die in allen Fällen gleichzusetzende Biobeständigkeit bedingt, sondern neben der statistischen Streuung durch andere Faktoren, und zwar:

□ Unterschiede im Depositionsort durch Länge, Durchmesser und Verarbeitungsart;

□ Unterschiede der Lungenreinigung durch Länge, Durchmesser und Depositionsort; auch der Einfluß toxischer Oberflächeneigenschaften läßt sich nicht ausschließen.

Beim Überblick über alle Fasertypen fallen zwei große Unterschiede auf:

□ Die Halbwertszeiten sind in der Regel für lange Fasern (Länge $> 20 \mu\text{m}$) kürzer als für alle WHO-Fasern. Dieser Befund läßt sich nicht als Zerfall in kleinere Bruchstücke interpretieren, denn auch für lange Krokydolithfasern wurde eine kürzere Halbwertszeit als für WHO-Fasern errechnet, ohne daß es bisher einen Anhalt für ein Zerbrechen dieser beständigen Fasern gibt. Das nicht so tiefe Eindringen in die Atemwege dürfte nicht nur bei der Inhalation, sondern auch bei der intratrachealen Instillation von langen Partikeln in ein sich verjüngendes Röhrensystem eine Rolle spielen, so daß eine besondere Berücksichtigung der langen Fasern bei der Berechnung der Halbwertszeiten im Hinblick auf die gesuchte Biolöslichkeit wenig Sinn macht.

□ Die Halbwertszeiten sind nach Inhalation viel kürzer als nach intratrachealer Instillation der Stäube. Es besteht keine plausible Begründung dafür, daß inhalierbare Fasern sich schneller auflösen oder zerfallen als instillierte; infolgedessen

Tabelle: Daten von Fasertypen, die beispielhaft aus einem breiten Spektrum von Halbwertszeiten (HWZ) in der Lunge und kanzerogenen Wirkungsstärken im Intrapertonealtest ausgewählt wurden. (Die nicht mit Literaturhinweis versehenen Daten stammen aus [81], z.T. dort referiert)

Fasermaterial	Durchmesser ^a (geom. Mittel)	Länge ^a [μm]	HWZ nach 5 Tagen Inhalation [82]						HWZ nach i.tr. Instillation				TD ₂₅ i.p. [10 ⁷ WHO- Fasern] ⁿ [27, 26]	Konz.- index (K)	Auflösungsge- schwindigkeit ^e [nm/Tag]			
			Länge > 5 μm (WHO)			Länge > 20 μm			Länge > 5 μm (WHO)		Länge > 20 μm				pH 7,5	pH 4,5		
			T ₁ ^b	T ₂ ^c	T _w ^d	T ₁ ^b	T ₂ ^c	T _w ^d	T ₁ ^b [82]		T ₁ [82]							
Amosir:			71	—	—	17	1 300	466										
Krocydolith	0,15	4,8								689	f	346	1	—				
Keramiktaser	0,85	8,8	6	104	54	5	87	41	296	343	g	233	300	1	< 10	0,28	0,29	
MMVF 21	0,7	6,7	4	92	42	6	55	35	276	326	g	184	195	3	< 10			
			6	110	65	—	—	—	—	—								
			85	—	—	38	725	98										
MMVF 1i	0,94	14	13	61	28	9	48	13	155	199	g	39	107	28	24	5,9	0,015	
			31	172	59	3	36	9										
Glaswolle T1*	1,42	16,0								141	h	114			25			
M Steinwolle	0,84	8,8							122	116	i	78	82	31	15			
MMVF 22	0,77	7,8	62	—	—	2	30	8	77	81	i	44	66	82	28			
Steinwolle HT 7	0,77	6,1	6	53	22	5	—	—	60	64	h	70	61		< 10	0,67	10,2	
Steinwolle HT 7*	1,94	18,8									k				< 10	0,67	10,2	
Glaswolle CS*	0,97	15							40	37	h	22	24		34	9,5	0,36	
Glaswolle C	0,47	7,2	2	46	14				27	28	h	12	16		34	9,5	0,36	
									21			10						
Glasfaser B-01-0-9	0,7	8,2	5	71	13	2	36	2	18	32	m	5	9	1 100	39	10,5	0,40	
									25	28								
Steinwolle O	0,45	6,5	17	—	—	6	—	—	16	32	h	12	14		40	4,1	9,4	
										[83]						[54]	[84]	

^a Die Daten gelten für die i.tr.-Versuche; für die anderen Experimente wurden z.T. andere Chargen verwendet

^b HWZ berechnet für die schnelle Eliminationsphase; wenn ein Wert nur für T₁ angegeben ist, sind die Daten auch mit einer einphasigen Eliminationskinetik vereinbar, so daß T₁ auch für T₂ gilt

^c HWZ berechnet für die langsame Eliminationsphase

^d HWZ, gewichtete Berechnung

^e für F/A-Verhältnis 0,003 (Verhältnis von Durchflußrate zur Faseroberfläche)

f 0,1 mg

g 1 - 2,0 mg

h 4 - 0,5 mg

i 1,0 mg

k 90 Tage für Durchmesser 0,5 bis 1,0 μm ; 246 Tage für Durchmesser 1,0 bis 1,5 μm .

m 0,35 mg

n TD₂₅: Dosis, die bei 25 % des Versuchstierkollektivs

mindestens einen Tumor auslöst

müssen die kurzen Halbwertszeiten nach Inhalation einer erheblich schnelleren Lungenreinigung zugeschrieben werden. Sie erklärt sich aus folgenden Gründen:

— Nach Instillation werden mehr Fasern bis in die Alveolen eingeschwemmt als mit dem Luftstrom der Inhalation in fünf Tagen. Die durch Alveolarmakrophagen vermittelte Lungenreinigung wird dadurch verlangsamt. Vorteil: Verbesserung der Bedingungen für die Prüfung der Faserlöslichkeit in den Alveolen.

— Aus aerosolphysikalischen Gründen werden längere Fasern nach Inhalation zu einem wesentlich höheren Anteil auf den mit Zilien versehenen Atemwegen abgeschieden als kürzere und größtenteils innerhalb von Tagen in die Speiseröhre befördert. Dieser Zeitraum ist auch bei einem wenig biobeständigen Glas für die meisten Fasern zu kurz, um aufgelöst zu werden.

— Nach Instillation dürfte auch die bronchiale Lungenreinigung erheblich verlangsamt werden, weil innerhalb kurzer Zeit eine weitaus größere Menge des sperrigen Transportgutes in die Bronchien gelangte als nach fünftägiger Inhalation. Längere Halbwertszeiten im Intratrachealtest sprechen daher gegen eine gute Biolöslichkeit.

Die längere Persistenzdauer nach intratrachealer Instillation entspricht jedoch

weitaus eher den Langzeitinhalationsstudien und den Erwartungen aus anderen Erfahrungen als die auf einen kurzen Zeitraum zusammengedrängten Halbwertszeiten nach Kurzzeitinhalation, die zu keiner plausiblen Differenzierung zwischen den Fasertypen führen. Gegen den Intratrachealtest wird der mögliche, aber nicht bekannte Einfluß einer Entzündung angeführt. Hätte er einen deutlichen Einfluß auf die HT-7-Faser, dann wären bei der „dicken“ Probe Anzeichen für eine bessere Löslichkeit zu erwarten gewesen, denn hier liegt eine stärkere Entzündungsreaktion in den Bronchien durch die vermuteten Agglomerate nahe.

Als konkretes Beispiel für die unkritische Gleichstellung von Biopersistenz und Biobeständigkeit kann auf Knudsen et al. [80] verwiesen werden. Die Autoren attestieren HT-Fasern eine „in vivo ermittelte hohe Biolöslichkeit“, die jedoch weder gemessen noch plausibel abgeleitet wurde. Gegen eine hohe Biolöslichkeit der HT-7-Fasern spricht bei der gegenwärtigen Datenlage folgendes:

□ Die Halbwertszeiten nach intratrachealer Instillation sind deutlich höher als bei Glasfasern CS* im parallel gelaufenen Experiment, obwohl die CS*-Fasern im Mittel länger und dicker waren als die Fasern der HT-7-Probe.

□ Drei Tage nach der letzten Instillation wurde noch die verabreichte Dosis in den Lungen gefunden bzw. errechnet, und zwar bei der Glaswolle C (dünner und kürzer als HT 7) 20 % und CS* (dicker und länger als HT 7) 3,5 % (in der Tabelle nicht aufgeführt).

□ Die Halbwertszeit für die HT-7-Fasermasse (in der Tabelle nicht aufgeführt) liegt mit 66 Tagen in der gleichen Höhe wie die der WHO-Fasern (64 Tage) und Fasern mit einer Länge $> 20 \mu\text{m}$ (61 Tage). Ein schneller Zerfall der HT-7-Fasern, wie er wegen ihrer Säureempfindlichkeit und dem punktuell sauren Milieu der Lysosomen in den Makrophagen hypothetisiert wird, hätte sich in einer kürzeren Halbwertszeit der langen Fasern äußern müssen, konnte aber nicht nachgewiesen werden.

□ Die von den Autoren des Abschlußberichts verworfenen langen Halbwertszeiten mit der „dicken“ HT-7*-Faser führen zu wichtigen Aussagen. Diese Faserprobe war in das Experiment aufgenommen worden, um der Situation des Menschen näher zu kommen; beim Menschen gelangen solche „dicken“ Fasern zu einem weit höheren Prozentsatz bis in die Bronchien und Bronchiolen als bei der Ratte, wo solche Fasern nur instilliert werden können, weil sie nach Inhalation in der Nase abgeschieden werden. Die Erklärung für die lan-

gen Halbwertszeiten der einzelnen Fasergrößenfraktionen mit naheliegenden (nicht gemessenen) Agglomeratbildungen und Blockierung der mucociliären Clearance erscheint für ein Verwerfen der Ergebnisse nicht ausreichend. Die drei Tage nach der vierten Instillation verbliebenen 29 % der instillierten Fasermasse standen — soweit nicht in den Alveolen — unter dem Einfluß des biologischen Milieus in den Bronchien und Bronchiolen, also in dem Teil der Atemwege, in dem beim Menschen der Lungenkrebs am häufigsten entsteht. Die HT-7-Fasern scheinen dort — trotz der zu erwartenden Entzündung — sehr beständig zu sein. Die langen Halbwertszeiten der Fasern mit Durchmessern 1 bis $1,5 \mu\text{m}$, $1,5$ bis $2 \mu\text{m}$ und 2 bis $3 \mu\text{m}$ von 245, 373 und 985 Tagen mit mittleren Faserlängen von 11 bis $25 \mu\text{m}$ zeigen darüber hinaus ganz allgemein, daß Fasern nicht einfach zerbrechen, weil sie lang sind, und wie sehr das angestrebte Ziel der Untersuchungen, nämlich die Ermittlung der Biobeständigkeit, durch eine funktions-tüchtige physiologische Lungenreinigung bei kürzeren und dünneren Fasern gestört wird, indem kurze Persistenzzeiten resultieren, die nicht auf eine geringe Biobeständigkeit zurückzuführen sind.

Generell läßt sich aus den Daten schließen, daß Unsicherheiten über die Lös-

lichkeit und kanzerogene Wirkungsstärke von Fasern, die auch nach Vorliegen der intratrachealen Persistenzdaten noch bleiben, durch die Ergebnisse des Kurzzeitinhalationstests nicht geklärt werden können. Insofern wäre der Zwang zur Durchführung beider Tests als Voraussetzung für eine Beurteilung wissenschaftlich nicht zu vertreten und daher im Hinblick auf den Tierschutz

sowie aus ökonomischen Gründen abzulehnen.

Die kanzerogene Wirkungsstärke läßt sich in Zweifelsfällen für Einstufungen nur durch einen intraperitonealen Kanzerogenitätstest ermitteln. Es ist als Mangel anzusehen, daß die TRGS 905 diese Prüfung nicht bereits für solche Fälle vorgeschrieben hat.

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

A. Barig

1 Allgemeines

Beim Umgang mit Mineralfaserprodukten entstehen Faserstäube, deren Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz und deren geometrische Struktur vom Produkt selbst und von der Art des Umgangs abhängig sind. Allgemein bezeichnet man die Eigenschaft von Produkten (Stoffe, Zubereitungen, Erzeugnisse), beim Umgang Staub zu emittieren, als Verstaubungsverhalten. Das Verstaubungsverhalten kann qualitativ und quantitativ charakterisiert werden. Die qualitative Einschätzung reicht von „nicht staubend“ bis zu „sehr stark staubend“. Zur quantitativen Charakterisierung der Verstaubung werden in der Regel spezielle Verstaubungstests durchgeführt. Dabei kann das Maß der Verstaubung als Emissionsrate oder Emissionskonzentration ermittelt und angegeben werden. Eine besondere Form der Emissionsrate ist der Verstaubungsindex (Staubungszahl), der sich als Quotient aus der Masse des freigesetzten Staubes und der Gesamtmasse des eingesetzten Testmaterials berechnet [90, 97]. Für faserförmige Produkte steht in der Regel die Ermittlung der Anzahl der freigesetzten Fasern im Vordergrund. Für manche, meist technische Aufgabenstellungen ist allein die emittierte Masse oder Faserzahl von Interesse. Für die arbeitshygienische Bewertung ist jedoch eine Quali-

fizierung der Emissionsrate oder der Emissionskonzentration erforderlich. Für faserförmige Produkte sind dies in erster Linie Fasern, die aufgrund ihrer geometrischen Abmessungen bis in den alveolären Bereich der Lunge gelangen können. Dies sind entsprechend einer Konvention Fasern mit den geometrischen Abmessungen Länge $> 5 \mu\text{m}$, Durchmesser $< 3 \mu\text{m}$ und einem Länge- zu Durchmesser-Verhältnis von $> 3 : 1$ (sog. WHO-Fasern). Da es aber auch Faserspezies gibt, bei denen aufgrund der geringen Biopersistenz die faserbezogene biologische Wirkung nicht im Vordergrund steht, ist hier die Gesamtbelastung der Atemorgane durch den einatembaren Staub (E-Staub) von Bedeutung. Bei den Tests zum Verstaubungsverhalten müssen deshalb je nach Faserart die WHO-Fasern und/oder die E-Staub-Fraktion ermittelt werden, was bisher nur in Sonderfällen erfolgt. Einige Fasertypen enthalten z.T. erhebliche Anteile sphärischer Partikeln lungengängiger Abmessungen; hier erscheint es auch sinnvoll, die alveolengängige Fraktion (A-Staub) zu bestimmen, was bisher nicht üblich ist. Die Tests zum Verstaubungsverhalten erlauben jedoch prinzipiell die Bestimmung aller gewünschten Faser- und Staubfraktionen.

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

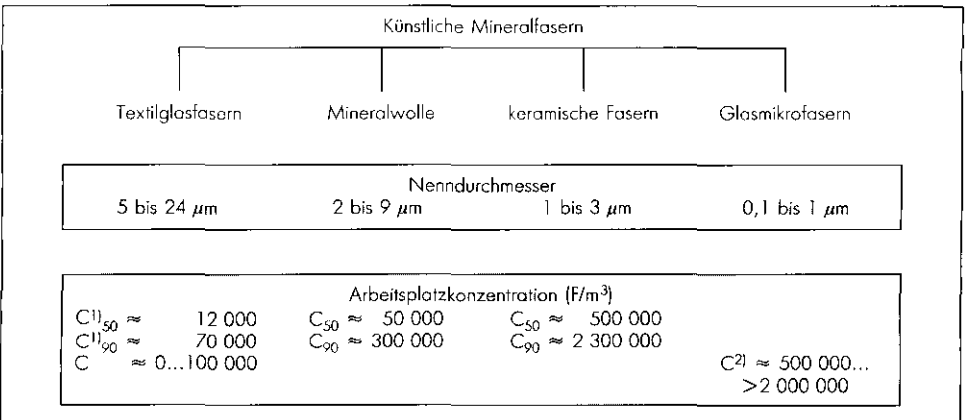
2 Übersicht über die Tests zum Verstaubungsverhalten

Nach Schneider und Hjemsted [85] kann man drei Stufen für die Zuordnung der Prüfmethode für Fasermaterialien unterscheiden:

1. direkte Analyse des Fasermaterials
2. Laborschnelltest (*bench-scale test*)
3. Prüfung der Produkte im Vollmaßstab (*full-scale test*)

Aus Arbeitsplatzmessungen ist bekannt, daß die Faserstaubkonzentration in der Luft um so größer ist, je kleiner der nominelle Durchmesser der Faserprodukte ist (Abbildung 1). Dies läßt sich theoretisch begründen und wird durch Labortests bestätigt. Gelingt es also, mit Hilfe von Feld- und Laboruntersuchungen eine allgemeine Korrelation zwischen dem nominellen Faserdurchmesser und der Faserstaubfreisetzung abzuleiten, so könnte für neue Produkte das Verstaubungsverhalten auf der Basis der Ermittlung des Faserdurchmesserspektrums abgeschätzt werden.

Abbildung 1: Arbeitsplatzkonzentrationen für unterschiedliche KMF mit verschiedenem Nenndurchmesser



1) Textilglaswebereien

2) Einzelwerte

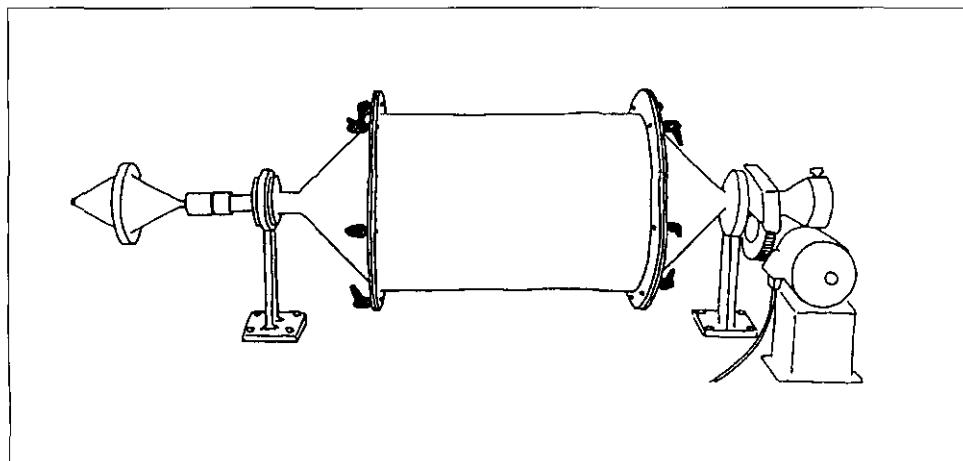
C_{50} : 50%-Wert, C_{90} : 90%-Wert

Eine erhöhte Faserstaubemission aus den Produkten ist immer dann zu erwarten, wenn diese mechanisch beansprucht oder ggf. auch starken Luftströmungen ausgesetzt werden. Darauf beruhen die zahlreichen Laborschnelltests, wie sie z.B. in [86 bis 89] beschrieben werden. Praktische Bedeutung erlangt haben aber nur der Trommeltest (*drum test*), wie er ursprünglich in Großbritannien für pulverförmige Materialien entwickelt wurde, und der Rütteltest (*shaking test*), der speziell für ausgewählte faserförmige Produkte ausgelegt ist. Auf Staubentwicklung durch Rotation beruht auch

die Norm DIN 55 992 Teil 1: „Beurteilung des Staubungsverhaltens von festen Stoffen“ [90]. Die Abbildungen 2 und 3 zeigen die Prinzipschemata der Testmethoden, die nur für unaufbereitete Faserprodukte (z.B. in Form von loser Wolle oder Matten) angewendet werden können.

Der Praxis am nächsten kommen Versuche im Vollmaßstab (*full-scale test*). In begehbaren Versuchskammern oder -räumen werden im Maßstab 1 : 1 Tätigkeiten unter definierten Bedingungen simuliert, wie sie auch im Betrieb

Abbildung 2:
Trommeltest — Prinzipdarstellung nach Schneider [85]



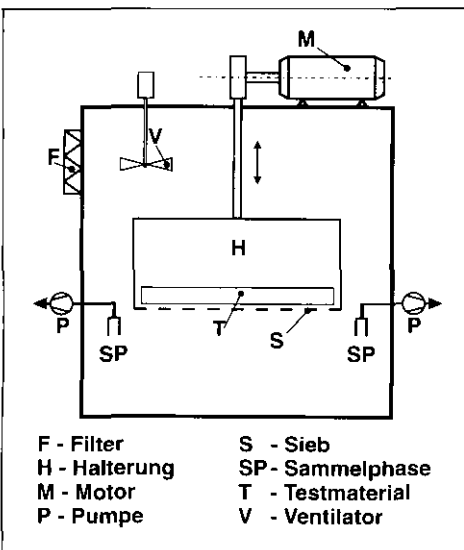
III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

oder auf der Baustelle typisch sind. Man muß dabei zwei Fälle unterscheiden:

- Montagearbeiten (z.B. Isolierarbeiten) ohne mechanische Bearbeitung der Produkte (mit Ausnahme von Zuschnitten u.ä.) und
- mechanische Bearbeitung der Produkte, insbesondere durch Einsatz von Maschinen wie z.B. von Handbohrmaschinen, Schleifmaschinen und Trennsägen

Beispiele für beide Fälle sind in den Abbildungen 4 und 5 dargestellt.

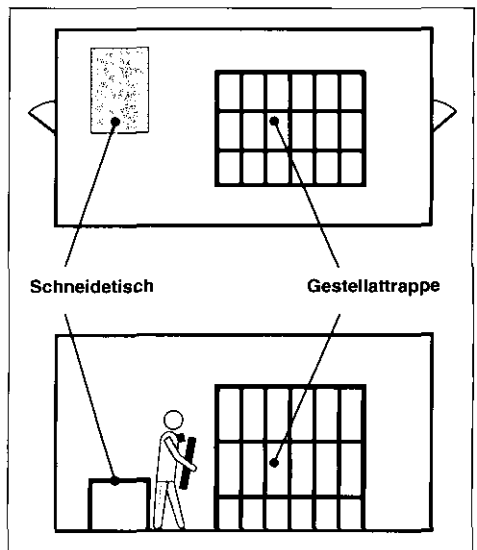
Abbildung 3:
Box für Rütteltest (Prinzipschema)



3 Analyse des Fasermaterials

Eine Reihe von Autoren versuchte, den Einfluß des nominellen Durchmessers (d_N) auf die Konzentration, wie er sich auch in Abbildung 1 in der Höhe der Arbeitsplatzkonzentrationen widerspiegelt, quantitativ zu beschreiben [85, 89, 91]. Dabei wird neben theoretischen Ansätzen (z.B. ausgehend vom Stokes'schen Gesetz) in der Regel der Zusammenhang zwischen dem nominellen Faserdurchmesser und der ermittelten Emissionskonzentration (C) auf der

Abbildung 4:
Prüfkammer mit Dummy für die Simulation von Isolierarbeiten im Hochbau



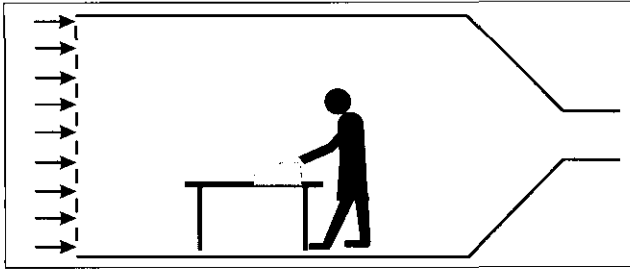


Abbildung 5:
Versuchskammer zur
Bestimmung der
Emissionsrate von Maschinen
(Prinzipdarstellung)

Basis von Feldmessungen oder Modelluntersuchungen (*shaking test, full-scale test*) mittels einer Regressionsanalyse ermittelt. Ganz allgemein gilt (vereinfachend):

$$C = a \cdot d_N^{-b}$$

Esmen et al. [91] bestimmten in Auswertung ihrer Untersuchungen in KMF-Herstellerbetrieben für die Konstanten: $a = 0,35$, $b = 1,54$.

Diese Beziehung zwischen dem nominalen Faserdurchmesser und der ermittelten Faserkonzentration zeigt Abbildung 6 (siehe Seite 304). Bezüglich der Durchmesserabhängigkeit fanden Dodgson et al. [89] einen nahezu identischen Wert bei ihrem Rütteltest mit Mineralwollen. Dagegen ergaben die Auswertungen der Expositionsdaten an Arbeitsplätzen beim Umgang mit keramischen Fasern eine deutlich geringere Rolle des Durchmessers ($b = 0,5$; $a = 0,24$).

Neuere Ergebnisse von Class et al. [92], die aus Versuchen im Rütteltest mit keramischen Fasern stammen, zeigen demgegenüber einen noch etwas stärkeren Einfluß des Durchmessers auf das Verstaubungsverhalten ($b = 2,5$). Eine ausführliche Diskussion der Relationen zwischen dem nominellen Durchmesser und der Emissionskonzentration erfolgte in [93]. Als eines der wesentlichen Ergebnisse wird dabei festgestellt, daß der nominelle Faserdurchmesser eine wichtige Variable (Schlüsselgröße) für das Verstaubungsverhalten darstellt. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß es weitere, nicht zu vernachlässigende Einflußgrößen gibt. Dazu gehören insbesondere die Faserdurchmesser- und die Bindemittelverteilung. Für die physikalische Charakterisierung von Fasermaterialien führt Schneider [94] deshalb neben dem geometrischen mittleren Durchmesser die Standardabweichung als weiteren wichtigen Parameter ein. Die Rolle der Bindemittel (Binder

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

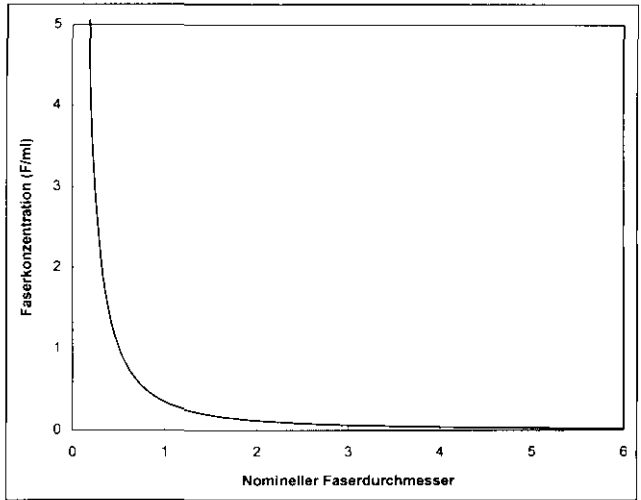


Abbildung 6:
Faserstaubkonzentration
an Arbeitsplätzen in
Abhängigkeit vom nominellen
Faserdurchmesser nach
Esmen et al. [91]

und Öle) auf das Verstaubungsverhalten, wie sie insbesondere für Mineralwollgedämmstoffe von Bedeutung ist, kann durch entsprechende (Korrektur-)Faktoren berücksichtigt werden. Dabei kann nach den derzeitigen Erkenntnissen der Einfluß der Binder in erster Näherung vernachlässigt werden [85, 89], während der Ölgehalt einen deutlichen Einfluß besitzt [89, 94 bis 96] (siehe auch Abbildung 7) und z.B. in den Modellen zur Staubfreisetzung bei Dodgson et al. [89] und Schneider et al. [94] in Form von Faktoren Beachtung findet.

Trotz weiterer Vervollkommnung der Modelle zur Abschätzung des Verstaubungsverhaltens auf der Basis der Analyse des Fasermaterials bleiben zwei Probleme bestehen: die große Streubreite der Ergebnisse bezüglich realer Arbeitsplätze und die Begrenzung der Gültigkeit der Aussagen auf faserförmige Materialien, die mehr oder weniger lose in eine Matrix eingebunden sind. Trotzdem tragen die bisher gewonnenen Ergebnisse zum theoretischen Verständnis des Verstaubungsverhaltens wesentlich bei, ermöglichen generelle Aussagen

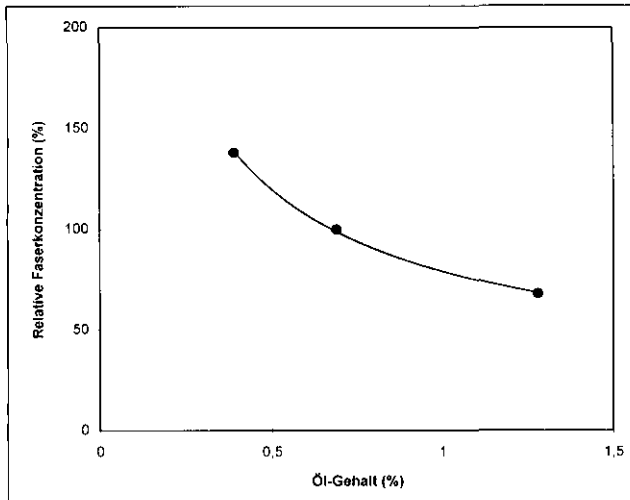


Abbildung 7:
Einfluß des Ölgehaltes auf
die Faserstaubkonzentration —
full-scale test [96]

über noch nicht untersuchte faserförmige Produkte und bilden eine gute Grundlage für die Entwicklung neuer Fasermaterialien mit günstigem Verstaubungsverhalten.

4 Laborschnelltests (*bench-scale tests*)

Zur Untersuchung des Verstaubungsverhaltens kommen für faserförmige Produkte über 20 Methoden und dabei spezielle Testapparaturen (*bench-scale dustiness test*) zur Anwendung. Die Faserstaubfreisetzung erfolgt hier durch

die Beanspruchung der Produkte durch externe Kräfte, z.B. in Form der Schwerkraft, der Fliehkraft oder durch mechanische und gasförmige Dispersion. Von den verschiedenen Methoden, wie sie z.B. in [86, 87] beschrieben werden, haben sich zwei Tests in der Laborpraxis durchgesetzt: Trommeltest (*drum test*) und Rütteltest (*shaking test*).

Der Trommeltest, wie er für pulverförmige und granuläre Materialien seit längerem angewendet wird, wurde durch Schneider und Hjemsted [85, 97] weiterentwickelt und auf unaufbereitete faserförmige Materialien ausgedehnt. Proben

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

von faserförmigen Produkten, wie von Mineralwollämmstoffen, werden durch Ausschneiden von Würfeln z.B. aus Matten gewonnen und vor dem Test unter definierten Klimabedingungen gelagert, bis sich das Gewicht (aufgrund der Feuchteaufnahme) stabilisiert hat. Der während der Rotation der Trommel (konstante Umdrehungszahl) entstehende Schwebstaub wird bei einem konstanten Luftdurchsatz abgesaugt und auf einem Filter gesammelt. Neben der einfachen gravimetrischen Auswertung des Filters besteht nach entsprechender Aufbereitung des Filters auch die Möglichkeit

der Durchführung einer differenzierten Faseranalytik. Die Versuchseinrichtung nach Schneider und Hjemsted ist schematisch in Abbildung 8 dargestellt. Ausgewählte Ergebnisse von Tests mit dieser Apparatur sind in Abbildung 9 zusammengestellt. Die so bestimmten Verstaubungsindizes können sich je nach Material um bis zu drei Zehnerpotenzen unterscheiden und für verschiedene KMF-Materialien immer noch um ca. zwei Zehnerpotenzen differieren. Die Testmethode erlaubt mit Hilfe von direktanzeigenden Meßgeräten auch die Ermittlung des zeitlichen Verlaufs der

Abbildung 8:
Trommeltest nach Hjemsted und Schneider [97] — schematischer Aufbau der Prüfeinrichtung

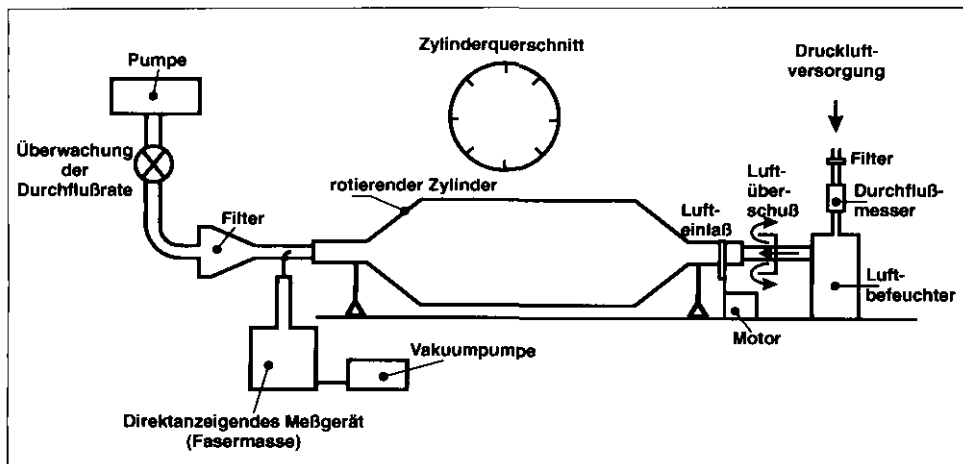
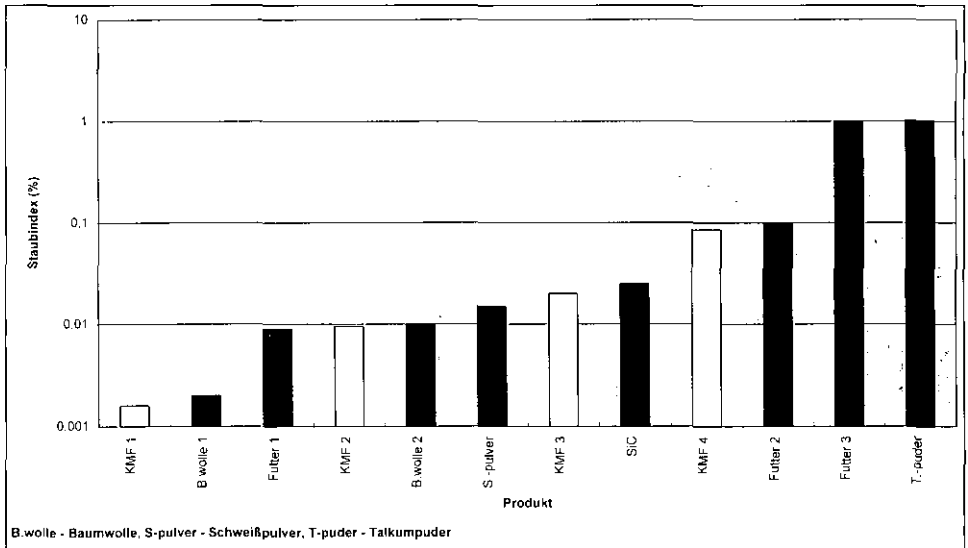


Abbildung 9:

Ausgewählte Ergebnisse der Staubindizes im Trommeltest nach Hjemsted und Schneider [97]



Massenkonzentration. Während für puderförmige oder granuläre Materialien häufig eine weitgehend kontinuierliche Staubbefreiung erfolgt, steigt für Mineralwoll-dämmstoffe die Konzentration anfangs stark an, um dann relativ schnell wieder abzufallen. Inwieweit sich die einzelnen KMF-Typen dabei voneinander unterscheiden, wurde bisher nicht untersucht. Nicht bekannt ist auch eine Korrelation der Ergebnisse der Trommeltests mit Resultaten aus anderen Labor- oder Feldversuchen. Die Trommelmethode erlaubt aber ein Ranking

der Materialien bezüglich der Staubbefreiung und soll nach Schneider und Hjemsted insbesondere als Referenzmethode für Laborschnelltests sowohl für pulverförmige und granuläre Stoffe als auch für faserförmige Produkte dienen. Inwieweit sie sich dabei u.a. für ein Ranking und Ermittlung des Niveaus der Staubbefreiung (Labeling) zwischen den unterschiedlichen Dämmstoffen — faserförmig und nichtfaserförmig — eignet, kann z.Z. nicht eingeschätzt werden, wäre aber von großem Interesse.

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

Es ist als nächster Schritt vorgesehen, das Verhältnis zwischen dem im Trommeltest ermittelten Verstaubungsverhalten und der Staubemission der Maschinen zu untersuchen [98]. Auch die Möglichkeit der Aufstellung einer Korrelation mit der Arbeitsplatzkonzentration wird gesehen [98].

Die Kritik an der Trommelmethode als Test für faserförmige Produkte basiert insbesondere auf der Tatsache, daß die Testmaterialien teilweise zerstört werden; das entspricht nicht dem praktischen Umgang mit den Faser-

produkten, soweit man den Abriß ausnimmt.

Der Rütteltest als weiterer Laborschnelltest wurde speziell für KMF-Produkte entwickelt. Dabei werden für keramische Fasern und Mineralwollämmstoffe z.Z. zwei verschiedene Testapparaturen, wie auch der schematische Aufbau zeigt (Abbildungen 10 und 11), und unterschiedliche Testbedingungen angewendet [92, 99, 100]. Zweifellos wären einheitliche Testmethoden zur Ableitung allgemeiner Erkenntnisse und des unmittelbaren Vergleichs der KMF unterein-

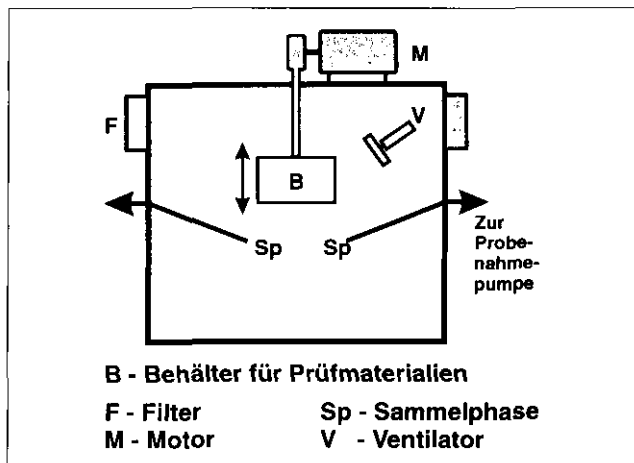


Abbildung 10:
Schematische Darstellung
der „Staubbox“; Rütteltest
für Keramikfasern nach
Class et al. [92]

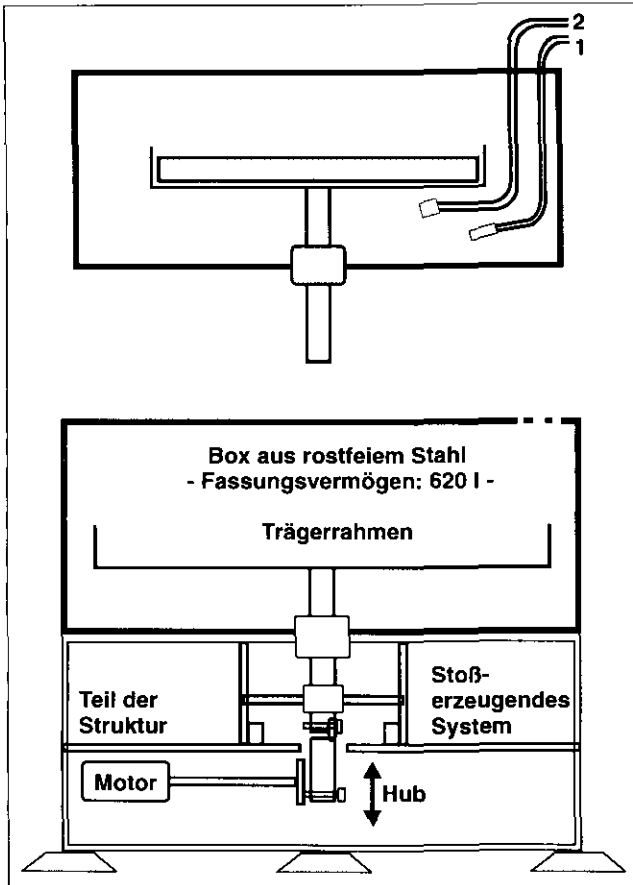


Abbildung 11:
 Rütteltestapparat mit
 Mineralwolldämmstoffen nach
 Hanton und Lindquist [99]

ander sinnvoll. Beide Methoden gestat-
 ten jedoch offensichtlich sowohl ein
 Ranking und Labeling der Testprodukte
 innerhalb der jeweiligen KMF-Klasse
 als auch die allgemeine Untersuchung

von wesentlichen Einflußgrößen. Bemer-
 kenswert ist dabei die gefundene enge
 Korrelation zwischen dem Faserdurch-
 messer und der Faserstaubkonzentration
 für keramische Fasern [92] und eine gute

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

Korrelation zwischen dem Rütteltest und dem *full-scale test* für Mineralwolldämmstoffe (Glas- und Steinwolle) [100]. Für die letzte KMF-Gruppe wurden weiterhin folgende Einflußgrößen und Abhängigkeiten untersucht:

- Faserdurchmesser
- Faserlängen- und Durchmesser-
verteilung
- Art des Faserproduktes
- (Material-)Dichte
- zeitlicher Verlauf der Faserfreisetzung
- Ölgehalt
- Luftfeuchte
- Fasermeßmethoden (REM und
Phasenkontrast-Mikroskopie)
- Zusammenhang zwischen Gesamt-
und WHO-Faserkonzentration

Eine Harmonisierung aller *bench-scale tests* wäre wünschenswert. Sollte sich beim Rütteltest herausstellen, daß unterschiedliche Testmethoden für die einzelnen KMF-Klassen sinnvoll sind, so wäre zumindest die Anwendung harmonisierter Testmethoden innerhalb einer Klasse erforderlich.

5 Prüfungen im Vollmaßstab

5.1 Allgemeines

Untersuchungen des Verstaubungsverhaltens in begehbaren Prüfkammern oder -räumen im Maßstab 1 : 1 (Vollmaßstab – *full scale*) durch Simulation der Arbeitsverfahren gehören schon lange zum Instrumentarium für die Abschätzung der Exposition [101]. Dabei stand die Bewertung der Gefahrstoffemission von Maschinen und Geräten im Vordergrund. Für diese Prüfungen ist die Europäische Normung weit fortgeschritten [102]. Die Testverfahren unterscheiden dabei auf der Ebene der Grundsatznormen nicht zwischen Staub mit sphärischen Partikeln und Faserstaub. Die Erfahrungen bei der maschinellen Bearbeitung von faserförmigen Produkten durch *full-scale tests* sind jedoch sehr begrenzt. In der Vergangenheit war die Gefahrstoffemission von Maschinen bei der Bearbeitung von asbesthaltigen Erzeugnissen der Schwerpunkt [103 bis 105]. Daß die Ausdehnung der Prüfgrundsätze auch auf andere faserförmige Produkte möglich ist, zeigen die ersten Untersuchungen von Heimann [106]. Harmonisierte Testmethoden speziell für die Emission von Faserstaub durch Maschinen sind nicht bekannt, obwohl solche Untersuchungen z.B. für Keramikfaserprodukte favorisiert werden [107].

Neben der Untersuchung des Verstaubungsverhaltens in Verbindung mit dem Einsatz von Maschinen sind *full-scale tests* auch sehr gut für die Prüfung des Verstaubungsverhaltens von Arbeitsverfahren ohne den Einsatz von Maschinen wie z.B. von Isolierarbeiten, dem Hauptanwendungsgebiet der KMF, geeignet [108]. Für Mineralwolldämmstoffe werden solche Untersuchungen, insbesondere durch die Industrie, in unterschiedlichen Testräumen und mit verschiedenem Testablauf, seit Jahren durchgeführt [85, 86, 109]. Eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse war allerdings in der Vergangenheit nicht gegeben (siehe auch Abbildung 12). Mit der Harmonisierung der Prüfmethoden

unter Leitung einer Arbeitsgruppe der European Insulation Manufacturers Association (EURIMA) wurde jetzt die Basis für standardisierte Untersuchungen zum Verstaubungsverhalten von Mineralwolldämmstoffen geschaffen.

Die große Bedeutung der *full-scale tests* zum Verstaubungsverhalten beim Umgang mit KMF wurde auch von den Fachgremien der Europäischen Union erkannt und auf dem Symposium „A Full-Scale Test of Fibre Release During Use of MMF Products“ umfassend behandelt [107]. Dabei wurden drei Hauptziele für die Entwicklung der Untersuchungsmethoden herausgestellt:

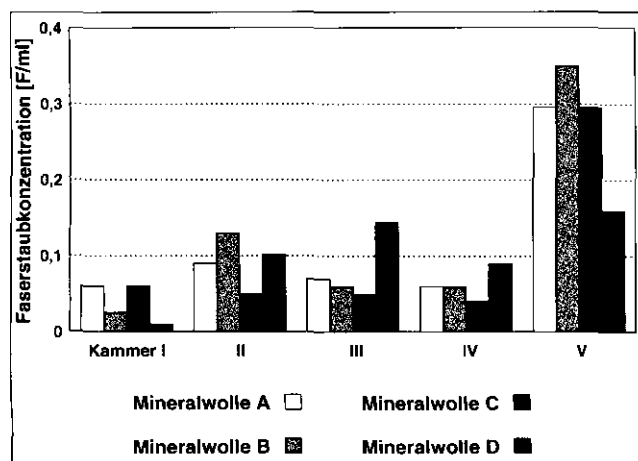


Abbildung 12: Faserstaubkonzentrationen beim *full-scale test* verschiedener Mineralwolltypen (A bis D) in verschiedenen Kammern (I bis V) nach Julier und Dybro Juhl [96]

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

1. Methoden zum Verstaubungsverhalten zur Voraussage der Arbeitsplatzkonzentrationen beim Umgang mit KMF-Isoliermaterialien.
2. Methoden zum Verstaubungsverhalten zur Abschätzung der Effektivität unterschiedlicher Werkzeuge (Maschinen) und zur Kontrolle von Technologien zur Reduzierung der Faserfreisetzung aus den Produkten.
3. Methoden zur Einschätzung des Verstaubungsverhaltens von Produkten für ein Labeling der Produkte.

Zur Umsetzung der ersten zwei Ziele wurden im Ergebnis der Expertendiskussion unterschiedliche Wege für Mineralwoll- und Keramikfaserprodukte empfohlen (siehe auch Abbildung 13). Während bei den *full-scale tests* mit Mineral-

wolldämmstoffen unter bestimmten Bedingungen meist auch eine Aussage über das Niveau der Arbeitsplatzkonzentration möglich ist — z.B. in der Form: Einhaltung bzw. dauerhaft sichere Einhaltung der Grenzwerte —, erlaubt die derzeitige Konzeption des *full-scale tests* für keramische Fasern nur die Ermittlung der erreichbaren Werte („achievable values“) der Faserstaubemission auf der Basis des Standes der Technik der eingesetzten Maschinen, was der (derzeitigen) Zielstellung bei der Untersuchung von Maschinen entspricht. Daß aber auch hier generell Abschätzungen bezüglich der Einhaltung von Grenzwerten möglich sind, belegen frühere Untersuchungen mit asbesthaltigen Produkten [105].

Ausgehend von der Zieldefinition sind realistische und anwendungsbezogene

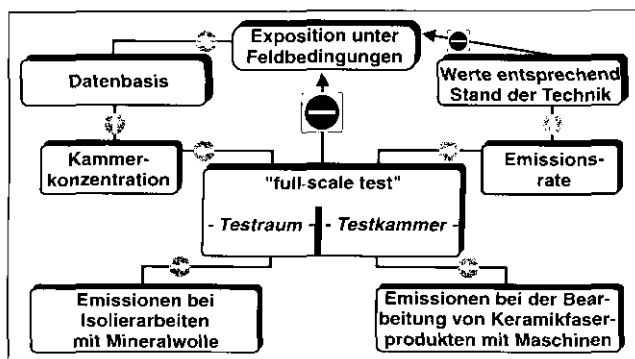


Abbildung 13:
Full-scale tests für Mineralwolle und Keramikfasern — Wege der Umsetzung für die Praxis (vereinfachte Darstellung)

Prüfverfahren zu entwickeln. Dazu gehören die praxisnahe Simulation von Arbeitsverfahren mit Emissionskonzentrationen, die in der selben Größenordnung wie in realen Arbeitsräumen liegen, auch wenn idealisierte Arbeitsverfahren ausgewählt und die Konzentrationen z.T. unter Worst-case-Verhältnissen bestimmt werden. Zur Festlegung der Simulationsbedingungen ist die Kenntnis aller relevanten Einflußgrößen erforderlich. Bei vorgegebenen faserförmigen Produkten können dies insbesondere sein [85, 109, 110]:

- Handling (Art der Handhabung einschließlich Arbeitsintensität und -dauer)
- Materialmenge
- Raumdimensionen
- Lüftung
- Klimabedingungen
- Werkzeuge und Maschinen (ggf. einschließlich der Staubabsaugung und -abscheidung).

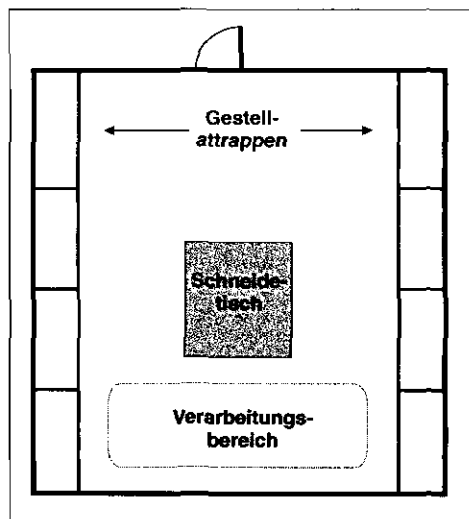
Es hat sich gezeigt, daß die Bedeutung einzelner Einflußgrößen erst im *full-scale test* selbst ermittelt werden konnte.

5.2 Full-scale test für Mineralwolldämmstoffe

Zur Untersuchung des Verstaubungsverhaltens von Mineralwolldämmstoffen im

Vollmaßstab stehen verschiedene Prüfräume, insbesondere bei den Herstellerbetrieben von Glas- und Steinwolle, zur Verfügung (siehe auch Tabelle 1 auf Seite 314). Der Aufbau dieser Prüfräume ist schematisch in Abbildung 14 wiedergegeben; die Abbildungen 15 und 16 (siehe Seite 315) zeigen die Außen- und Innenansicht eines solchen Raumes. In den Kammern sind entsprechende Attrappen (Dummies) aufgebaut, und die Dämmstoffe werden in die Dummies eingebracht oder auf die Dummies eingebracht. Zur Simulation der Isolierarbeiten, wie sie im Hochbau typisch

Abbildung 14:
Schema Prüfraum — harmonisierte Prüfbedingungen



III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

Tabelle 1:
Prüfraumparameter von europäischen KMF-Prüflabors

Land	Raumparameter					RLT	
	L	B	H	A	V	ja	nein
	m	m	m	m ²	m ³		
S _I	7,90	2,70	2,35	21,7	51,1	(X)	
S _{II}	4,00	3,50	2,40	14,0	33,6		X
GB	2,75	2,40	3,00	6,6	19,8	X	
DK _I	7,64	4,04	2,70	30,9	83,3		X
DK _{II}	2,90	2,78	2,69	8,1	21,7		X
DK _{III}	6	3	2,5	18	45		X
D	5,40	3,20	2,60	17,3	45	X	

S = Schweden
 GB = Großbritannien
 DK = Dänemark
 D = Deutschland
 RLT = Raumluftechnische Anlagen

L = Länge
 B = Breite
 H = Höhe
 A = Fläche
 V = Volumen

sind, dienen dazu meist (Holz-) Rahmen-gestelle (Abbildung 17, siehe Seite 316), und für die Technische Isolierung kommen verschiedene Rohratrappen (Abbildung 18, siehe Seite 316) zur Anwendung. Trotz scheinbar weitgehend ähnlicher Handhabung weichen die ermittelten Faserstaubkonzentrationen für den gleichen Dämmstoff in den einzelnen Prüfräumen stark voneinander ab

(siehe auch Abbildung 12, Seite 311). Dafür verantwortlich sind die unterschiedlichen Prüfbedingungen, wie u.a. bezüglich der Raumdimensionen, der eingebrachten Materialmenge oder der Lüftungsverhältnisse. So besitzt z.B. der relativ große Prüfraum 3 eine sehr effektive Raumlüftung, während der sehr kleine Prüfraum 5 nicht be- und entlüftet wird.

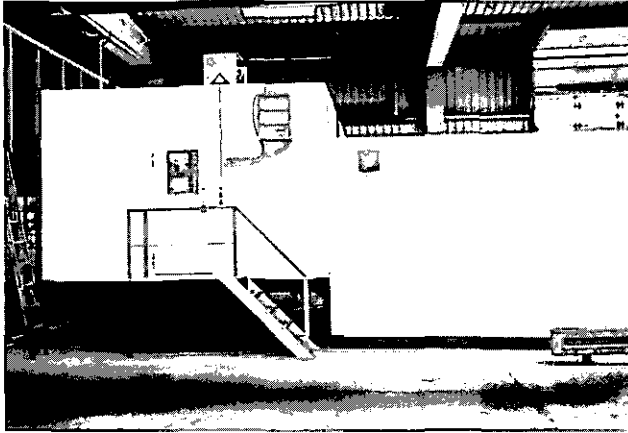


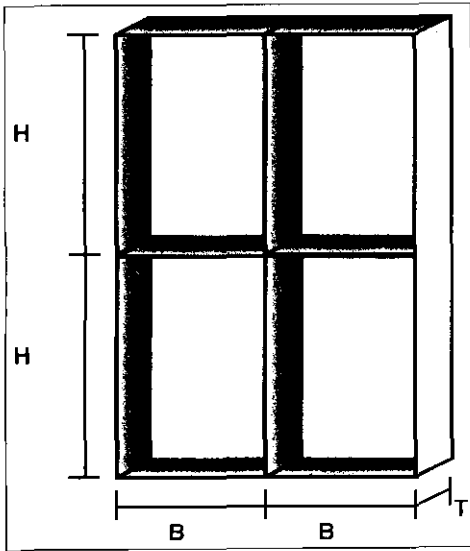
Abbildung 15:
Full-scale-Testkammer —
Außenansicht



Abbildung 16:
Full-scale-Testkammer —
Innenansicht mit Attrappe
(Dummy) zur Simulation der
Isolierarbeiten des Hochbaus

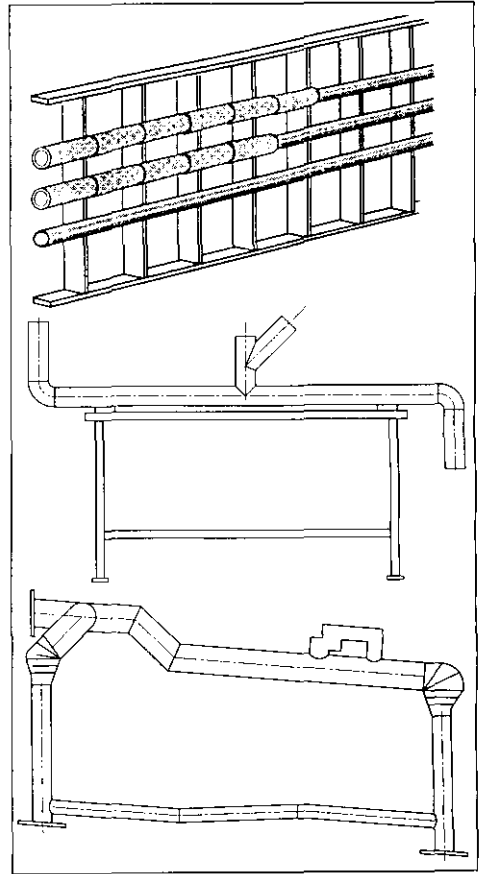
III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

Abbildung 17:
Gestellattrappe für acht in zwei Lagen anzubringende Mineralwollplatten



Der Idealfall wäre ein standardisierter Prüfraum, mit vorgegebenen Raumabmessungen und definierten Lüftungs- und Klimabedingungen (z.B. gemäß Abbildung 19, siehe Seite 317). Wie Untersuchungen in den unterschiedlich großen Prüfräumen ergeben haben, lassen sich unter sonst harmonisierten Prüfbedingungen vergleichbare Ergebnisse jedoch dann erzielen, wenn das Verhältnis der Dämmaterialmenge zur Kammergröße in einem bestimmten Verhältnis steht. Hierzu wurden u.a. in einem Test die Prüf-

Abbildung 18:
Attrappen für die Rohrleitungsisolierung



kammergröße (durch Abtrennung) auf ca. 40 % reduziert und die Testergebnisse mit denen bei voller Raumgröße

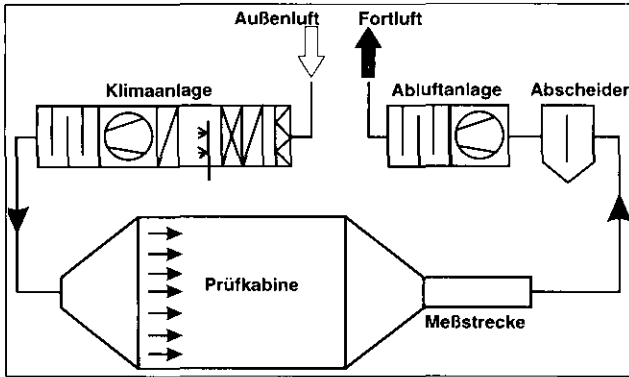


Abbildung 19:
Prüfstand zur Messung
der Emissionsrate

verglichen. Alle Meßergebnisse lagen in der gleichen Größenordnung. Trotzdem sollten sich die Prüfraumabmessungen nur innerhalb bestimmter Grenzen bewegen, wobei die Prüfraumgröße auch dadurch entscheidend bestimmt wird, daß eine ausreichende Bewegungsfreiheit für die Simulation der Arbeiten ebenso erforderlich ist, wie eine genügend lange Zeit für die Isolierarbeiten. Letzteres ist insbesondere notwendig, um eine ausreichende Probenahmezeit für eine genügend niedrige meßtechnische Nachweisgrenze der Faserstaubkonzentration zu gewährleisten.

Wie aus theoretischen Überlegungen ableitbar und aus der Praxis mit anderen Gefahrstoffen bekannt, ist die Vorgabe eines bestimmten Luftwechsels oder gar die Umrechnung unterschiedlicher Luft-

wechsel in den einzelnen Prüfräumen zur Erzielung vergleichbarer Ergebnisse zum Verstaubungsverhalten nicht ausreichend, da auch die Art der Luftführung und -verteilung eine wesentliche Rolle auf das Konzentrationsniveau spielt. Dies zeigte sich auch in den Versuchsräumen beim Umgang mit Mineralwollstäubstoffen. So bewirkte z.B. die Erhöhung des Luftwechsels auf 1,5 in einem Prüfraum mit guter Luftverteilung eine Reduzierung der Faserstaubkonzentration um das Vierfache, während in einem anderen Prüfraum mit ungleichmäßiger Durchströmung die Erhöhung der Luftwechselrate von 3 auf 9 nur zu einer Reduzierung der Konzentration um ca. ein Drittel führte. Eine Luftführung, wie sie sich zur Bestimmung der Emissionsrate von Maschinen in Versuchskammern bewährt hat (Abbildung 19), ist für die Prüfung

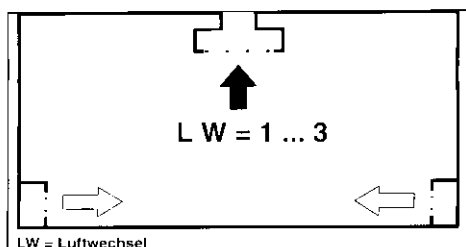
III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

von Mineralwollämmstoffen aus zwei Gründen nicht geeignet: Zum einen bewirken die hohen Luftwechselraten eine derartig geringe Faserstaubkonzentration, daß die Fasermeßtechnik an ihre Grenzen stößt. Zum anderen werden durch die Dummies, zumindest bei Simulation der Isolierarbeiten im Hochbau, größere Teile der Raumfläche für die Durchströmung verstellt, so daß eine definierte Luftströmung nicht mehr gegeben ist. Zur Bestimmung der Emissionskonzentration wird bei der in Abbildung 20 gezeigten Versuchseinrichtung die Abluftmenge soweit reduziert, daß z.B. nur noch ein 2,5facher Luftwechsel erfolgt [106]. Damit ergeben sich Konzentrationen in der Größenordnung der realen Arbeitsplätze (z.T. sogar Worst-case-Verhältnisse), die meßtechnisch auch für die Ermittlung der Faserstaubkonzentration kein Problem darstellen. Von einer definierten Luftströmung kann allerdings nicht mehr gesprochen werden. Für die Luftführung und -verteilung wird deshalb in [101] eine andere einfache Variante vorgeschlagen, wie sie Abbildung 21 wiedergibt. Diese Variante gestattet vor allem den nachträglichen Einbau der Luftverteiler und Erfassungselemente in bestehende Versuchsräume. Die Luftwechselraten sollten etwa zwischen 1 und 3 wahlweise einstellbar sein; dies entspricht sowohl den Bedingungen in der Praxis als auch in Prüf-

Abbildung 20:
Prüfkammer zur Bestimmung der Emissionsrate für Maschinen — Innenansicht



Abbildung 21:
Vorschlag für die Luftführung im Prüfraum



räumen und -kammern bei Tests mit anderen Gefahrstoffen. Momentan hat man sich als pragmatischen Kompromiß jedoch darauf verständigt, für die harmonisierten Prüfbedingungen auf eine Lüftung der Prüfräume generell zu verzichten. Dies stellt bezüglich der Lüftungsbedingungen die ungünstigste Situation dar — ein Ansatz wie er bei solchen Tests nicht unüblich ist. Damit sind bezüglich der Lüftungsverhältnisse alle Prüfräume vergleichbar.

Wie eingangs erwähnt, finden bei den harmonisierten Prüfbedingungen die unterschiedlichen Raumgrößen dadurch Berücksichtigung, in dem der Beladungsfaktor — Verhältnis des eingebrachten Materials (m^2) zum Kammervolumen (m^3) — konstant gehalten wird. Es hat sich ein Beladungsfaktor von ca. $0,7 m^2/m^3$ als brauchbar für alle vorhandenen Prüfräume erwiesen, da damit noch eine ausreichend lange Testzeit und somit auch Probenahmezeit für die kleinste Kammer erreicht wird. Man muß sich jedoch darüber im klaren sein, daß mit der Einführung des Beladungsfaktors nicht vollkommen einheitliche Bedingungen simuliert werden können und dies somit nur eine mehr oder weniger gute Näherung darstellt. Gegebenenfalls muß zusätzlich ein experimentell ermittelter Umrechnungsfaktor für die einzelnen Kammern eingeführt werden.

Aus der Praxis bekannt und durch Prüfraumversuche belegt ist der große Einfluß des Handlings mit Mineralwoll-dämmstoffen auf die Faserstaubkonzentration. Die exakte Vorgabe jedes einzelnen Schrittes für die Durchführung der Isolierarbeiten ist deshalb unumgänglich. Dabei hat es sich bewährt, das Handling durch ein „Muster“-Video zu demonstrieren. Trotzdem ist es sehr schwierig, die Arbeitsintensität (Arbeitsgeschwindigkeit) vorzuschreiben. Um die Rolle der Arbeitsintensität abzuschätzen, wurde in einer speziellen Testserie einmal die Arbeitsgeschwindigkeit etwa halbiert und einmal etwa verdoppelt. Überraschenderweise ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Faserstaubkonzentration bei den einzelnen Arbeitsgeschwindigkeiten. Daraus darf gefolgert werden, daß geringe Abweichungen von der „normalen“ Arbeitsgeschwindigkeit, wie sie bei den Versuchen zu erwarten sind, ohne Einfluß auf die Testraumkonzentration sind.

Es ist bekannt, daß das Verstaubungsverhalten auch durch die Klimabedingungen beeinflusst wird. Dabei spielt die Temperatur meist eine untergeordnete Rolle und kann im üblichen Temperaturbereich, wie er in Prüfräumen auftritt, vernachlässigt werden. Dies gilt prinzipiell auch für faserförmige Materialien. Demgegenüber kann die Luftfeuchte die Staubfreisetzung wesentlich beeinflussen.

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

Im Vordergrund steht dabei die *Materialfeuchte*, während angenommen wird, daß die Luftfeuchte während des eigentlichen Prüfungsvorgangs keinen so großen Einfluß auf die Staubfreisetzung besitzt. Häufig verringert sich die Staubemission mit wachsender Feuchte. In einigen Fällen hat der Trommeltest aber auch gezeigt, daß sich mit zunehmender Luftfeuchte bei bestimmten Materialien die Staubfreisetzung erhöht. Gesicherte (theoretische) Erklärungen für diese Phänomene konnten nicht gefunden werden. In den *full-scale tests* wurde für Mineralwoll-dämmstoffe ein gravierender Einfluß der Luftfeuchte ermittelt und durch den Rütteltest bestätigt. Entgegen den Erwartungen ist die Faserstaubfreisetzung um so größer, je höher die relative Luftfeuchte ist. Bei den betreffenden Versuchen wurden die Materialien entsprechend lange bei einer konstanten Feuchte vorher gelagert. Der Versuchsraum hatte zu Beginn der Tests die gewünschte relative Feuchte, die während der Prüfungen dann allerdings entweder etwas anstieg oder abfiel, da die Klimaanlage gemäß den harmonisierten Testbedingungen abgeschaltet wurde. Obwohl es z.Z. keine speziellen Untersuchungen über die Rolle der Luftfeuchte während der eigentlichen Prüfzeit gibt, wird angenommen, daß primär die Materialfeuchte das Verstaubungsverhalten entscheidend be-

einflußt, wenn die Raumlufffeuchte sich nicht wesentlich ändert. Unter dieser Voraussetzung ist es ausreichend, wenn die Materialfeuchte vorgegeben wird (z.B. auch indirekt über eine entsprechend lange Lagerung bei einer bestimmten Temperatur und relativen Feuchte) und die Luftfeuchte im Versuchsraum innerhalb bestimmter Grenzen wie z.B. zwischen 40 und 60 % liegt.

Der Testablauf für Mineralwoll-dämmstoffe sieht — wie an realen Arbeitsplätzen — das Zuschneiden der Materialien vor. Auch die dabei eingesetzten Werkzeuge beeinflussen die Faserstaubfreisetzung. Nicht nur die Art des Werkzeuges (z.B. Messer) ist wichtig, sondern auch eine genaue Vorgabe des Typs, wie beispielsweise die Tests mit verschiedenen Messern zeigen (Abbildung 22).

Alle relevanten, bekannten und vermuteten Einflußgrößen auf das Verstaubungsverhalten von Mineralwoll-dämmstoffen wurden in verschiedenen Prüfräumen und Testserien bei Simulation der Isolierarbeiten des Hochbaus untersucht und daraus die vorzugebenden Parameter für die harmonisierten Prüfungen abgeleitet (siehe auch Tabelle 2). Es kommt jetzt darauf an, diese harmonisierten Prüfbedingungen auf europäischer Ebene festzuschreiben.

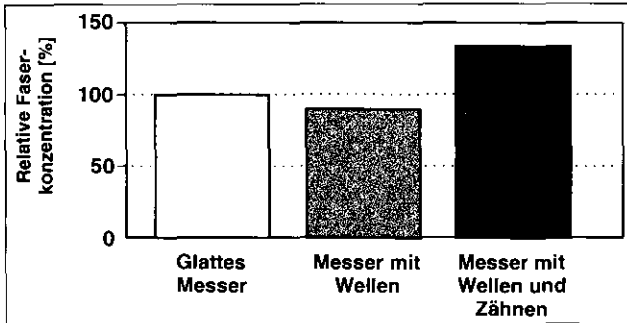


Abbildung 22:
Relative Faserstaubkonzentration in Abhängigkeit von den verwendeten Messertypen — *full-scale test* mit Glaswolle — nach Julier und Dybro Juhl [96]

Tabelle 2:
Raum- und Prüfbedingungen für den *full-scale test* (Hochbau)

Kammer (Raum)	Raum: 30 bis 60 m ³ Höhe: 2,3 bis 3,0 m Länge/Breite: 1 : 1 bis 3 : 1
Lüftung	Luftwechsel: < 0,1 h ⁻¹ Temperatur: 20 ± 2 °C Luftfeuchte: 50 ± 5 % r.F.
Beladungsfaktor	Isolierte Fläche/Raumvolumen: 0,7 m ⁻² /m ³
Dummy	konstante Gestellabmessungen; Anzahl entsprechend Raumgröße
Zuschneidetisch	Abmessungen vorgegeben
Werkzeug	Messertyp vorgegeben
Probenahme, Auswertung	stationäre und personengetragene Probenahme Auswertung nach VDI/WHO
Raumreinigung	Raum- und Dummyreinigung Messung der Hintergrundbelastung

III Tests zum Verstaubungsverhalten von künstlichen Mineralfasern

Eine Harmonisierung der Prüfbedingungen für den Bereich der technischen Isolierung wird diskutiert. Wesentliche Parameter der Prüfbedingungen für den Hochbau können übernommen werden, so daß die Wahl geeigneter Dummies im Vordergrund stehen dürfte.

Für andere faserförmige Produkte gibt es z.Z. keine vergleichbaren Untersuchungen und Vorschläge für harmonisierte Prüfbedingungen. Eine Reihe grundsätzlicher Erkenntnisse, wie sie mit den Mineralwolldämmstoffen gewonnen wurde, läßt sich jedoch auch auf die Aufstellung entsprechender Testmethoden für die anderen Produkte übertragen bzw. ist hierbei zu berücksichtigen.

5.3 Full-scale test für keramische Fasern

Prinzipiell sind *full-scale tests* für Keramikfaserprodukte in ähnlicher Form wie für Mineralwolldämmstoffe denkbar. Vorschläge für derartige Prüfungen wurden von Barig u.a. [111] für die Technologie der Ofenzustellung gemacht. Dabei zeigte sich aber bereits, daß für die Nachstellung „typischer“ Verfahrensschritte eine größere Anzahl von Simulationen und die Berücksichtigung des Einsatzes von Bearbeitungsgeräten (z.B. Handbohrmaschinen) erforderlich ist. Für die Mehrzahl der weiteren Anwen-

dungsfälle von Keramikfaserprodukten lassen sich verallgemeinerungswürdige Simulationstechniken nicht ableiten. Unter diesen Aspekten ist es verständlich, wenn auf europäischer Ebene für *full-scale tests* nur in Verbindung mit dem Einsatz von Maschinen plädiert wurde. Dabei geht es darum, die Emissionsrate bei Simulation von Bearbeitungsprozessen der Keramikfaserprodukte mit diesen Geräten zu bestimmen und die Verfahren bzw. Bearbeitungsgeräte zu ermitteln, die die niedrigste Emissionsrate entsprechend dem Stand der Technik aufweisen (sog. „erreichbare Werte“, „*achievable values*“). Es soll auf harmonisierte Testmethoden mit Testkammern, wie z.B. von Bauer und Heimann [102] beschrieben, zurückgegriffen werden. Zur Zeit gibt es noch keine Untersuchungen mit Keramikfaserprodukten. Erste Anhaltspunkte können jedoch entsprechende Untersuchungen von Heimann [106] bei der maschinellen Bearbeitung von Faserzementprodukten bieten. Die Erstellung und Erprobung spezieller, geeigneter Testmethoden für Keramikfaserprodukte wird für notwendig erachtet.

Auch nach Vorliegen entsprechender Tests läßt sich damit noch keine Abschätzung des zu erwartenden Konzentrationsniveaus am Arbeitsplatz machen. Man könnte in Anlehnung an die Methoden zur Untersuchung von Asbestbearbeitungsmaschinen [106] in diesen

Testkammern auch die Faserstaubkonzentration bestimmen und versuchen, eine Korrelation mit der Faserstaubemission herzustellen. Dies gilt prinzipiell für diese Bearbeitungsvorgänge als denkbar. An den realen Arbeitsplätzen hat man es in der Regel jedoch mit einer Kombination unterschiedlicher Tätigkeiten zu tun, bei der die maschinelle Bearbeitung nur eine Arbeitsphase darstellt.

Es wird eingeschätzt, daß *full-scale tests* zur Minimierung der Staubfreisetzung bei der maschinellen Bearbeitung von Keramikfaserprodukten sinnvoll sind. Inwieweit darüber hinaus auch Aussagen zum Verstaubungsverhalten unterschiedlicher

Produkte und zur Abschätzung der Arbeitsplatzkonzentration möglich sind, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

6 Abschlußbemerkung

Es wurde schon dargelegt, daß als Ziel die Schaffung europäisch harmonisierter Normen zur Bestimmung des Verstaubungsverhaltens angestrebt wird. Im Vorfeld ist vorgesehen, baldmöglichst bewährte Methoden bereits als Empfehlung zur Erprobung in der BIA-Arbeitsmappe Messung von Gefahrstoffen [112] auszuschreiben.

IV Nachtrag: Relevante Entwicklungen im Regelwerk

Während der Drucklegung des vorliegenden BIA-Reports wurden sowohl auf nationaler als auch auf europäischer Ebene wichtige Beschlüsse zur Einstufung künstlicher Mineralfasern gefaßt.

□ Auf seiner 23. Sitzung am 17./18. November 1997 verabschiedete der Ausschuß für Gefahrstoffe (AGS) folgende Änderung des Absatzes 4 der Nr. 2.3 „Anorganische Faserstäube (außer Asbest)“ der TRGS 905 (Verzeichnung krebserzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe):

„(4) Die Einstufung der glasigen WHO-Fasern kann auch durch Bestimmung der In-vivo-Biobeständigkeit erfolgen. Danach erfolgt eine Einstufung in die Kategorie 3 der krebserzeugenden Stoffe, wenn für glasige WHO-Fasern nach intratrachealer Instillation von 2 mg einer Fasersuspension eine Halbwertszeit von mehr als 40 Tagen ermittelt wurde. Kriterien für die Einstufung in die Kategorie 2 sind noch zu erarbeiten.“

Dieser Passus soll Anfang 1998 im Bundesarbeitsblatt veröffentlicht werden.

□ Die „Richtlinie 97/69/EG der Kommission zur dreiundzwanzigsten Anpassung der Richtlinie 67/548/EWG des Rates zur Angleichung der Rechts- und Verwal-

tungsvorschriften für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe an den technischen Fortschritt“ ist datiert vom 5. Dezember 1997 [114]. Darin werden folgende Einstufungen vorgenommen:

„— Mineralwolle, soweit (...) nicht gesondert aufgeführt; [Künstlich hergestellte ungerichtete glasige (Silikat-)Fasern mit einem Anteil an Alkali- und Erdalkali-metalloxiden [$\text{Na}_2\text{O} + \text{K}_2\text{O} + \text{CaO} + \text{MgO} + \text{BaO}$] von über 18 Gewichtsprozent“: Carc. Cat. 3.

Es gelten die Anmerkungen A, Q und R (siehe unten).

„— Keramische Mineralfasern, Fasern für spezielle Anwendungen, soweit (...) nicht gesondert aufgeführt, [Künstlich hergestellte ungerichtete glasige (Silikat-)Fasern mit einem Anteil an Alkali- und Erdalkali-metalloxiden ($\text{Na}_2\text{O} + \text{K}_2\text{O} + \text{CaO} + \text{MgO} + \text{BaO}$) von weniger oder gleich 18 Gewichtsprozent]“: Carc. Cat. 2.

Es gelten die Anmerkungen A und R.

Während die Anmerkung A allgemeine Hinweise zur korrekten Bezeichnung eines Stoffes auf dem Kennzeichnungsschild gibt, beschreiben die Anmerkungen Q und R konkrete Freizeichnungskriterien für KMF, wobei auch Biopersistenztests Berücksichtigung finden:

„Anmerkung Q:

Die Einstufung als krebserzeugend ist nicht zwingend, wenn nachgewiesen wird, daß der Stoff eine der nachstehenden Voraussetzungen erfüllt:

— Mit einem kurzfristigen Inhalationsbiopersistenztest wurde nachgewiesen, daß die gewichtete Halbwertszeit der Fasern mit einer Länge von über $20\ \mu\text{m}$ weniger als 10 Tage beträgt.

— Mit einem kurzfristigen Intratrachealbiopersistenztest wurde nachgewiesen, daß die gewichtete Halbwertszeit der Fasern mit einer Länge von über $20\ \mu\text{m}$ weniger als 40 Tage beträgt.

— Ein geeigneter Intraperitonealtest hat keine Anzeichen von übermäßiger Karzinogenität zum Ausdruck gebracht.

— Abwesenheit von relevanter Pathogenität oder von neoplastischen Veränderungen bei einem geeigneten Langzeitinhalationsstest.

Anmerkung R:

Die Einstufung als krebserzeugend ist nicht zwingend für Fasern, bei denen der längengewichtete mittlere geometrische Durchmesser abzüglich der zweifachen Standardabweichung größer ist als $6\ \mu\text{m}$."

Vor dem Hintergrund der teilweise abweichenden deutschen Regelsetzungen prüft das Bundesministerium für Arbeit und Sozialordnung derzeit, inwieweit die 23. Anpassungsrichtlinie in nationales Recht überführt werden kann.

V Literatur

- [1] Muhle, H.: Respirationstrakt. In: Marquardt, H., Schäfer, S.G. (Hrsg.): Lehrbuch der Toxikologie. Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich: BI-Wissenschaftsverlag 1994, S. 218 - 233
- [2] Pott, F., Roller, H.: Krebsrisiko durch künstliche Fasern — Daten, Bewertung und Regulation. Zbl. Arbeitsmed. 45 (1995), S. 490 - 502
- [3] Boffetta, P., Saracci, R., Anderson, A., et al.: Cancer mortality among man-made vitreous fiber production workers. *Epidemiology* 8 (1997), S. 259 - 268
- [4] Rödelsperger, K.: Anorganische Fasern im menschlichen Lungengewebe. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsmedizin, Forschung, Fb 01 HK 076. Berlin 1996
- [5] Pott, F.: Die Faser als krebserzeugendes Agens. Zbl. Bakt. Hyg. B 184 (1987), S. 1 - 23
- [6] Pott, F., Roller, M.: Die krebserzeugende Wirkung von Fasern unter besonderer Berücksichtigung von Inhalationsexperimenten. In: Umwelthygiene Bd. 25, S. 178 - 247. Jahresbericht 1992/93 des Medizinischen Instituts für Umwelthygiene. Hrsg.: Gesellschaft zur Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e.V. Düsseldorf: Stefan W. Albers 1993
- [7] Tiesler, H.: Dämmstoffe aus Mineralwolle-Herstellung, Verwendung, Toxikologie. In: Gefahrstoffe 1993. Wiesbaden: Universum Verlagsanstalt 1993
- [8] The relationship between product nominal diameter and airborne fibre concentration. Report by the ad hoc working party set up at the request of the DG XI Group on Dangerous Substances, 1994
- [9] Muhle, H., Bellmann, B.: Überblick zu Verfahren zur Bestimmung der Biobeständigkeit von Fasern. VDI-Berichte 1075 (1993), S. 237 - 251
- [10] Technische Regeln für Gefahrstoffe: Verzeichnis krebserzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe (TRGS 905). B ArbBl. (1997) Nr. 6, S. 40 - 46
- [11] Welzbacher, U.: Einstufung von künstlichen Mineralfasern. Die BG (1994), S. 684 - 687
- [12] Wardenbach, P.: Toxikologische Bewertung künstlicher Mineralfasern. Sichere Arbeit (1995) Nr. 6, S. 19 - 24
- [13] Technische Regeln für Gefahrstoffe: Grenzwerte in der Luft am Arbeitsplatz — Luftgrenzwerte (TRGS 900). B ArbBl. (1996) Nr. 10, S. 106 - 128

- [14] Technische Regeln für Gefahrstoffe: „Faserstäube“ (TRGS 521). BArbBl. (1996) Nr. 10, S. 96 - 105
- [15] *Bignon, J., Brochard, P., Brown, R., et al.*: Assessment of the toxicity of man-made fibres. *Ann. Occup. Hyg.* 39 (1995), S. 89 - 106
- [16] *Brochard, P., Bignon, J.*: Proposal of a tiered approach to assessing and classifying the health risk of exposure to fibres. *Ann. Occup. Hyg.* 39 (1995), S. 737 - 745
- [17] *Brown, R.C., Pigott, G.H., Alexander, I., et al.*: Classification of MMMF. *Ann. Occup. Hyg.* 39 (1995), S. 135-140
- [18] Verordnung über gefährliche Stoffe (Gefahrstoffverordnung (GefStoffV)) vom 26. August 1996, BGBl. S. 1470 ff.
- [19] *Bernstein, D.M., Mast, R., Anderson, R., et al.*: An experimental approach to the evaluation of the biopersistence of respirable synthetic fibers and minerals. *Environ. Health Perspect.* 102 (1994) Nr. 5, S. 15 - 18
- [20] *Bernstein, D.M., Morscheidt, C., Tiesler, H., et al.*: Evaluation of the biopersistence of commercial and experimental fibers following inhalation. *Inhal. Toxicol.* 7 (1995), S. 131 - 158
- [21] *Bernstein, D.M., Morscheidt, C., Grimm, H.G., et al.*: Evaluation of soluble fibers using the inhalation biopersistence model, a nine-fiber comparison. *Inhal. Toxicol.* 8 (1996), S. 345 - 385
- [22] *Bernstein, D., Morscheidt, C., de Meringo, A., et al.*: The relationship of acellular in-vitro dissolution to inhalation biopersistence. *Environ. Health Perspect* (im Druck)
- [23] *Hesterberg, T.W., Müller, W.C., Musselman, R.P., et al.*: Biopersistence of man-made vitreous fibres and crocidolite asbestos in the rat lung following inhalation. *Fundam. Appl. Toxicol.* 29 (1996), S. 267 - 279
- [24] *Musselman, R.P., Müller, W., Eastes, W., et al.*: Biopersistence of crocidolite versus man-made vitreous fibers in rat lungs after brief exposures. In: *Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract*. Washington: ILSI press 1994, S. 451 - 454
- [25] Auswertung der Expertenanhörung, 9./10. Dezember 1993, Berlin. In: *Fischer (Hrsg.): Krebsgefährdung durch künstliche Mineralfasern*. bga-Schrift (1994) Nr. 4, S. 17 - 23

- [26] *Roller, M., Pott, F., Kamino, K., et al.*: Results of current intraperitoneal carcinogenesis studies with mineral and vitreous fibres. *Exp. Toxicol. Pathol.* 48 (1996), S. 3 - 12
- [27] *Pott, F., Roller, M., Althoff, G.-H.*: Krebsrisiko durch Fasern — ein zusammenfassender Vergleich von epidemiologischen und tierexperimentellen Daten. Medizinisches Institut für Umwelthygiene, Jahresbericht 1994/1995, Band 27
- [28] *Pepelko, W.E.*: Feasibility of dose adjustment based on differences in long-term clearance rates of inhaled particulate matter in humans and laboratory animals. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 7 (1987), S. 236 - 252
- [29] *Pott, F., Roller, M.*: Die krebserzeugende Wirkung von Fasern unter besonderer Berücksichtigung der Inhalationsversuche. Bundesanstalt für Arbeitsschutz (Hrsg.). Projekt 1217, Gründruck, Dortmund 1993
- [30] *Everitt, J.I., Bermudez, E., Mangum, J.B., et al.*: Pleural lesions in Syrian golden hamsters and fischer — 344 rats following intrapleural instillation of man-made ceramic or glass fibers. *Toxicol. Pathol.* 22 (1994), S. 229 - 236
- [31] *Bellmann, B., Muhle, H.*: Biobeständigkeit verschiedener Mineralfasertypen in der Rattenlunge nach intratrachealer Applikation. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz, Forschung Fb 711. Dortmund 1995
- [32] *Harris, R.L., Fraser, D.A.*: A model for deposition of fibres in the human respiratory system. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 37 (1976), S. 73 - 89
- [33] *Bellmann, B., Muhle, H.*: Investigation of the biodegradability of wollastonite and xonotlite. *Environ. Health Perspect.* 102 Suppl. 5 (1994), S. 191 - 195
- [34] *Bellmann, B., Muhle, H.*: Untersuchungen zur Biobeständigkeit von Wollastonitfasern (Study on the biodegradability of wollastonite fibres). *Zbl. Arbeitsmed.* 44 (1994), S. 118 - 123
- [35] *Bellmann, B., Muhle, H., Kamstrup, O., Draeger, U.F.*: Investigation of the biodegradability of man-made vitreous fibers in rat lungs. *Environ. Health Perspect.* 102 Suppl. 5 (1994), S. 185 - 189
- [36] *Bellmann, B., Muhle, H., Kamstrup, O., Draeger, U.F.*: Investigation of the biodegradability of chemically different stone wool fibres. *Exp. Toxicol. Pathol.* 47 (1995), S. 195 - 201

- [37] *Bellmann, B., Muhle, H., Creutzenberg, O., et al.*: Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fund. Appl. Tox.* 17 (1991), S. 300 - 313
- [38] *Muhle, H., Bellmann, B., Heinrich, U.*: Overloading of lung clearance during chronic exposure of experimental animals to particles. *Ann. Occup. Hyg.* 32, Suppl. 1 (1988), S. 141 - 147
- [39] *Muhle, H., Bellmann, B., Creutzenberg, O., et al.*: Dust overloading of lungs after exposure of rats to particles of low solubility. Comparative studies. *J. Aerosol Sci.* 21 (1990), S. 374 - 377
- [40] *Bermudez, E.*: Recovery of particles from the pleural cavity using agarose casts: a novel method for the determination of fiber dose to the rat pleura. *Inhal. Toxicol.* 6 (1994), S. 115 - 124
- [41] *Henderson, R.F., Mauderly, J.L., Pickrell, J.A., et al.*: Comparative study of bronchoalveolar lavage fluid: effect of species, age and method of lavage. *Exp. Lung Res.* 13 (1987), S. 329 - 342
- [42] *Griffith, O.W.*: Glutathione and glutathione disulphide. In: *Methods of enzymatic analysis*. H.V. Bergmann (Hrsg.). 3. Aufl., Bd. VIII, S. 521 - 529 Weinheim: VCH-Verlagsgesellschaft 1986
- [43] *Boehme, D.S., Hotchkiss, J.A., Henderson, R.F.*: Glutathione and GSH-dependent enzymes in bronchoalveolar lavage fluid cells in response to ozone. *Exp. Mol. Pathol.* 56 (1992), S. 37 - 48
- [44] *Greim, H.* (Hrsg.): *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten*. Weinheim: Wiley-VCH 1993 — Losebl.-Ausg.
- [45] *Schlesinger, R.B.*: Deposition and clearance of inhaled particles. In: *Concepts in inhalation toxicology*. McClellan, R.O., Henderson, R.F. (Hrsg.). New York: Hemisphere Publ. (1989), S. 163 - 192
- [46] *Yu, C.P., Asgharian, B.*: Mathematical models of fiber deposition in the lung. In: *Fiber Toxicology*. Warheit, D.B. (Hrsg.). San Diego: Academic Press 1993, S. 73 - 98
- [47] *Raabe, O.G.*: Some important considerations in the use of power functions to describe clearance data. *Health Physics* 13 (1967), S. 293 - 295
- [48] *Scheuch, G., Stahlhofen, W., Heyder, J.*: An approach to deposition and clearance measurements in human airways. *J. Aerosol. Med.* 9 (1996), S. 35 - 41

- [49] Lehnert, B.E., Oberdörster, G.: Fate of fibers in the lower respiratory tract and fiber-induced lung diseases. In: *Fiber Toxicology*. Wahrheit DB (Hrsg.). San Diego: Academic Press 1993, S. 349 - 394
- [50] Christensen, V.R., Jensen, S.L., Guldborg, M., Kamstrup, O.: Effect of chemical composition of man-made vitreous fibres on the rate of dissolution in vitro at different pHs. *Environ. Health Perspect.* 102, Suppl. 5 (1994), S. 83 - 86
- [51] Hesterberg, T.W., Mast, R., McConnell, E.E., et al.: Chronic inhalation toxicity of size-separated glass fibres in Fischer 344 rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 20 (1993), S. 464 - 476
- [52] Gillissen, A., Wiethage, T.: Zelluläre Reaktionen der Lunge auf Mineralfasern. *Pneumologie* 50 (1996), S. 5 - 17
- [53] Potter, M.R., Mattson, S.M.: Glass fiber dissolution in a physiological saline solution. *Glastech. Ber.* 64, (1991), S. 6 - 28
- [54] Bellmann, B., Muhle, H., Pott, F.: Untersuchungen zur Beständigkeit chemisch unterschiedlicher Glasfasern in Rattenlungen. *Zbl. Hyg.* 190 (1990), S. 310 - 314
- [55] Creutzenberg, O., Bellmann, B., Muhle, H.: Biopersistence and bronchoalveolar lavage fluids analysis after a subacute inhalation of rats to various man-made mineral fibres. *Inhaled Particles VIII. Ann. Occup. Hyg.* 141, Suppl. 1 (1997), S. 213 - 218
- [56] Technische Regeln für Gefahrstoffe: Begründung zur Bewertung von TRGS 905 (TRGS 906). *BARbBl* (1997) Nr. 3, S. 57, geändert und ergänzt (1997), Nr. 4, S. 64 - 69
- [57] Thélohan, S., de Meringo, A.: In vitro dynamic solubility test: Influence of various parameters. *Environ. Health Perspect.* 102, Suppl. 5 (1994), S. 91 - 96
- [58] Eastes, W., Hadley, J.G.: Dissolution of fibers inhaled by rats. *Inhal. Toxicol.* 7 (1995), S. 179 - 196
- [59] Eastes, W., Morris, K.J., Morgan, A., et al.: Dissolution of glass fibres in the rat lung following intratracheal instillation. *Inhal. Toxicol.* 7 (1995), S. 197 - 213
- [60] Gamble, J.L.: *Chemical anatomy, physiology, and pathology of extracellular fluid*. 8. Aufl. Cambridge Harvard Univ. Press, 1967
- [61] Scholze, H., Conradt, R.: An in vitro study of the chemical durability

of siliceous fibres. *Ann. Occup. Hyg.* 31 (1987), S. 639-692

[62] Sebastian, K., Tiesler, H., Conradt, R., et al.: Corrosion of fibrous silicates in electrolyte solutions. *Bol. Soc. Esp. Ceram. Vid.* 31-c (1992) Nr. 4, S. 93 - 98

[63] Kreyling, W.G., et al.: Interspecies comparison of phagolysosomal pH in alveolar macrophages. *Inhal. Toxicol.* 3 (1991), S. 91 - 100

[64] Scholze, H.: Chemical durability of glasses. *J. Non-Cryst. Solids* 52 (1982), S. 91 - 103

[65] Scholze, H.: Glas — Natur, Struktur und Eigenschaften. 3. Aufl., S. 305 - 329. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag 1988

[66] Paul, A.: Chemistry of Glasses. 2. Aufl., S. 179 - 218. London, New York: Chapman and Hall 1990

[67] Alexander, I.C., Brown, R.C., Jubb, G.A., et al.: Durability of ceramic and novel man-made mineral fibers. *Environ. Health Perspect.* 102, Suppl. 5 (1994), S. 67 - 71

[68] Mattson, S.M.: Glass fibres in simulated lung fluid: dissolution behaviour and analytical requirements. *Ann. Occup. Hyg.* 38 (1994), S. 857 - 877

[69] Eschner, A., Förster, H., Löffler, F.W., et al.: Z-Wolle — eine Alternative zu Keramikfasern. *Keramik Glas* 4 (1993), S. 161 - 170

[70] Pritchard, J.N., Holmes, A., Evans, J.C., et al.: The distribution of dust in the rat lung following administration by inhalation and by single intratracheal instillation. *Environm. Res.* 36 (1985), S. 268 - 297

[71] Bernstein, D.: Intratracheal instillation biopersistence studies. *Persönliche Mitteilung*, 2. März 1997

[72] Ferin, J., Oberdörster, G., Soderholm, S.C., Gelein, R.: Pulmonary tissue access of ultrafine particles. *J. Aerosol Med.* 4 (1991), S. 57 - 67

[73] Ferin, J., Oberdörster, G.: Translocation of particles from pulmonary alveoli into the interstitium. *J. Aerosol Med.* 5 (1992), S. 179 - 187

[74] Jensen, S.L., Guldberg, M.: The influence of retained mass (lung burden) on the results of intratracheal tests. *Occup. Environ. Med.* 54 (1997) Nr. 5, S. 358 - 359

[75] Rockwool International Study RI-1995023: Final Reports from Fraunhofer Institut für Toxikologie und Aerosolforschung. Hannover 1997

[76] Rockwool International Study
RI-1996002: Draft Final Reports from
Mountain Technical Center, Denver,
Colorado, 1997

[77] Pott, F., Friedrichs, K.H., Huth, F.:
Ergebnisse aus Tierversuchen zur kanze-
rogenen Wirkung faserförmiger Stäube
und ihre Bedeutung im Hinblick auf die
Tumorentstehung beim Menschen. Zbl.
Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B, 162 (1976),
S. 467 - 505

[78] European Chemicals Bureau: B.XX.
Biopersistence of fibres. Short term
exposure by inhalation. ECB/TM/26
Inhala10.doc rev. 5. European Commis-
sion, Joint Res. Centre, Ispra 1997

[79] European Chemicals Bureau: B.XX.
Biopersistence of fibres. Intratracheal in-
stillation. ECB/TM/27 intra10.doc rev.
5. European Commission, Joint Res.
Centre, Ispra 1997

[80] Knudsen, T., Guldborg, M., Chri-
stensen, V.R., Jensen, S.L.: New type
of stonewool (HT fibres) with a high
dissolution rate at pH=4.5. Glastechn.
Ber. Glass Sci. Technol. 69 (1996),
S. 331 - 335

[81] Muhle, H., Bellmann, B., Seba-
stian, K., Böhm, T.: Persistenzunter-
suchungen von Mineralfasern *in vivo* und
in vitro und Entwicklung von Beurteil-
ungskriterien für die Biobeständigkeit.

Fraunhofer Institut für Toxikologie und
Aerosolforschung, Hannover 1997

[82] Bernstein, D.M.: Data analysis of IT
and inhalation persistence dose. Report
to ECB Ispra 04.03.1997. ECB/TM 11
(97)

[83] Muhle, H., Bellmann, B.: Endbericht
Untersuchungen zur Biopersistenz von
Mineralfaserproben. Fraunhofer Institut
für Toxikologie und Aerosolforschung,
Hannover, Juni 1997

[84] Sebastian, K.: Mitteilung an G + H

[85] Schneider, T., Hjemsted, K.: Prüfung
des Verstaubungsverhaltens von Faser-
dämmstoffen. In: VDI-Berichte Nr. 1075.
Düsseldorf: VDI-Verlag 1993

[86] Damgaard, B.B.C.: Mineral Wool
Fibre Dust. Dissertation, Danish Aca-
demy of Technical Sciences 1990

[87] Tiesler, H.: Faserstaubbelastung
durch Dämmstoffe aus Mineralwolle.
Bericht der Fachvereinigung Mineral-
faserindustrie. Ladenburg 1989

[88] Cherrie, I., Steffax, R.: Airborne
dust levels generated during insulation
with MMMF — A laboratory investiga-
tion. Institute of Occupational Medicine.
Report 1996

[89] Dodgson, J., Cherrie, J., Groat, S.:
Estimates of past exposure to respirable

man-made mineral fibres. *Ann. Occup. Hyg.* 31 (1987), S. 567 - 582

[90] DIN 55 992 Teil 1: Beurteilung des Staubungsverhaltens von festen Stoffen. Bestimmung der Staubungszahl bei Staubentwicklung durch Rotation. Berlin: Beuth Verlag, Oktober 1996

[91] *Esmen, N.A., Corn, M., Hammad, Y., et al.*: Summary of measurements of employee exposure to airborne dust and fiber in sixteen facilities producing man-made mineral fibres. *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.* 40 (1979) Nr. 2, S. 106 - 117

[92] *Class, P., Brown, R.C., Alexander, I.C., et al.*: Evaluation of the relation between the nominal fibre diameter of bulk refractory ceramic fibres and airborne fibre concentration (dustiness) using a laboratory shaking test box. *Gefahrstoffe — Reinhalt. Luft* 56 (1996) Nr. 9, S. 319 - 321

[93] Refractory ceramic fibres. The relationship between product nominal diameter and airborne fibre concentration. Ad hoc working party 1994 (Vortrag, unveröffentlicht)

[94] *Schneider, T., Huscmoen, T., Olsen, E., et al.*: Airborne fibre concentration during standardizes building insulation with bonded man-made vitreous fibre insulation material having different

nominal diameter and oil content. *Ann. Occup. Hyg.* 37 (1993) Nr. 6, S. 631 - 644

[95] *Julier, F., et al.*: Untersuchungen zum Verstaubungsverhalten von Mineralwollgedämmstoffen. In: VDI-Berichte 853. Düsseldorf: VDI-Verlag 1991

[96] *Julier, F., Dybro, H., Tiesler, H., et al.*: Dust and fibre release measurements in full-scale chamber. *Staub — Reinhalt. Luft* 55 (1995) Nr. 1, S. 7 - 9

[97] *Hjemsted, K., Schneider, T.*: Documentation of a dustiness drum test. *Ann. Occup. Hyg.* 40 (1996) Nr. 6, S. 627 - 643

[98] *Chung, K.Y.K., Burdett, G.J.*: Dustiness testing and moving towards a biologically relevant dustiness index. *Ann. Occup. Hyg.* 38 (1994) Nr. 6, S. 945 - 949

[99] *Hanton, D., Lindqvist, H.*: Evaluation of the dustiness of man made vitreous wool products using a laboratory shaking test. *Staub — Reinhalt. Luft* 55 (1995) Nr. 1, S. 11 - 15

[100] *Trappmann, J.*: Dust release test for man made vitreous wool products. *Staub — Reinhalt. Luft* 55 (1995) Nr. 1, S. 17 - 22

[101] *Barig, A.*: Beurteilung der Exposition anhand von Modelluntersuchungen.

22. Deutscher Kongreß für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin — Vortrag, Düsseldorf 1991

[102] *Bauer, H.-D., Heimann, M.*: Harmonized standards in support of the essential health requirements of the machinery directive — Reduction of the emission of hazardous substances from machines. Gefahrstoffe — Reinhalt. Luft 56 (1996) Nr. 7 - 8, S. 251 - 255

[103] *Heimann, M., Jurkus, R.*: Asbestemission bei Bremsbelagbearbeitungsmaschinen — Positivliste geprüfter Maschinen. Sicherheitstechnisches Informations- und Arbeitsblatt 515 210. In: BIA-Handbuch „Sicherheit und Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz“. Bielefeld: Erich Schmidt Verlag 1985 — Losebl.-Ausg.

[104] *Heimann, M., Leßnich, W.*: Asbestemission bei handgeführten Maschinen und Geräten zur Bearbeitung von Asbestzementzeugnissen — Positivliste geprüfter Geräte. Sicherheitstechnisches Informations- und Arbeitsblatt 515 220. In: BIA-Handbuch. Bielefeld: Erich Schmidt Verlag 1985 — Losebl.-Ausg.

[105] *Heimann, M., Régnier, R.*: Prüfung der Gefahrstoffemission von Maschinen und Geräten. VDI-Berichte Nr. 799. Düsseldorf: VDI-Verlag 1990

[106] *Heimann, M.*: Emissionsverhalten von Maschinen zur Bearbeitung faserhaltiger Materialien. In: VDI-Berichte 1075. Düsseldorf: VDI-Verlag 1993

[107] *Schneider, T., Tibbs, G.W.*: A full-scale test of fibre release during use of MMF-products. Work shop — Vortrag. Kopenhagen 1997

[108] *Barig, A., Kleine, H.*: Empfehlungen zum Arbeitsschutz in ausgewählten Arbeitsbereichen. In: VDI-Berichte 1075. Düsseldorf: VDI-Verlag 1993

[109] *Dybro Juhl, H.*: Standardization of full-scale chamber measurements. In: VDI-Berichte Nr. 1257. Düsseldorf: VDI-Verlag 1996

[110] *Schneider, T.*: Physical characterization of MMVF for risk assessment. Ann. Occup. Hyg. 39 (1995) Nr. 5, S. 673 - 689

[111] *Barig, A., Draeger, U., Nebe, U., et al.*: Standardprüfraum, Simulation von Arbeitsverfahren sowie Prüf- und Meßbedingungen zum Verstaubungsverhalten von KMF (Bericht der Arbeitsgruppe „Standardprüfraum“). Unveröffentlicht

[112] BIA-Arbeitsmappe Messung von Gefahrstoffen. Hrsg.: Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit — BIA, Sankt Augustin. Bielefeld: Erich Schmidt Verlag 1989 — Losebl.-Ausg.

[113] Tiesler, H., Hanton, D.: Meßverfahren zur Bestimmung der Fasergrößenverteilung in Mineralwolle-Erzeugnissen. In: VDI-Berichte Nr. 1075. Düsseldorf: VDI-Verlag 1993

[114] Richtlinie 97/69/EG der Kommission. ABl. Nr. L 343 vom 13. Dezember 1997, S. 19 - 23

Weitere Literatur

Bolton, R.E., Vincent, J.H., Jones, A.D., et al.: An overload hypothesis for pulmonary clearance of UICC amosite fibres inhaled by rats. Br. J. Ind. Med. 40 (1983), S. 264 - 272

Lippmann, M.: Biophysical factors affecting fiber toxicity. In: Fiber Toxicology. Warheit, D.B. (Hrsg.). San Diego: Academic Press, S. 259 - 303, 1993

McClellan, R.O., Hesterberg, T.W.: Role of biopersistence in the patho-

genicity of man-made fibers and methods for evaluating biopersistence: a summary of two round-table discussions. Environ. Health Perspect. 102, Suppl. 5 (1994), S. 277 - 283

Morgan, A.: Effect of length on the clearance of fibres from the lung and on body formation. In: Biological Effects of Mineral Fibres. Wagner, J.C. (Hrsg.). IARC Scientific Publications Nr. 30. Lyon: International Agency for Research on Cancer, S. 329 - 335, 1980

Muhle, H., Bellmann, B., Creutzenberg, O., et al.: Pulmonary response to toner upon chronic inhalation exposure in rats. Fundam. Appl. Toxicol. 17 (1991), S. 280 - 299

Muhle, H., Bellmann, B., Pott, F.: Comparative investigations of the biodegradability of mineral fibers in the rat lung. Environ. Health Perspect. 102, Suppl. 5 (1994), S. 163 - 168

VI Glossar

VI Glossar

γ -Glutamyltransferase	Eiweiß (Enzym)†, das sich u.a. in den Makrophagen† befindet. Eine nach Zentrifugation der Lungenspülflüssigkeit (siehe „Lavage“) im Überstand gemessene erhöhte Aktivität der γ -G. deutet auf eine gesteigerte Makrophagenaktivität hin.
μ	in Verbindung mit Maßeinheiten: Mikro... (10^{-6}); z.B. 1 μm = einmillionstel Meter
A	Oberfläche
aerodynamischer Durchmesser	siehe „Durchmesser“
Agarose	aus Zuckerbausteinen zusammengesetzte langkettige Verbindung; wegen ihrer Gelierfähigkeit hier zur Herstellung von Organabgüssen verwendet
Agglomerat	nicht verwachsener Verband von z.B. an Ecken und Kanten aneinandergelagerten Partikeln, dessen Gesamtoberfläche von der Summe der Einzeloberflächen nicht wesentlich abweicht (DIN 53 206)
Aggregation	Zusammenlagerung
AGS	Ausschuß für Gefahrstoffe
Akkumulation	Anreicherung
Aliquot	hier: Teilvolumen
Alveolarhistiozytose	erhöhte Anzahl von Makrophagen† in den Alveolen†
alveolär	zu den Alveolen† gehörend
alveoläre kapilläre Transsudation	siehe „Transsudation“
Alveolarepithel	mit Pneumozyten† ausgekleidete Oberfläche der Alveolen† (siehe auch „Epithel“)
alveoläres Entzündungszellinfiltrat	siehe „Entzündungszellinfiltrat“
Alveolarhistiozyten	gleichbedeutend mit Alveolarmakrophagen†

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

Alveolarleukozyten	weiße Blutkörperchen in den Alveolen† (siehe auch „Leukozyten“)
Alveolarmakrophagen	sog. Lungenfresszellen; sie entstehen aus Monozyten†, die bei Bedarf in großer Zahl aus dem Blut durch die Alveolarsepten in die Alveolen† einwandern, dort Fremdkörper (Bakterien, Staubpartikeln) aufnehmen und zu entgiften oder auf das Flimmerepithel der Bronchien zu transportieren suchen
Alveolarsepten	die sehr dünnen Wände zwischen benachbarten Alveolen†, in denen die Kapillaren† verlaufen und in denen der Gasaustausch stattfindet
Alveole	Lungenbläschen, Endverzweigungen der Atemwege
A.M.	Ausgangsmaterial
amorph	ungestaltet, regellos. Festkörper werden als amorph bezeichnet, wenn ihre molekularen Bausteine nicht in Kristallgittern angeordnet sind
Amphibol-Asbest	siehe „Asbest“
anzahlgewichteter Durchmesser	siehe „Durchmesser“
Applikation	hier: Verabreichung
applizieren	Tätigkeitswort zu Applikation†
Aqua bidest.	durch doppelte Destillation gereinigtes Wasser (Abk. für Aqua bidestillata)
Asbest	Gruppe anorganischer, natürlich vorkommender kristalliner Silikate, die in Form von Fasern bzw. Faserbündeln auftreten. Man unterscheidet: 1. Chrysotil 2. Amphibol-Asbeste (Aktinolith, Amosit, Anthophyllit, Krokydololith, Tremolit)
Auflösung	bei Gläsern: Korrosionsmechanismus, der durch Zerstörung des (Siliziumoxid-)Netzwerks zu einer Freisetzung aller Komponenten führt

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

Auflösungsgeschwindigkeit	bei der Auswertung der In-vitro-Versuche als radiale Auflösungsgeschwindigkeit verwendet, d.h. korrosionsbedingte Abnahme des Faserdurchmessers pro Zeiteinheit
Auslaugung	bei Gläsern: Korrosionsmechanismus, bei dem mobile Komponenten (Alkali-, Erdalkalioxide, B_2O_3) des Glases durch Protonen, Hydroniumionen oder Wassermoleküle (H^+ , H_3O^+ , H_2O) der Lösung ausgetauscht und dadurch aus dem Glas entfernt werden
B-01/B-1M B-01/B-2L	Glasfasertyp, die sich in ihrem mittleren Durchmesser von der Faser B-01-0.9† unterscheiden
B-01-0.9 B-09-2.0 B-20-2.0	Glasfasertypen, die nur kurzfristig zum Verkauf angeboten wurden, weil der Hersteller die Mineralfaserproduktion aufgab. B = Abkürzung des Herstellernamens; die folgende Doppelziffer kennzeichnet die Faserzusammensetzung, die letzte Doppelziffer kennzeichnet den mittleren Durchmesser in μm nach Angabe des Herstellers. Der mit dem Elektronenmikroskop ermittelte Medianwert des Durchmessers der Stäube ist kleiner. Über die chemischen Zusammensetzungen gibt die Tabelle auf Seite 365 Auskunft.
BAL	bronchoalveoläre Lavage†
BALT	Bronchien†-assoziierte Lymphfollikel†
Basalt (D)	Steinwolle†-Fasertyp aus deutscher Produktion
Batch	Charge, z.B. Herstellungsmenge eines Staubes, die unter gleichen Bedingungen produziert wurde und von der identische Eigenschaften erwartet werden
Bifurkation	Verzweigung der Atemwege, speziell Gabelung der Luftröhre in die beiden Hauptbronchien

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

Biobeständigkeit	Resistenz eines Fremdkörpers gegen Angriffe des biologischen Milieus (Zellen und extrazelluläre Flüssigkeiten). Die B. ist eine Materialeigenschaft und bedeutet im Falle von Mineralfasern Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit. Es ist nicht bekannt, inwieweit die Auflösungsgeschwindigkeit von wenig biobeständigen Fasern in der Lunge von dem speziellen Aufenthaltsort abhängt (z.B. Gewebe zwischen den Alveolen [†] , auf der Alveolenwand, in Makrophagen [†] , bei der mucozilären [†] Elimination, in der Bronchialwand). Es gibt Hinweise auf unterschiedliche Auflösungsgeschwindigkeiten bestimmter Materialien außerhalb und innerhalb von Makrophagen (im sauren Milieu der Lysosomen [†]); insoweit ist die B. kein konstanter Faktor. Die B. ist nicht direkt meßbar, sondern kann nur aus Daten über die Biopersistenz [†] unter Berücksichtigung der „Störfaktoren“ (z.B. physiologische Lungenreinigung) und des Einflusses der in den Staubproben unterschiedlichen Faserabmessungen erschlossen werden.
Biopersistenz	hier: Verbleiben von Fasern in der Lunge. Die B. wird begrenzt durch die Biobeständigkeit (= Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit) sowie durch den Abtransport. Kurze Halbwertszeiten für die Faserpersistenz können eine geringe Biobeständigkeit vortäuschen, wenn Fasern nach Deposition im Atemtrakt oberhalb der Alveolen diesen durch den mucozilären Reinigungsmechanismus relativ schnell wieder verlassen (siehe auch „Clearance“).
bivariate Größenverteilung	siehe „Größenverteilung“
BMBF	Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie
Bronchien	Röhrensystem der Lunge, in das sich die Luftröhre aufzweigt. Beim Menschen teilt sich die Luftröhre zunächst in die beiden Hauptbronchien, diese verzweigen sich rechts in drei, links in zwei Lappenbronchien und diese wiederum in die sog. Segmentbronchien.
Bronchiolen	feinere Aufzweigungen der Bronchien [†] Beim Menschen, nicht aber bei der Ratte, findet man auch sog. „respiratorische Bronchiolen“, die mit Alveolen besetzt sind.

[†] Begriff wird in der Liste separat erläutert

bronchiolo-alveolär	zu den Endverzweigungen der Atemwege, den Bronchiolen und Alveolen, gehörend
Bronchiolus	Einzahl von Bronchiolen
bronchoalveoläre Lavage	siehe „Lavage“
Bronchus	Einzahl von Bronchien
Cholesteringranulom	herdförmiges Gebilde aus Cholesterinkristallen (entsteht aus zertallenden Makrophagen), Entzündungszellen und proliferierende Bindegewebszellen (äußerer Teil des Granuloms)
Clearance	hier: Ausscheidung (Elimination) eines Stoffes aus einem Organ oder aus dem Körper. Die Reinigung der Lunge von eingeatmeten Partikeln erfolgt durch <ul style="list-style-type: none"> – Abtransport in Richtung Schlund auf einer bewimperten Schleimschicht, welche Luftröhre, Bronchien und den größten Teil der Bronchiolen innen auskleidet („mucoziläre“ oder „ziläre Clearance“), – Einverleibung durch Makrophagen, die aus den Alveolen zur bewimperten Schleimschicht gelangen können („Makrophagen-vermittelte Clearance“), von dort mucoziläre Clearance – Eindringen in das Interstitium†, von dort Wanderung in die Lymphknoten†, („lymphatische Clearance“)
CS*	siehe „Glaswolle CS*“
d	Durchmesser
d ₅₀ -Wert	Median des Faserdurchmessers (siehe „Durchmesser“)
Deposition	hier: Ablagerung eingeatmeter fester Teilchen in den Atemwegen
Differentialzellbild	Ergebnis der Auszählung verschiedener Zelltypen, z.B. im Blut oder in der Lungenspülflüssigkeit

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

Durchmesser, aerodynamisch	Als aerodynamischer Durchmesser eines Teilchens beliebiger Form und Dichte wird der Durchmesser einer Kugel mit der Dichte 1 (1 g/cm^3) bezeichnet, welche die gleiche Sinkgeschwindigkeit in ruhender oder laminar strömender Luft besitzt. Diese Definition gilt auch für faserförmige Teilchen, wobei der aerodynamische Durchmesser wesentlich vom Faserdurchmesser, weniger stark durch die Faserlänge bestimmt wird.
Durchmesser, anzahlgewichtet	Charakterisierung eines Faserkollektivs bezüglich seiner Durchmesser- verteilung auf Grundlage der Faserzahl. Beispiel: d_{50} (anzahl- gewichtet) beinhaltet, daß 50 % aller Fasern einen kleineren Durchmesser besitzen.
Durchmesser, massengewichtet	Charakterisierung eines Faserkollektivs bezüglich seiner Durch- messerverteilung auf Grundlage der aus den Faserabmessungen berechneten Massen. Beispiel: d_{50} (massengewichtet) beinhaltet, daß 50 % der Fasermasse einen kleineren Durchmesser besitzen.
Durchmesser, nominell	Median des längengewichteten Durchmessers (siehe z.B. [113])
Dust Overload(ing)	siehe „Overload“
EDX-Spektrum	energie-dispersives Röntgenspektrum†
Elimination	Entfernung einer Substanz aus dem Körper bzw. einem Organ durch Ausscheidung oder Verstoffwechslung; hier: synonym mit Clearance†. Die Elimination von faserigen Partikeln aus der Lunge wird ermöglicht durch Abtransportmechanismen, Auflösung sowie Brechen und Zerfall der Fasern.
Emission	hier: Übertritt von Gefahrstoffen in die Luft
Emissionskonzentration	Konzentration eines luftverunreinigenden Stoffes im Kontrollbereich (Raum) durch Emission†
Emissionsrate	Gesamtmenge des luftverunreinigenden Stoffes, der je Zeiteinheit in einem definierten Raum emittiert wird
energie-dispersives Röntgenspektrum	siehe „Röntgenspektrum“

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

entzündliche Reaktion	komplexe Abwehrreaktion des Organismus nach lokaler Gewebeschädigung unter Beteiligung des Bindegewebes und verschiedener Zellen im Bereich des Einwirkungsorts der Noxe†
Entzündungszellinfiltrat, alveolär	Makrophagen†, Granulozyten† und Lymphozyten†, die infolge entzündlicher† Reaktion in den Alveolen† gefunden wurden
Enzym	Eiweiß, das Stoffwechselreaktionen in der Zelle beschleunigt bzw. diese überhaupt erst ermöglicht („Biokatalysatoren“)
Epithel	äußere oder innere Körperoberflächen bedeckender Zellverband (Kurzform für „Epithelgewebe“)
Exp 3	siehe „Steinwolle Exp 3“
EXP 43	für experimentelle Zwecke hergestellte Glasfaser mit relativ hohem Gehalt an Natrium- und Boroxid sowie geringem Aluminiumoxid-Gehalt
Exsikkator	Gerät zum Austrocknen oder trockenen Aufbewahren von Substanzen
extrazellulär	außerhalb der Zelle
F	Durchflußrate der Angriffslösungen beim In-vitro†-Test
F/A-Verhältnis	Verhältnis der Durchflußrate der Angriffslösungen zu der eingewogenen Oberfläche der Faserprobe im In-vitro†-Versuch
Faser C	siehe „Glaswolle C“
Fasern	Sammelbegriff für langgestreckte Aggregate, deren Moleküle (oder Kristallite) in der Moleküllängsrichtung (oder einer Gittergeraden) überall gleichgerichtet sind
Faserstäube	<ol style="list-style-type: none"> 1. allgemein: Stäube, die aus einem faserhaltigen Material (z.B. Asbest, Mineralwolle) entstanden sind 2. MAK- und BAT-Werte-Liste: disperse Verteilungen von anorganischen oder organischen WHO-Fasern† in Gasen, insbesondere in Luft

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

Fasertyp	unter einer bestimmten Bezeichnung laufende Fasern gleicher <i>chemischer Zusammensetzung, unabhängig von den Faserabmessungen</i> . Beispiele für übliche verkürzte Bezeichnungen von Fasertypen: die B-01-Faser, die HT-7-Faser
Fibrose, interstitiell	Vermehrung des Bindegewebes im Stützgewebe [†] der Lunge
fokal	herdförmig, örtlich angereichert
GefStoffV	Gefahrstoffverordnung
gesichtete Proben	Stäube, die einem Trennverfahren unterzogen wurden, um einen gewünschten Korngrößenbereich zu erhalten
Glasfaser	aus geschmolzenem Glasgemenge hergestellte Faser. Hier: Glasfaser spezieller chemischer Zusammensetzung, Zwischenstufe zur Entwicklung einer neuen Glasfaser
glasige Faser	Faser amorpher [†] Struktur
Glaswolle	zu den Mineralwollen [†] gehörender Fasertyp, hergestellt aus geschmolzenem Glasgemenge. Hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung kann G. im allgemeinen nicht scharf von Steinwolle [†] abgegrenzt werden.
Glaswolle C	Glaswolle [†] mit spezieller Dickenverteilung, chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
Glaswolle CS*	Glaswolle [†] C mit höherem Anteil dickerer Fasern (inhalierbar für den Menschen)
Glaswolle M	Glaswolle [†] -Fasertyp, chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
Glaswolle TL	kommerzielle deutsche Glaswolle [†] , chemische Zusammensetzung nahezu identisch mit MMVF 11 (siehe Tabelle auf Seite 365)
Glaswolle TL*	Glaswolle [†] TL mit höherem Anteil dicker Fasern (inhalierbar für den Menschen)
Glutamyltransferase	siehe γ -Glutamyltransferase, Seite 343

[†] Begriff wird in der Liste separat erläutert

Glutathion	Molekül (Tripeptid), das in hohen Konzentrationen im Zellinnern vorliegt. Durch Abreaktion mit elektrophilen Substanzen bietet es einen gewissen Schutz vor oxidativen Schädigungen der Zelle.
Glutathion-Redoxstatus	Verhältnis von reduziertem zu oxidiertem Glutathion [†] in einem Gewebe. Ein hoher Anteil von oxidiertem Glutathion kann u.a. durch entzündliche Prozesse verursacht sein, bei denen reaktive Sauerstoffspezies erzeugt werden (siehe auch „oxidativer Streßfaktor“).
granuläre Materialien	durch Anhäufung von (Granulat-)Körnchen hergestellte Materialien mit unregelmäßig geformten Teilchen
Granulom	geschwulstähnliche Neubildung aus Geweben, die bei der Ausheilung von Wunden, Entzündungen oder anderen Gewebeschädigungen entstehen kann
Granulozyten	spezialisierte weiße Blutzellen, die bei entzündlichen Prozessen vermehrt auftreten und eine Rolle bei der Immunantwort spielen (siehe auch „Leukozyten“)
gravimetrisch	mittels Wägung
Größenverteilung, bivariat	Charakterisierung der geometrischen Abmessungen eines Faserkollektivs, wobei für die einzelnen Fasern sowohl Länge als auch Dicke bestimmt werden
Großes Netz	siehe „Netz“
GSH	reduziertes Glutathion [†]
GSSG	oxidiertes Glutathion [†]
Halbwertszeit	hier: Zeit, in der die Hälfte der betrachteten Fasern aus der Lunge (bzw. aus der Bauchhöhle im Intraperitoneal-Versuch) verschwunden ist
Handling	hier: Art des Umgangs mit faserförmigen Produkten
Histiozyten	gewebetypische Makrophagen [†] des lockeren Bindegewebes, auch als Plasmatozyten bezeichnet

[†] Begriff wird in der Liste separat erläutert

Histologie	hier: Gewebsuntersuchung und deren Ergebnisse
Histopathologie	hier: Feststellung von Schäden des Gewebes
HT 3	siehe „Steinwolle HT 3“
HT 7	siehe „Steinwolle HT 7“
HVBG	Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften
Hyperplasie	rückbildungsfähige Zunahme der Zellzahl im Gewebe (lokal oder diffus)
Impaktion	„Aufprall“ und Ablagerung von Partikeln aufgrund ihrer Trägheit bei abrupten Richtungsänderungen des Luftstroms in den oberen Atemwegen, namentlich an den Verzweigungsstellen
in vitro	„im (Reagenz-)Glas“, außerhalb des lebenden Organismus (z.B. in der Zellkultur); hier: Durchflußzelle zur Ermittlung der physikalischen Auflösungsgeschwindigkeit von Fasern in einer physiologischen Lösung
in vivo	im lebenden Organismus
Inhalation	Einatmung
inhalierbar	einatembar (siehe „inhalierbar für den Menschen“, „ratteninhalierbar“); z.B. Partikelgrößen, die zu einem größeren Anteil zumindest bis in den Nasen-, Rachen- und Kehlkopfbereich gelangen
inhalierbar für den Menschen	Fasern mit einem aerodynamischen Durchmesser $< 20 \mu\text{m}$ (vgl. „ratteninhalierbare Fasern“). Die Anteile mit einem aerodynamischen Durchmesser von 12 bis $20 \mu\text{m}$ werden zu mehr als 50 % bereits in Nase, Rachen oder Kehlkopf abgeschieden.
Inj.	Injektion [†]
Injektion	Einspritzung einer Flüssigkeit oder Suspension nach Durchstoßen der Haut mit einer Hohlnadel ins Gewebe oder einen Hohlraum des Körpers

[†] Begriff wird in der Liste separat erläutert

Inst.	Instillation†
Instillation	Einträufelung einer Flüssigkeit oder Suspension in einen Hohlraum ohne Gewebsverletzung
interstitiell	zum Interstitium† gehörend
interstitielle Fibrose	siehe „Fibrose“
interstitielles mononukleäres Zellinfiltrat	siehe „Zellinfiltrat“
Interstitium	Zwischenraum; hier: das Stützgewebe† der Lunge
Interzeption	Abscheidung von Fasern bei der Einatmung durch Kontakt eines Faserendes mit den Wänden des Atemtrakts
intraperitoneale Injektion (i.p. Inj.)	Einspritzung in die Bauchhöhle
intratracheal	innerhalb der Luftröhre befindlich; in die Luftröhre hinein
intratracheale Instillation (i.tr. Inst.)	Instillation† in die Luftröhre
i.p.	intraperitoneal†
ISC	Fraunhofer-Institut für Silicaforschung
isometrische Partikeln	Staubteilchen, deren Länge und Durchmesser ähnlich sind im Gegensatz zu faserförmigen Partikeln
ITA	Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung
i.tr.	intratracheal†
kancerogen	krebserzeugend
Kanzerogen	krebserzeugende Substanz oder Noxe†

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

Kanzergenitätsindex	Zahlenwert, der sich ergibt durch Bildung der Summe der Oxide von Natrium, Kalium, Bor, Kalzium, Magnesium und Barium, vermindert um die doppelte Menge der Aluminiumoxide (jeweils in Gew.-%) einer Faserspezies. Nach TRGS 905 können mit diesem „KI“ für glasige Fasern aufgrund ihrer chemischen Zusammensetzung in der Regel Rückschlüsse auf deren Biobeständigkeit und damit Einstufungen hinsichtlich ihres krebserzeugenden Potentials vorgenommen werden: $KI \leq 30 \rightarrow$ krebserzeugend Kategorie 2; $30 < KI < 40 \rightarrow$ krebserzeugend Kategorie 3; $KI \geq 40 \rightarrow$ keine Einstufung.
Kapillare	feines Blutgefäß, auch als „Haargefäß“ bezeichnet
Kaskadenimpaktor	hier: zweistufiger Partikelabscheider (siehe auch Abbildung 5, siehe Seite 54)
Keramik II	glasige Keramikfaser, chemische Zusammensetzung ähnlich RCF I (siehe Tabelle auf Seite 365)
Keramikfasern	<ol style="list-style-type: none"> 1. amorphe KMFt, die hauptsächlich aus Aluminiumsilikat bestehen 2. künstlich hergestellte kristalline Fasern für spezielle Einsatzbereiche („Hochleistungskeramikfasern“)
KI	Kanzergenitätsindex†
Kinetik 1. Ordnung	hier: zeitlicher Ablauf der Elimination† von Fasern aus der Lunge, wobei die Eliminationsgeschwindigkeit zu jedem Zeitpunkt proportional der Faserkonzentration ist
KMF	künstliche Mineralfasern†
körniger Staub	Staub aus isometrischen Partikeln
künstliche Mineralfasern	aus mineralischen Rohstoffen synthetisch hergestellte amorphe Fasern. Sie umfassen Endlosfasern, Mineralwolle, Keramikfasern und Fasern für Spezialanwendungen.
Kurzzeininhalationstest	hier: inhalative Exposition gegenüber Fasern an fünf hintereinanderfolgenden Tagen, pro Tag sechs Stunden

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

L (in Abbildungen)	Länge
<i>l</i>	Länge
I_{50} -Wert	Median der Faserlänge
Labeling	hier: Zuordnung von faserförmigen Produkten auf der Basis des Verstaubungsniveaus
Laktatdehydrogenase	zelluläres Eiweiß (Enzym), dessen Freisetzung auf eine Zellschädigung schließen läßt
LALN	Lungen-assoziiertes Lymphknotenf (engl. Abkürzung)
Lavage, bronchoalveolär	Lungenspülung mit physiologischer Kochsalzlösung. Dabei wird die Flüssigkeitsschicht, welche die innere Lungenoberfläche auskleidet, isoliert. Die Analyse dieser überwiegend aus Fetten und Eiweißen zusammengesetzten Flüssigkeit sowie der darin befindlichen weißen Blutkörperchen gibt Hinweise auf Zellschädigungen und entzündliche Reaktionen.
Leukozyten	weiße Blutkörperchen. Sie gliedern sich in zwei Hauptlinien: — Lymphozyten (z.B. B-, T-Lymphozyten), — Phagozyten (z.B. Granulozyten, Monozyten; aus letzteren gehen die Makrophagen hervor).
Lipide	Fette und fettähnliche Stoffe, die in allen Zellen vorkommen und z.B. Bestandteile von Membranen sind
Löslichkeit	maximale Menge eines Stoffes, die ein Lösemittel bei gegebener Temperatur aufnehmen kann
Luftwechsel	Luftvolumenstrom für einen Raum, bezogen auf das Raumvolumen (Dimension: h^{-1})
Lungen-assoziierte Lymphknoten	Lymphknoten, in welche eine als „Lympe“ bezeichnete Körperflüssigkeit aus den (beim Menschen) fünf Lungenlappen abfließt und dabei auch eingeatmete Teilchen hineinbringen kann
Lungeninterstitium	siehe „Interstitium“
Lungenreinigung	siehe „Clearance“ und „Elimination“

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

VI Glossar

lymphatische Clearance	hier: Abtransport von Partikeln aus der Lunge in die regionalen Lymphknoten† (siehe „Clearance“)
Lymphfollikel	Bereiche in den Lymphknoten
Lymphknoten	in die Strombahn der Lymphgefäße eingeschaltete, beim Menschen etwa linsen- bis bohngroße Organe des lymphatischen Systems
Lymphozyten	Gruppe von Immunzellen, die zu den weißen Blutkörperchen gehören und bei Entzündungen vermehrt auftreten (siehe auch „Leukozyten“)
lyysieren	auflösen (von Zellen)
Lysosom	von einer Membran umgebener Teil der Zelle (Zellorganell), der dem Abbau in das Zellinnere aufgenommener Substanzen dient
lysosomal	zu den Lysosomen† gehörig
m	Masse; in Verbindung mit Maßeinheiten: Milli... (10^{-3}); z.B. 1 mm = eintausendstel Meter
M	siehe „Glaswolle M“ bzw. „Schlackenwolle M“ bzw. „M-Steinwolle“
Makrophagen	spezialisierte weiße Blutkörperchen, die sich Fremdkörper durch Phagozytose† einverleiben können. Gewebsspezifische M. der Lunge bezeichnet man als Alveolarmakrophagen.
Makrophagen-vermittelte Clearance	siehe „Clearance“
massengewichteter Durchmesser	siehe „Durchmesser“
Mesotheliom	bösartiger Tumor des Brustfells, Herzbeutels oder Bauchfells, der sich aus Mesothelzellen† entwickelt
Mesothelzellen	Zellen, die die Oberfläche des Brustfells, Herzbeutels oder Bauchfells bilden

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

Migration	Wanderung
min	Minute(n)
Mineralfasern	Sammelbegriff für Fasern aus anorganischen Rohstoffen (alle natürlichen und künstlichen Mineralfasern)
mineralische Fasern	siehe „Mineralfasern“
Mineralwolle	Aus einer Schmelze von Mineralen oder Gestein (= Mineralmenge) durch Schleudern oder Zerblasen hergestellte Fasern, die regellos-locker angeordnet sind. Der Medianwert des Durchmesserpektrums liegt je nach Verfahren im Bereich von 0,2 bis zu mehreren Mikrometern.
MMAD	Medianwert des massengewichteten aerodynamischen Durchmessers† (siehe auch „ d_{50} -Wert“)
MMVF	Abkürzung für Man-made Vitreous Fibres, engl. Bezeichnung für KMF†
MMVF 11	kommerzielle Glaswolle† (vom amerikanischen Markt), als standardisierte Glasfaser verwendet; chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
MMVF 21	kommerzielle Steinwolle†, chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
MMVF 22	kommerzielle Schlackenwolle†, chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
mononukleäre Zellen	Klasse weißer Blutkörperchen, die auch die Makrophagen† einschließt
Monozyten	zu den weißen Blutkörperchen (Leukozyten†) gehörende Zellen, die zu Phagozytose† und Migration† befähigt sind und sich zu Makrophagen† differenzieren können
M-Stein	Steinwolle†-Fasertyp, chemische Zusammensetzung ähnlich M-Steinwolle (siehe Tabelle auf Seite 365)

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

M-Steinwolle	Steinwolle-Fasertyp, chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
mucoziliäre Clearance	siehe „Clearance“
Mucus	Schleim
multifokal	an vielen Stellen im Gewebe
n	in Verbindung mit Maßeinheiten: Nano... (10^{-9}); z.B. 1 nm = einmilliardstel Meter
Nasopharynx	Nase-Rachen-Bereich
Nenndurchmesser	hier: gleichbedeutend mit „nomineller Durchmesser“ (siehe „Durchmesser“)
Netz, Großes	große Falte des Bauchfells (Peritoneum), die vom Magen ausgeht und die Dünndarmschlingen schürzenförmig bedeckt
nomineller Durchmesser	siehe „Durchmesser“
Nose-only-Röhren	Kunststoffröhren, in die Ratten zur inhalativen Exposition gegenüber Staub eingesetzt werden, so daß nur der vordere Teil des Kopfes und nicht der ganze Körper exponiert werden
Noxe	schädigender Einflußfaktor (z.B. Schadstoff)
Omentum maius	Großes Netz (siehe „Netz“)
Ösophagus	Speiseröhre
Overload(ing)	hier: Beladung der Lunge mit einer größeren Staubmenge, die zu einer deutlichen Verlangsamung der alveolären Clearance [†] führt
oxidativer Streßfaktor	Konzentrationsverhältnis aus oxidiertem und reduziertem Glutathion $\frac{[[GSSG]]}{[[GSH]]}$, quantifiziert den Glutathion-Redoxstatus [†]
Partikeln	Staubteilchen, unabhängig von der Form

[†] Begriff wird in der Liste separat erläutert

Peritoneum	Bauchfell; einschichtiges Gewebe aus Mesothelzellen (wie Pleurat). Das P. kleidet die Wand der Bauchhöhle aus und überzieht einen großen Teil der Bauchorgane.
Persistenz	siehe „Biopersistenz“
Phagolysosom	großes Lysosom im Innern von Makrophagen. Die von der Phagolysosomen-Membran umschlossene Flüssigkeit weist einen pH-Wert von ca. 4,5 bis 5,0 auf.
phagozytieren	Tätigkeitswort zu „Phagozytose“
Phagozytose	Aufnahme fester Partikeln in das Zellinnere
Pharynx	Rachen, Schlund; gemeinsamer Teil des Atem- und Speisewegs im Anschluß an Nasen- und Mundhöhle bis zum Eingang in die Luftröhre und Speiseröhre
Phasenkontrast-Mikroskopie	hier: lichtmikroskopisches Verfahren zur Bestimmung von lungengängigen Fasern, wobei die auf einem Partikelfilter abgeschiedenen Fasern nach Präparation des Filters unter einem Mikroskop entsprechend einer vorgegebenen Gebrauchsanweisung ausgezählt werden
physiologische Flüssigkeit	Flüssigkeit, die nach Injektion ins Gewebe oder in die Blutbahn auch in größerer Menge keine schädliche Wirkung hervorruft
physiologische Kochsalzlösung	mit dem Blutserum isotonische Kochsalzlösung mit einem Gehalt von 0,9 % NaCl
Plasmaveraschung	schonende Veraschung in einer durch Anlegen eines Hochfrequenzfeldes ionisierten Sauerstoffatmosphäre
Pleura	Brustfell; einschichtiges Gewebe aus Mesothelzellen (wie Peritoneum). Die P. kleidet die Wand des Brustraums aus (Rippenfell) und überzieht die Lungenlappen (Lungenfell).
Pleuramesotheliom	bösartiger Tumor des Brustfells, der von den Mesothelzellen ausgeht
Pleuraspalt	Zwischenraum, der das innere Blatt der Pleurat (Lungenumhüllung) vom äußeren Blatt (Rippenfell) trennt

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

Pneumozyten	spezialisierte Zellen, welche die Alveolen [†] innen auskleiden
post inhalationem	nach Einatmung (hier: der Stäube)
Präzipitat	(fester) Niederschlag
Proliferation	Vermehrung (hier: von Zellen)
proliferieren	Tätigkeitswort zu „Proliferation“
pulmonal	hier: zum Bereich der unteren Atemwege gehörend (Alveolen [†] und respiratorische Bronchien [†])
pulverförmige Materialien	trockene feste Materialien, die man durch Zerkleinern erhält
Randomisierung	Auswählen nach dem Zufallsprinzip
Ranking	Einordnung, Reihung, Rangfolge
ratteninhalierbare Fasern	Fasern mit einem aerodynamischen Durchmesser $\leq 5 \mu\text{m}$. Wegen ihres wirksameren Nasenfilters und der Tatsache, daß Ratten nicht durch den Mund atmen können, gelangen bei diesen Tieren größere Fasern – anders als beim Menschen – durch Einatmen i.d.R. nicht in die Lunge (vgl. „inhalierbar für den Menschen“)
RCC	Research & Consulting Company Ltd., Genf
RCF	Abk. von Refractory Ceramic Fibres; amorpher [†] Keramikfaser [†] -Typ
RCF 1	amorpher [†] Keramikfaser [†] , als standardisierte Keramikfaser verwendet, chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
Recovery-Periode	Erholungsphase (hier: Zeitraum, in dem die Versuchstiere nicht gegen Faserstäube exponiert werden)
REM	Raster-Elektronenmikroskop
Respirationstrakt	gesamte Strecke der Atemwege von der Nase bis zu den Alveolen [†]
Retention	Zurückhalten, beschreibt hier die zu einem bestimmten Zeitpunkt in einem Organ verbliebene Fasermenge

[†] Begriff wird in der Liste separat erläutert

retinieren	Tätigkeitswort zu „Retention“
Retschmühle	Schneidmühle mit Abtrennungsvorrichtung zerkleinerter Materialien durch Siebe
Röntgenspektrum, energie-dispersiv	Röntgenspektrum zur Identifizierung der Faserarten anhand einer halbqualitativen Beurteilung der Elementespektren. Dabei werden die Faserspezies anhand der Linien des Röntgen-Emissionsspektrums unterschieden.
SA	Standardabweichung
Schlackenwolle	zu den Mineralwollen [†] gehörender Fasertyp, hergestellt aus geschmolzener Schlacke (Hochofenschlacke)
Schlackenwolle M	alte Bezeichnung für Schlackenwolle MMVF 22 [†]
Screening	zeit- und kostengünstiges Suchtestverfahren (screen = Sieb), das zu einer ersten Auslese führen soll
SDS	Natriumdodecylsulfat (Natriumlaurylsulfat)
Sedimentation	Ablagerung (hier: von Staub) durch die Einwirkung der Schwerkraft
Sektion	hier: Öffnen der getöteten Tiere und Entnahme der Lunge
seröse Häute	siehe „Pleura“ und „Peritoneum“
Spezies	Art (z.B. Tierart, Faserart)
sphärische Partikeln	kugelförmige Teilchen
sputtern	Zerstäuben einer Festkörperoberfläche durch Beschuß mit energiereichen Ionen oder Neutralteilchen. Hier zur Abscheidung von dünnen Goldschichten auf Filtern
Staubungszahl	allgemein gleichbedeutend mit „Verstaubungsindex“ (siehe dort). Nach DIN. 55 992 Teil 1 [90] Verhältnis der bei der Prüfung ausgetragenen Staubmasse (in mg) zu je 100 g Probe
Std.	Stunde(n)

[†] Begriff wird in der Liste separat erläutert

Steinwolle	Zu den Mineralwollenen [†] gehörender Fasertyp, der aus Schmelzen natürlicher Gesteine und ggf. weiteren Rohstoffen hergestellt wird. Hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung kann im allgemeinen nicht scharf von Glaswolle [†] abgegrenzt werden.
Steinwolle Exp 3	wenig biobeständige Steinwolle, die nur für experimentelle Zwecke hergestellt wurde (chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365)
Steinwolle G	Steinwolle [†] -Fasertyp, chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
Steinwolle HT 3	Steinwolle [†] -Fasertyp, chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
Steinwolle HT 7	kommerzielle Steinwolle [†] (Neuentwicklung); chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
Steinwolle HT 7*	Steinwolle HT 7 mit höherem Anteil dickerer Fasern (inhalierbar für den Menschen)
Steinwolle O	Steinwolle [†] -Fasertyp, chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
Stützgewebe der Lunge	mit interzellulärer Gerüstsubstanz (elastische Fasern) versehenes Bindegewebe mit Gefäßen und Nerven, das die Alveolarstruktur und die Blutversorgung der Lunge aufrecht erhält
subakuter Test	Toxizitätstest mit einer Expositionsdauer zwischen 14 und 28 Tagen
subepitheliales Bindegewebe	unter der äußeren Haut gelegenes Bindegewebe
Surfactant	oberflächenaktive Schicht aus Lipiden [†] und Eiweißen, welche das Innere der Alveolen [†] auskleidet
t	Zeit
T _{1/2}	Halbwertszeit [†]
Thymus	hinter dem Brustbein gelegenes Organ, das eine Rolle bei der Immunabwehr spielt

[†] Begriff wird in der Liste separat erläutert

TL	siehe „Glaswolle TL“
Toxikokinetik	zeitlicher Ablauf von Aufnahme, Verteilung und Elimination einer gegebenen Menge eines toxikologisch bedeutsamen Stoffes im Organismus
toxisch	giftig; wenn im umfassenden Sinne verwendet, ist auch die krebs-erzeugende Wirkung eingeschlossen
Trachea	Luftröhre
tracheobronchial	zum Bereich der Luftröhre und der Bronchien† gehörend
Translokation	Verlagerung
translozieren	Tätigkeitswort zu „Translokation“
Transsudation, alveolär kapillär	Austreten nicht entzündlicher zell- und eiweißarmer Flüssigkeit aus den Kapillaren der Alveolarseptent, Hinweis auf Schädigungen des Alveolarepithels†
TRGS	Technische Regeln für Gefahrstoffe
Tris-Puffer	wäßrige Lösung aus Tris(hydroxymethyl)-aminomethan. Der ange-strebte pH-Wert wird mit Salzsäure eingestellt.
VB	Vertrauensbereich
Vena cava caudalis	untere Hohlvene, führt Blut im wesentlichen aus den Beinen, den Eingeweiden und der Bauchwand zum rechten Herzen; beim Menschen i.d.R. als „Vena cava inferior“ bezeichnet
Venae jugulares	Drosselvenen, führen das Blut aus dem Kopf-Hals-Bereich in die obere Hohlvene
Verstaubungsindex	Quotient aus der Masse des freigesetzten Staubes und der Gesamtmasse des eingesetzten Materials
Verstaubungsverhalten	Eigenschaft von Produkten (Stoffe, Zubereitungen, Erzeug-nisse), Staub beim Umgang zu emittieren. Bei faserförmigen Pro-dukten ist (in der Regel) die Anzahl der freigesetzten WHO-Fasern ein Maß für die Verstaubung.

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

WHO-Fasern	Fasern eines bestimmten Größenbereichs, die nach der Empfehlung einer WHO-Arbeitsgruppe bei der Regulation zur Vorbeugung von Lungenkrankheiten berücksichtigt werden sollten. Die Abmessungen sind folgendermaßen festgelegt: Länge-zu-Durchmesser-Verhältnis $> 3 : 1$ (= allgemeine Faserdefinition), Länge $> 5 \mu\text{m}$, Durchmesser $< 3 \mu\text{m}$
Wistar-Ratten	Bezeichnung eines Laborratten-Stammes
Wo.	Wochen (n)
Wollastonit	natürliche kristalline† Faser aus Calciumsilikat (CaSiO_3)
X 607	spezieller Fasertyp, chem. Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
Xonotlit	natürliche anorganische Faser (monokristallines Calciumsilicat-Hydroxid-Mineral)
Zellinfiltrat, interstitiell mononukleär	Ansammlung von Monozyten† und Lymphozyten† im Stützgewebe† der Lunge
Zementwolle	KMF1-Fasertyp für den Hochtemperaturbereich (Neuentwicklung), der aufgrund seiner Eigenschaften weder zur Gruppe der keramischen Fasern noch zu den Mineralwollen gezählt werden kann. Chemische Zusammensetzung siehe Tabelle auf Seite 365
Zetwool	englische Abkürzung für Zementwolle†
ziliäre Clearance	siehe „Clearance“
Zilie	Wimperhärchen, Fortsatz bestimmter Zelltypen. Durch die koordinierte Bewegung der Zilien eines Zellverbandes können Flüssigkeiten und Partikeln transportiert werden.
ziliert	bewimpert
zytosolisch	zum Zytosol (= Zellflüssigkeit) gehörend
zytotoxisch	zellschädigend

† Begriff wird in der Liste separat erläutert

Chemische Zusammensetzung der im Text erwähnten Faserspezies

Substanz	SiO ₂	Al ₂ O ₃	B ₂ O ₃	TiO ₂	FeO _x	MgO	CaO	BaO	Na ₂ O	K ₂ O
B-01-0.9	61,0		3,3		<0,5	3,2	16,5		15,4	<1,0
B-09-2.0	62,0		5,0	6,0			8,8		15,0	2,9
B-20-2.0	45,0	12,0			5,0	15,0	20,0		3,0	
Glaswolle C	61,0	0,9	9,4			2,7	6,7		15,1	0,6
Glaswolle TL	64,9	3,1	4,7	0,1	0,3	2,9	7,0	0,1	15,3	1,5
MMVF 11	63,4	3,9	4,5	0,1	0,3	2,8	7,5	<0,1	15,5	1,3
Steinwolle Exp 3	51,0	0,3		0,1	0,3	30,0	17,1		< 0,1	<0,1
Steinwolle HT 3	38,8	32,8		1,6	7,0	15,3	1,8		0,2	0,7
Steinwolle HT 7	38,8	22,1		2,0		10,6	14,7		1,8	0,8
Steinwolle G	61,4	0,2			6,1	8,8	18,6		4,5	0,2
Steinwolle O	51,8	2,1			0,4	10,0	31,6		4,0	
M-Steinwolle	37,8	11,0	<0,1	1,4	9,8	9,9	25,2		1,4	0,6
MMVF 21	46,0	13,0		2,8	6,3	9,2	16,8		2,8	1,2
MMVF 22	38,2	10,3		0,5	0,3	10,0	37,4		0,4	0,4
RCF 1	47,7	48,0		2,0	1,0	0,1	0,1		0,5	0,2
Zetwool	0,5	56,0	0,1			0,4	42,8		0,1	
X 607	59,6	0,2			0,1	0,6	38,3		0,0	

VII Anschriften der Autoren

VII Anschriften der Autoren

- Dr.-Ing. Axel Barig Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit — BIA
D-53754 Sankt Augustin
- Dr. Bernd Bellmann Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung
(Fraunhofer ITA)
Nikolai-Fuchs-Str. 1, D-30625 Hannover
- Dr. Helmut Blome Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit — BIA
D-53754 Sankt Augustin
- Dr. Thure Böhm *Fraunhofer-Institut für Silicatiforschung (Fraunhofer ISC)*
Außenstelle Bronnbach
Bronnbach 28, D-97877 Wertheim
- Prof. Dr. Robert C. Brown Toxicology Services
4 Bramble Close, Uppingham
Rutland LE 15 99 H, U.K.
- Dr. Utz F. Draeger Deutsche Rockwool Mineralwoll-GmbH
Karl-Schneider-Str. 14 - 18, D-45966 Gladbeck
- PD Dr. Hartwig Muhle Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung
(Fraunhofer ITA)
Nikolai-Fuchs-Str. 1, D-30625 Hannover
- Dr. Ulrich Nebe Didier-Werke AG
Abraham-Lincoln-Str. 1, D-65189 Wiesbaden
- Dr. Eberhard Nies Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit — BIA,
D-53754 Sankt Augustin
- Prof. Dr. Friedrich Pott Medizinisches Institut für Umwelthygiene
an der Heinrich-Heine-Universität
Auf'm Hennekamp 50, D-40225 Düsseldorf
- Dr.-Ing. Klaus Sebastian Fraunhofer-Institut für Silicatiforschung (Fraunhofer ISC)
Außenstelle Bronnbach
Bronnbach 28, D-97877 Wertheim