

BIOLOGISCHES MONITORING: NEUE ENTWICKLUNGEN UND METHODEN



Prof. Dr. med. Gabriele Leng
Institut für Biomonitoring, Leverkusen, Deutschland

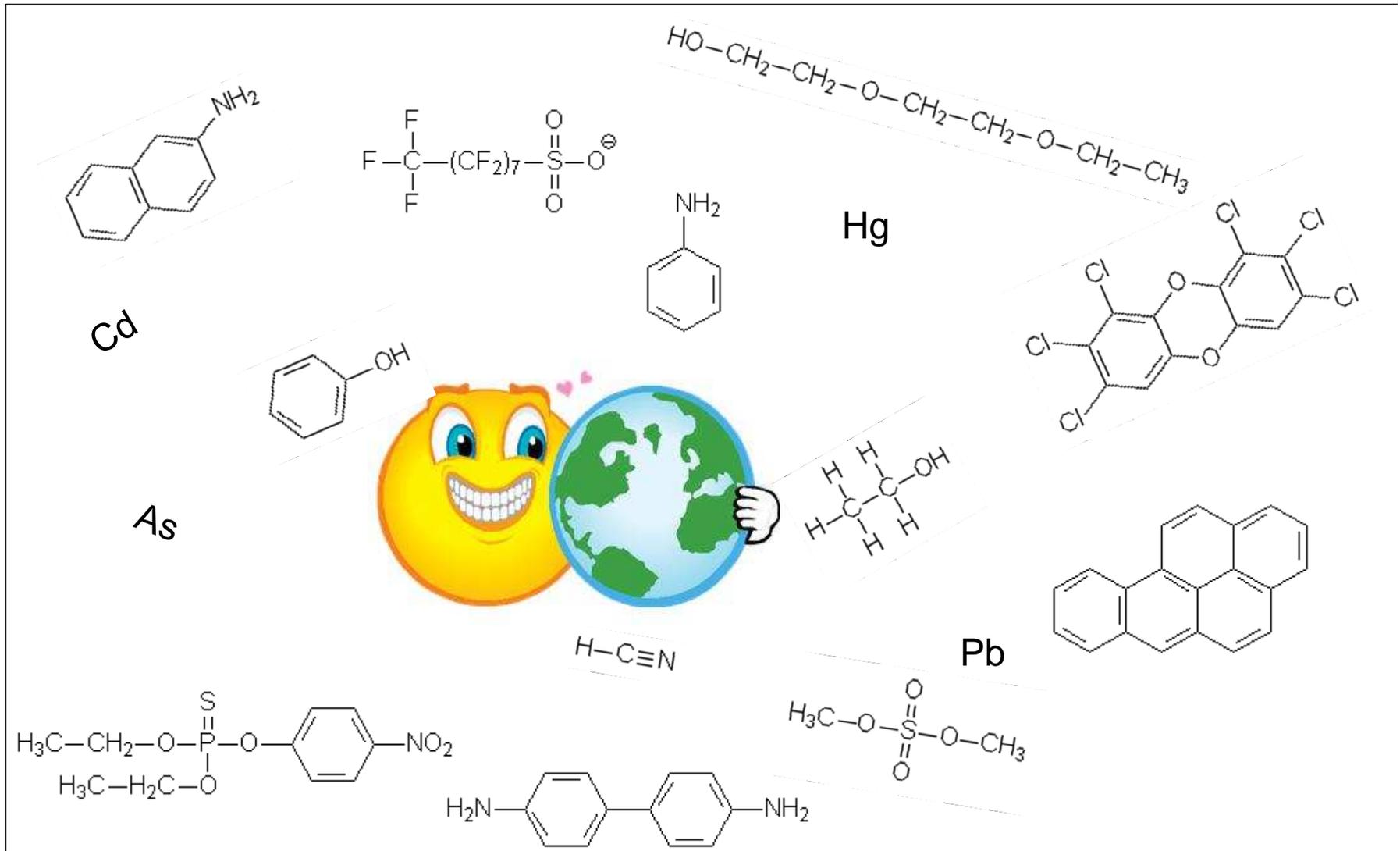
INSTITUT FÜR BIOMONITORING

- Team aus 16 erfahrenen Mitarbeitern, Leitung Prof. Dr. Gabriele Leng
- Institut hat 60 Jahre Erfahrung im Biomonitoring
- Umfassender Leistungskatalog, weltweiter Service
- Notfall-Biomonitoring bei Unfällen
- Analytische Expertise u.a. im Bereich GC/MS, GC/MS/MS, GC/HRMS, LC/MS/MS, ELISA

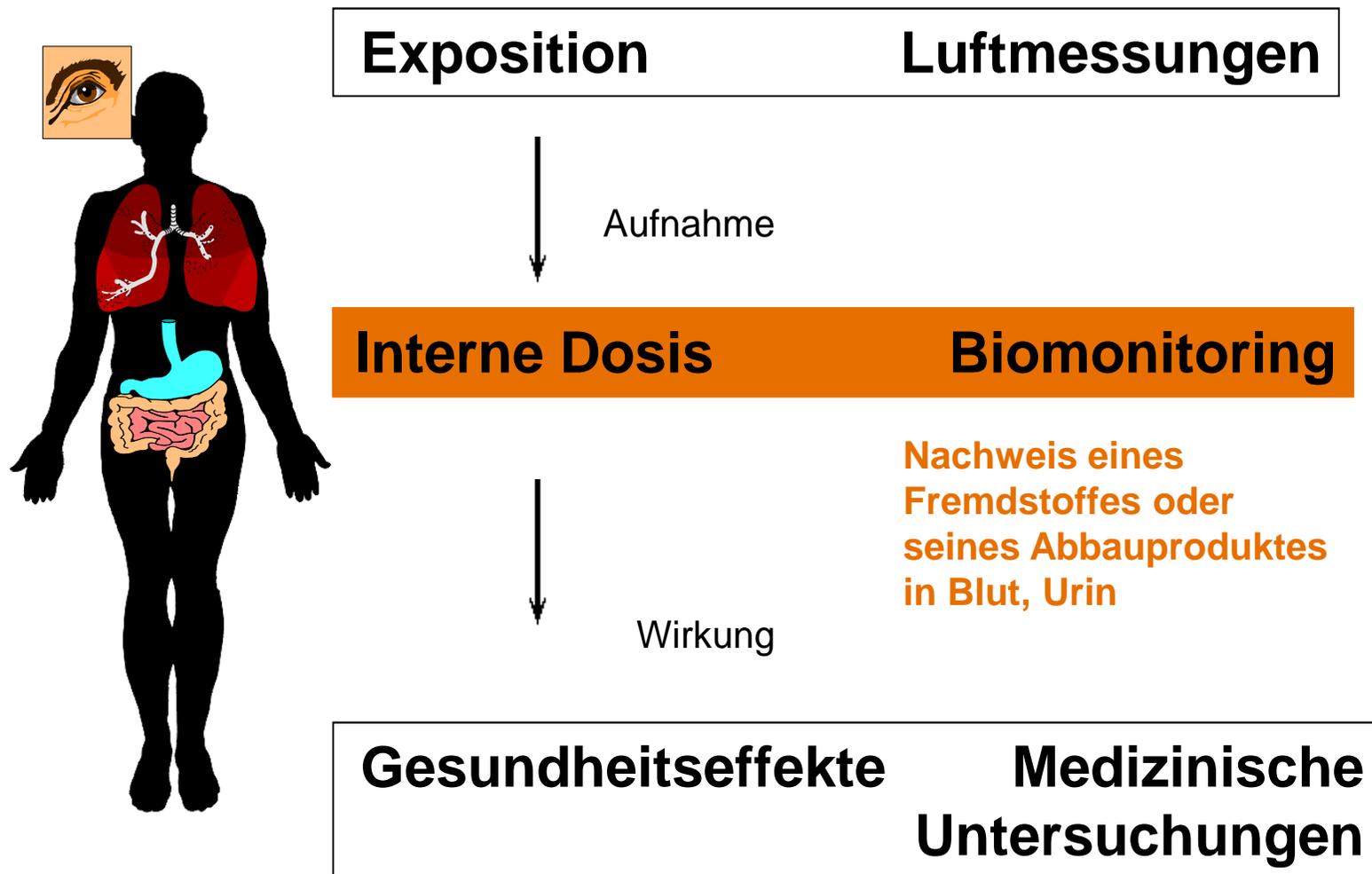
www.biomonitoring.currenta.de

- Qualitätssicherung
 - Akkreditiert nach DIN ISO 17025
 - Regelmäßige Teilnahme an den Ringversuchen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. (DGAUM), (Erlangen)
- Methodenentwicklungen, seit 2010 Mitarbeit im Humanbiomonitoring-projekt BMU/VCI

GEFAHRSTOFFE SIND ÜBERALL...



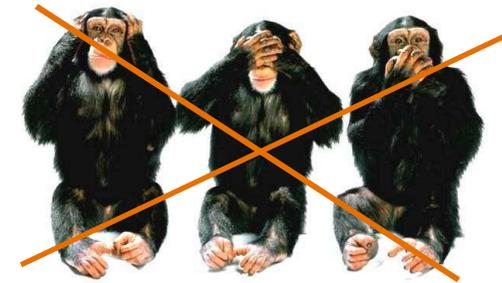
BIOMONITORING



HUMAN BIOMONITORING (HBM)



HBM erlaubt uns, fundierte Entscheidungen treffen zu können



- Arbeitsmedizin - etabliertes Arbeitsschutz-Tool
- Allgemeinbevölkerung - Hintergrundwerte für Chemikalien
- Allgemeinbevölkerung - Trends nach Verboten (Blei, PCP, PFOS)
- Regierung - Informations- und Kontrollinstrument
- Regierung – Früherkennungssystem zur Aufspürung signifikanter Umweltverschmutzungen

NEUE ENTWICKLUNGEN UND METHODEN

- Seit 2010 Kooperationsprojekt Human-Biomonitoring von BMU (Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit) und VCI (Verband der chemischen Industrie e.V.)
 - Laufzeit mind. 10 Jahre
1. Schritt (VCI):
 - Entwicklung von neuen Humanbiomonitoring - Methoden für 3 - 5 Substanzen pro Jahr
 2. Schritt (BMU/UBA/VCI):
 - Ableitung von Bewertungsmaßstäben (in Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer Institut in Hannover)
 3. Schritt (BMU/UBA):
 - Anwendung der entwickelten Methoden - Untersuchung von Blut und Urinproben der Allgemeinbevölkerung (Umweltprobenbank, Umweltsurvey etc.)

PROJEKTSTAND 01.09.2013

- ✓ Analysenmethodenentwicklungen abgeschlossen für:
 - Di-(isononyl)-cyclohexan-1,2-dicarboxylat (DINCH)
 - Bis-(2-propylheptyl)phthalat (DPHP)
 - 4,4'-Diphenylmethandiisocyanat (MDI)
 - 2-Mercaptobenzothiazol (MBT)
 - Verzweigtem p- Nonylphenol (NP) und p-tert-Octylphenol (OP)
 - N-Methyl-2-pyrrolidon (NMP)
 - N-Ethyl-2-pyrrolidon (NEP)

- In Bearbeitung sind Methodenentwicklungen für:
 - Hexabromcyclododecan (HBCD)
 - 3-(4-Methylbenzyliden)-campher (4-MBC)
 - Geraniol
 - Octylmethoxycinnamat (OMC)
 - 2,6-Di-tert-butyl-p-kresol (BHT)
 - Mesamoll
 - CIT/MIT
 - Di-(2-ethylhexyl)terephthalat (DEHTP)
 - Tri(2-ethylhexyl)-trimellitat (TOTM)

BIOMONITORING IN DER ARBEITSMEDIZIN

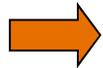
- Verordnung zur Arbeitsmedizinischen Vorsorge (ArbmedVV)
- Arbeitsmedizinische Regel (AMR 6.2) – früher: TRGS 710
- TRGS 903 (Biologische Grenzwerte)
- MAK-/BAT-online, GESTIS, BAuA Biomonitoring Auskunftssystem
- Leitlinie der DGAUM – AWMF online: Human Biomonitoring
- Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV),
Buch „Arbeitsmedizinische Vorsorge“



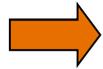
WERTE ZUR BEWERTUNG

1. Biologische Grenzwerte (BGW) – Gesundheitsbasiert, TRGS 903, BMAS
2. Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT) – Gesundheitsbasiert, DFG
3. Biologische Leitwerte (BLW) - DFG
4. Expositionsäquivalente für Krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA) – Luftkorrelationen, DGF
5. Biologische Arbeitsstoff-Referenzwerte (BAR) – Hintergrundbelastung, DFG
6. Referenzwerte aus der Umweltmedizin - UBA
7. Humanbiomonitoring-Werte (HBM) - UBA
8. Internationale Werte (z.B. BEI)
9. Laborinterne Bewertungsmaßstäbe
10. Werte für das biologische Material abgeleitet aus den Exposition-Risiko-Beziehungen

WANN IST BIOMONITORING INDIZIERT?



**Ergebnis der Gefährdungsbeurteilung
als Kontrolle der Schutzmaßnahmen
(§ 3 ASiG)**



**Im Rahmen der arbeitsmedizinischen
Vorsorgeuntersuchungen nach ArbMedVV**



GEFÄHRDUNGSBEURTEILUNG

1. Gefährdungsbeurteilung (Bestandsaufnahme)



2. Festlegung von Schutzmaßnahmen



3. Biomonitoring (Kontrolle der Schutzmaßnahmen)

Resultate des Biomonitorings fließen wieder in die Gefährdungsbeurteilung ein:

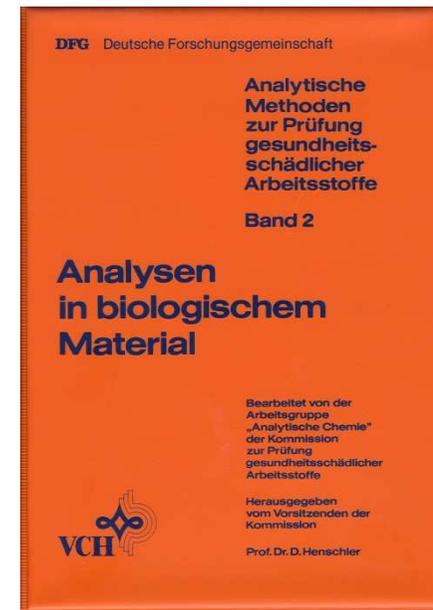
- Keine Auffälligkeiten: Schutzmaßnahmen sind ausreichend
- Auffälligkeiten: sowohl Schutzmaßnahmen als auch Arbeitshygiene müssen überprüft werden

ARBMEDVV

Vorsorgeuntersuchungen umfassen:

...

- Biomonitoring ist, soweit **anerkannte Verfahren** dafür zur Verfügung stehen und Werte zur Beurteilung, insbesondere biologische Grenzwerte, vorhanden sind, Bestandteil der arbeitsmedizinischen Vorsorgeuntersuchung.
- Anerkannte Verfahren (DFG)
 - > 160 Biomonitoring-Methoden



AMR BIOMONITORING (EHEMALS TRGS 710)

Biomonitoring ist sinnvoll

- Wenn unmittelbarer Hautkontakt mit Gefahrstoffen besteht, die gut oder überwiegend über die Haut aufgenommen werden
- Wenn eine Exposition gegenüber Gefahrstoffen mit langen biologischen Halbwertszeiten vorliegt
- Bei Exposition gegenüber krebserzeugende, erbgutverändernden, fortpflanzungsgefährdenden Stoffen
- Bei Exposition gegenüber Stoffen, bei denen die Gefahrstoffe luftmesstechnisch schwer erfassbar sind (Reparaturarbeiten, Stördienste, Arbeiten im Freien, stark schwankende Raumlufkonzentrationen, häufig wechselnde Stoffe im Chargenbetrieb)
- Wenn die innere Gefahrstoffbelastung durch körperliche Arbeit modifiziert ist (Hitzearbeit)

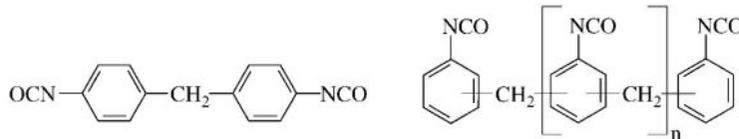
NEUE ENTWICKLUNGEN UND METHODEN

1. Ist eine Belastung durch Gefahrstoffe am Arbeitsplatz heutzutage überhaupt noch ein Thema?
2. Welche neuen Entwicklungen gibt es beim Biomonitoring?
 - ❖ Spezifische Marker
 - ❖ Neue Methoden
3. Welche Methode ist geeignet zum Nachweis eines Markers?

ISOCYANATE



- Aromatische Isocyanate: MDI



MDI (Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat)

Ausgangssubstanzen für die Herstellung von Polyurethanen, Spezialkunststoffen, Lack- und Kleberohstoffen, Gießelastomeren Bauschaum (Sprühdosen), 2-Komponentenkleber, Farben

Polymere: Schaum für hitzebeständige Materialien, Autositze

Monomere: Schuhsohlen, Beschichtungsmaterialien, Kunstleder

- Aliphatische Isocyanate: HDI



HDI (Hexamethylen-1,6-Diisocyanat)

Härter in 2-Komponenten-Polyurethan-Lacken, z.B. im Automobilbau

ISOCYANATE – GESUNDHEITSASPEKTE

- Akut
 - Reizwirkung auf Haut und Schleimhäute
 - Sensibilisierung der Atemwege und der Haut
- Chronisch
 - Isocyanatasthma
- MAK-Wert MDI: $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$
- MAK-Wert HDI: $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (5 ppb)
- Symptomatik schon bei geringen Konzentrationen möglich nach erfolgter Sensibilisierung
- Kreuzsensibilisierung gegenüber anderen Isocyanaten möglich

➔ Arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchung nach G 27 „Isocyanate“
Inhalt: U.a. Biomonitoring und Nachweis von spezifischen
IgE MDI, TDI, HDI, IPDI

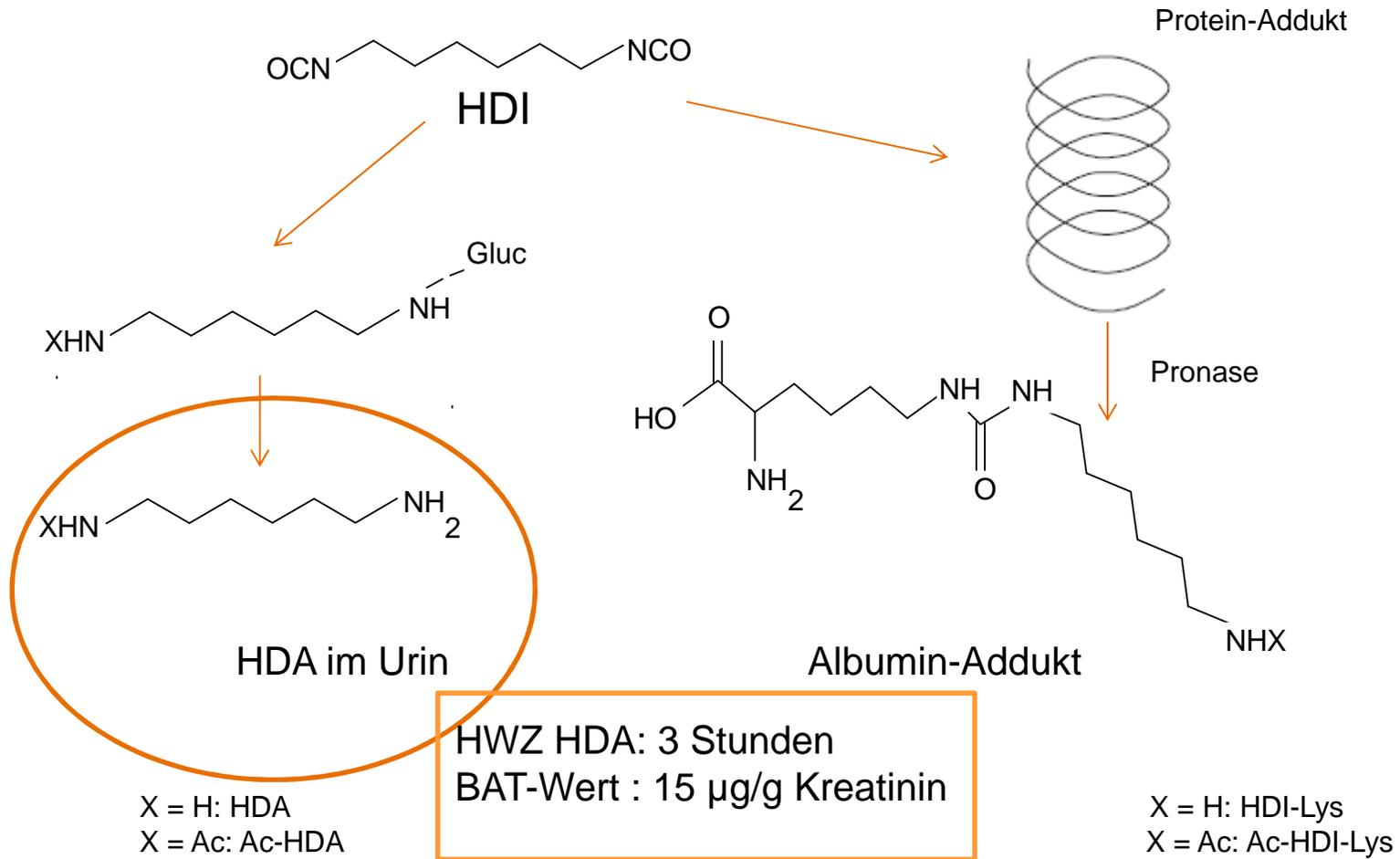


GEFAHRSTOFFBELASTUNG – (K)EIN THEMA IN DER ARBEITSWELT?

HEXAMETHYLEN-1,6-DIISOCYANAT (HDI)

Leng et. al: Biomonitoring im Rahmen der arbeitsmedizinischen Vorsorgeuntersuchung G27 am Beispiel von Hexamethylen-1,6-Diisocyanat (HDI), Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed 48, 392-396, 2013

METABOLISMUS – HDI



HDI-BIOMONITORING BEI MITARBEITERN EINES PRODUKTIONSBETRIEBES

- In einem Produktionsbetrieb von HDI wurde im Rahmen der Arbeitsmedizinischen Vorsorgeuntersuchungen festgestellt (2011):
- Erhöhtes HDA im Urin (z.T. Werte > 300 µg/l)
- Kein Schema oder Hot spot erkennbar
- Problem - höchste Werte nicht bei Produktionsmitarbeitern sondern bei:
 - Messwartemitarbeitern
 - Büromitarbeitern



LUFTMESSUNGEN UND WISCHPROBEN

Luftmessungen:

- AGW HDI = $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$
- Meßwerte meist $< \text{NWG}$, immer $< \text{AGW}$
=> inhalative Belastung kann ausgeschlossen werden



Wischproben:

- HDI wurde nachgewiesen z.B. an Türen, Materiallager, Handlauf im Treppenhaus, Toiletten, Tastatur Messwarte, Tische Messwarte, Werkzeug von Werkstattmitarbeitern, Lenkrad Gabelstapler
=> Verschleppung von HDI



Materialproben:

- HDI wurde nachgewiesen in Handschuhen sowie auf Schnürsenkeln der Sicherheitsschuhe
=> dermale Aufnahme von HDI



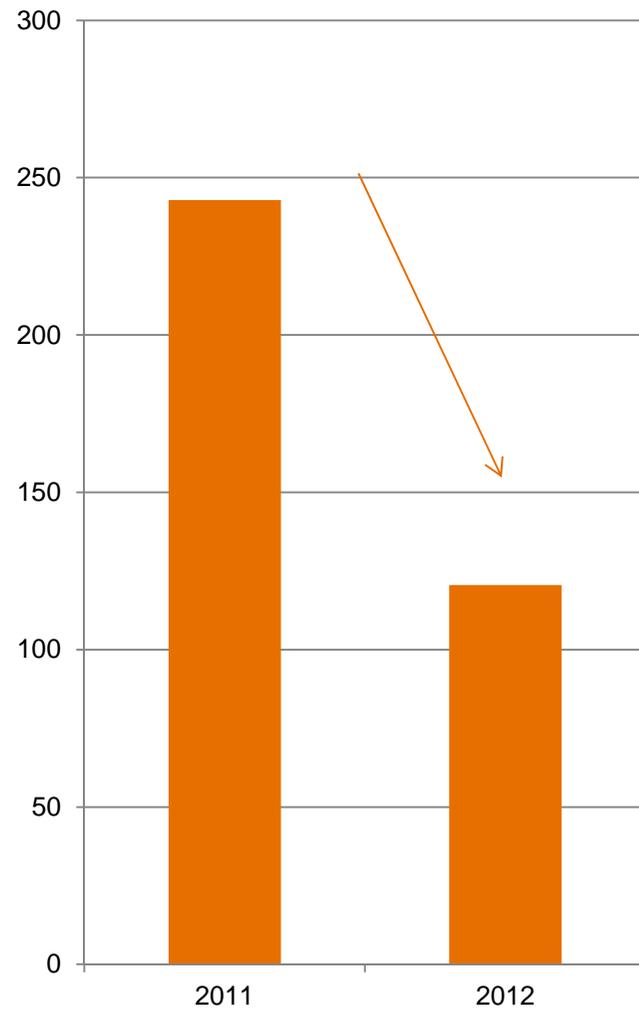
KONSEQUENZEN

- Schaffung von Schwarz-Weiß-Bereichen (Etablierung von strikten arbeitshygienischen Standards)
 - Regelung für Handläufe festlegen (Handschuhe ja/nein // wo)
 - Ablage von üblicher PSA außerhalb des Weiß-Bereiches
 - Ausreichende Ablagemöglichkeiten für PSA
 - Maßnahmen zur Erleichterung der PSA Nutzung (z. B. ortsnaher Handschuhschrank)
 - Handwäsche vor Betreten von Weißbereichen + nach Binden/Anziehen der Schuhe
 - Ergänzende Installation von Waschbecken an den Zugängen zu den Weißbereichen
 - Zugangbeschränkungen zu Weißbereichen
 - Keine Arbeitsmittel (z.B. Werkzeug, Probenbehälter etc) innerhalb von Weißbereichen
 - Anpassung von Reinigungsplänen

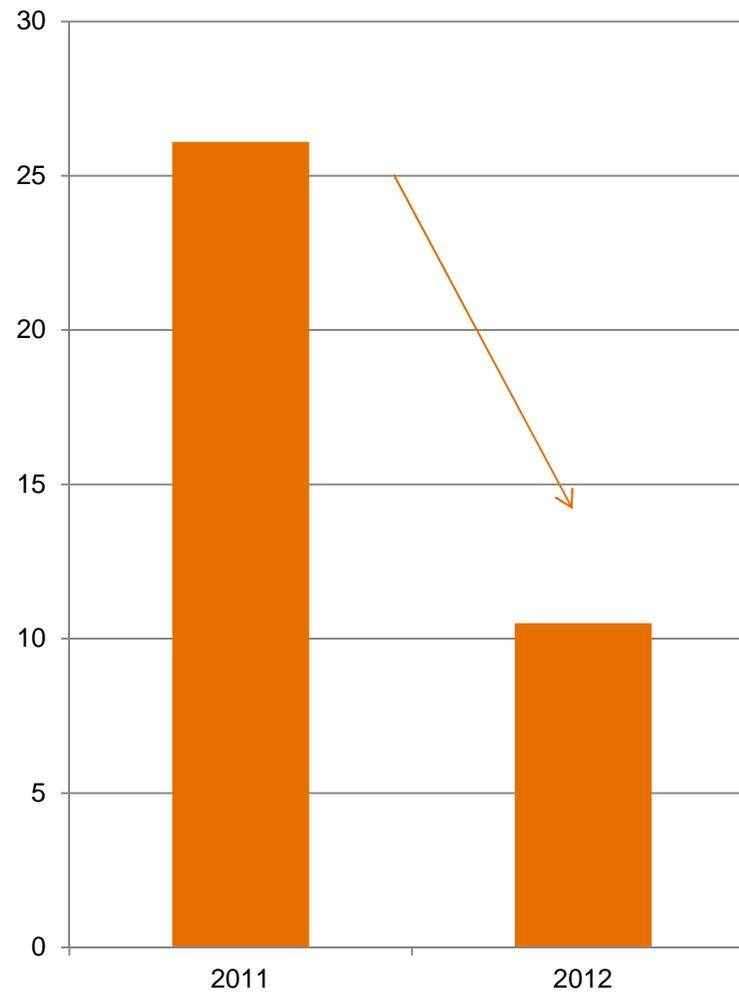
- Weißbereiche (besser Grau-Bereiche)
 - Messwarte, Büros, Besprechungsräume, Pausenräume, Treppenhaus sowie Nebenräume

- Bei Anlagenneubau strikte Trennung von Produktion und Administration incl. Messwarte

HDA ($\mu\text{g/l}$) IM URIN 2011 VERSUS 2012



Max



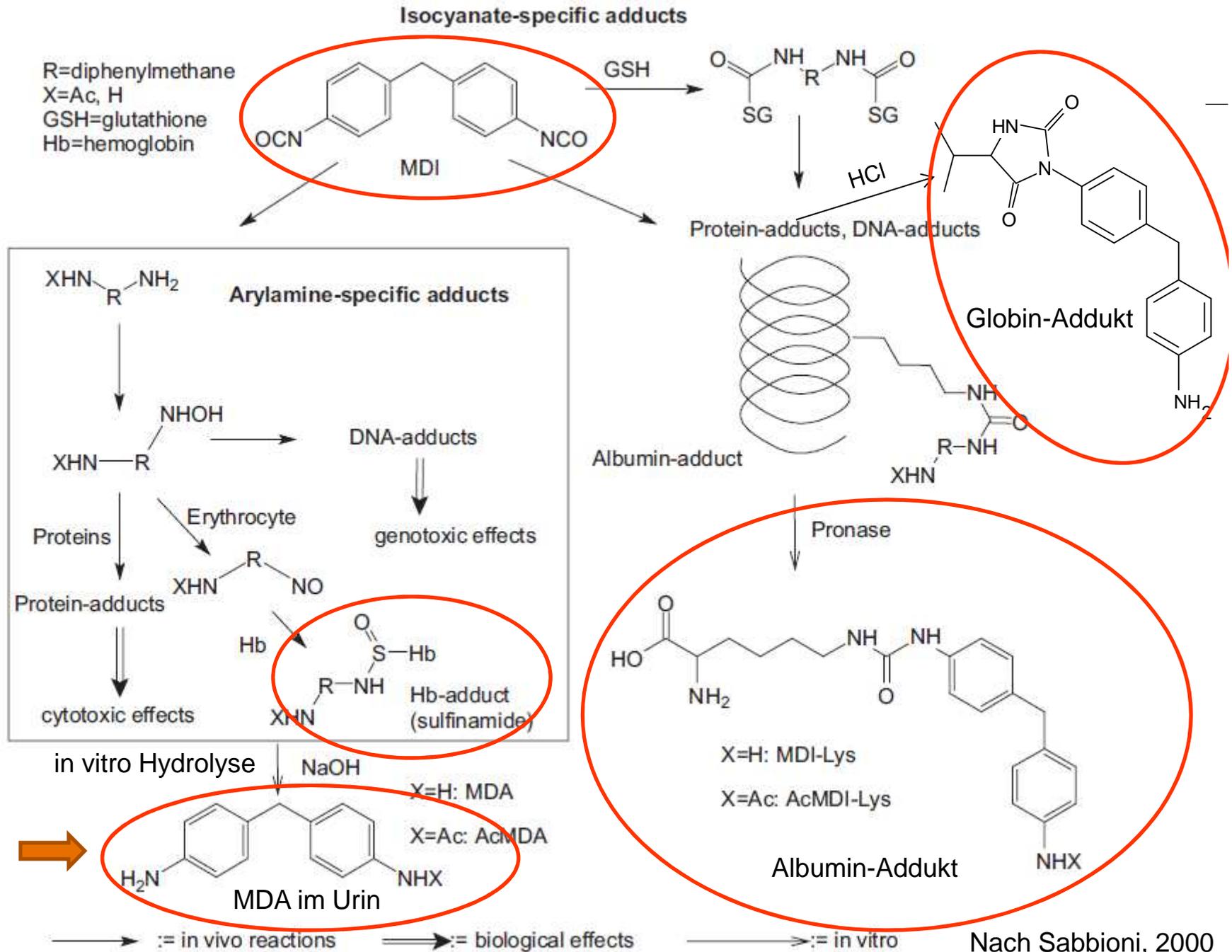
Mittelwert

SPEZIFISCHE MARKER, NEUE METHODEN

DIPHENYLMETHAN-4,4'-DIISOCYANAT (MDI)

Gries, Leng: Analytical determination of specific 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate hemoglobin adducts in human blood, Analytical and Bioanalytical Chemistry (published online), 2013

METABOLISMUS - MDI



MDI – ANALYSENMETHODEN

1. Amine im Urin, DFG 1994:

- Kurzzeitparameter, erfasst Belastung der letzten 2.5 - 3.5 Tage
- nicht isocyanat-spezifisch, keine Unterscheidung zwischen Isocyanat und Amin
 - BLW-Wert: 10 µg/L Urin
 - BAR-Wert: < 0.5 µg/L Urin

2. Hämoglobin-Addukte im Blut, DFG 2000:

- Langzeitparameter, erfasst Belastung der letzten 3 Monate
- nicht isocyanat-spezifisch, keine Unterscheidung zwischen Isocyanat und Amin
- Bindung an Cystein
 - BAR-Wert: < 5 ng/L Blut

3. Globinaddukte :

- Langzeitparameter, Erfassung der MDI-Belastung der letzten 3 Monate
- Spiegelt kumulative Belastung wieder (arbeits- und umweltmedizinisch interessant)
- isocyanat-spezifisch
- Bindung an Valin; Bezeichnung: MDA-Val-Hyd
- Bisher keine Erkenntnisse beim Menschen, nur von Ratte

WARUM IST SPEZIFITÄT WICHTIG?

Fakt: an vielen Arbeitsplätzen ist eine potentielle Exposition sowohl gegenüber dem Isocyanat MDI als auch dem aromatischen Amin MDA (Methylen-dianilin) möglich

Problem: Beide Stoffe sind toxikologisch sehr unterschiedlich:

- ❖ MDA - Schwerpunkt Krebserzeugend K 2
- ❖ MDI - Schwerpunkt Sensibilisierung Atemwege und Haut

- ❖ Urinmarker gibt Summe der MDI + MDA Belastung an
- ❖ Globin-Marker gibt selektiv MDI – Belastung an

Daher:

- ❖ Globin-Marker MDA-Val-Hyd als spezifischer Marker für MDI!

Mit spezifischem Marker dann möglich:

- ❖ Bewertung der Belastung + punktuelle Quellensuche im Betrieb

BERUFLICHE MDI-BELASTUNG

Mitarbeiter	Urin 4,4'-MDA (ng/L)	Hb-Addukt Hb-MDA (ng/L)	Globin-Addukt MDA-Hyd (ng/L)
Chemie			
2	940	<10	42
5	380	<10	186
8	260	<10	27
9	680	<10	22
12	160	<10	76
13	160	<10	15
14	170	<10	10
15	k.P.	<10	31
16	1440	<10	97
17	9900	30	850
18	200	<10	17
24	<100	<10	<10
25	<100	<10	<10
26	100	<10	<10
27	<100	<10	91
28	10600	18	514
29	9400	12	185
31	230	<10	43

Beim Menschen:

MDA im Urin >>

Globin-Addukt >

Hb-Addukt

Bestimmungsgrenze: 10 ng/l
Meßmethode: GC/HRMS

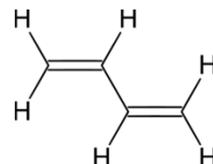
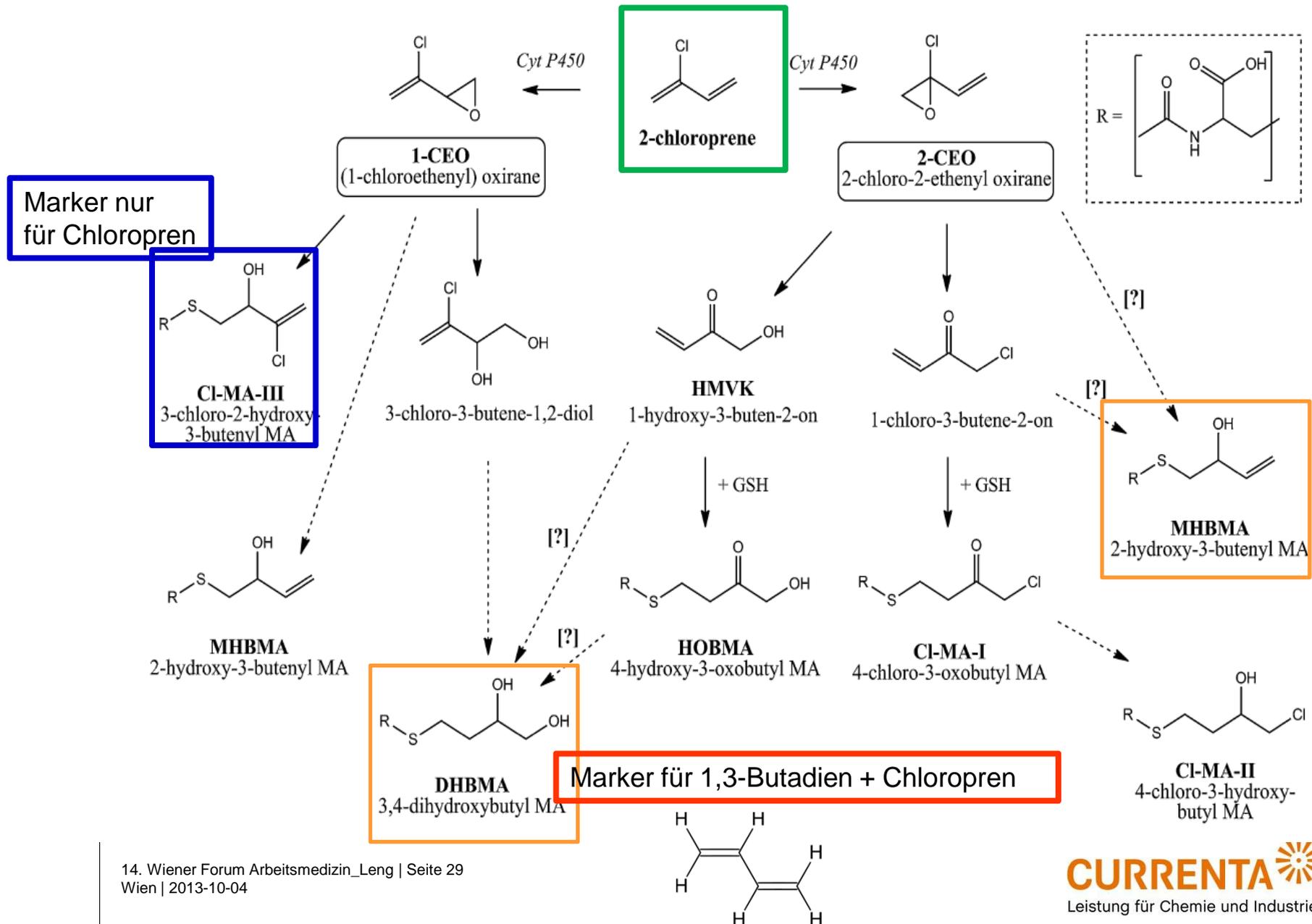
SPEZIFISCHE MARKER, NEUE METHODEN

CHLOROPREN

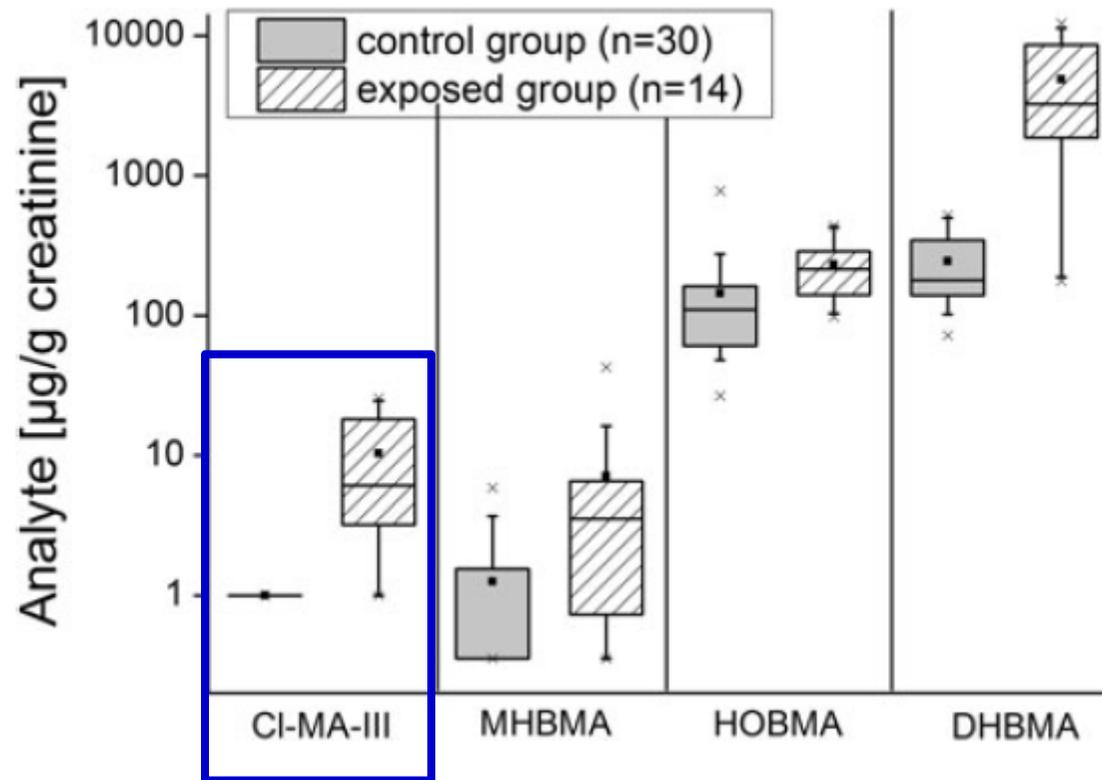
- wird durch Chlorierung von 1,3-Butadien hergestellt
- Verwendung: Herstellung des Elastomers Polychloropren (Markennamen: Neopren®, Baypren®)

Eckert, Leng, Gries, Göen: Excretion of mercapturic acids in human urine after occupational exposure to 2-chloroprene. Arch Toxicol 87, 1095-1102, 2013

CHLOROPREN METABOLISMUS



CHLOROPREN MARKER



CL-MA-III ist ein spezifischer Chloroprenmarker, keine Hintergrundbelastung!

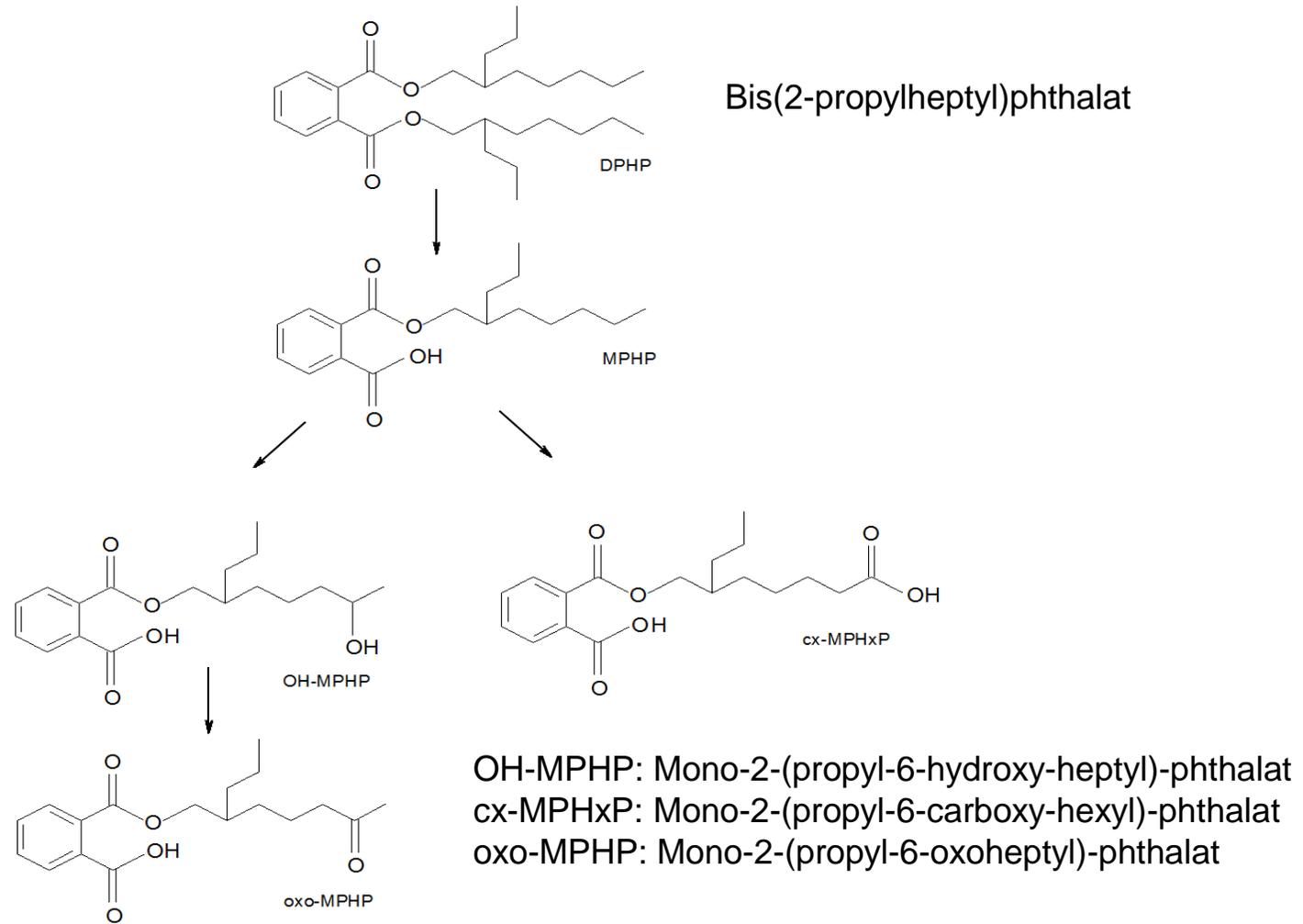
WELCHE METHODE IST GEEIGNET?

BIS(2-PROPYLHEPTYL)PHTHALAT (DPHP)

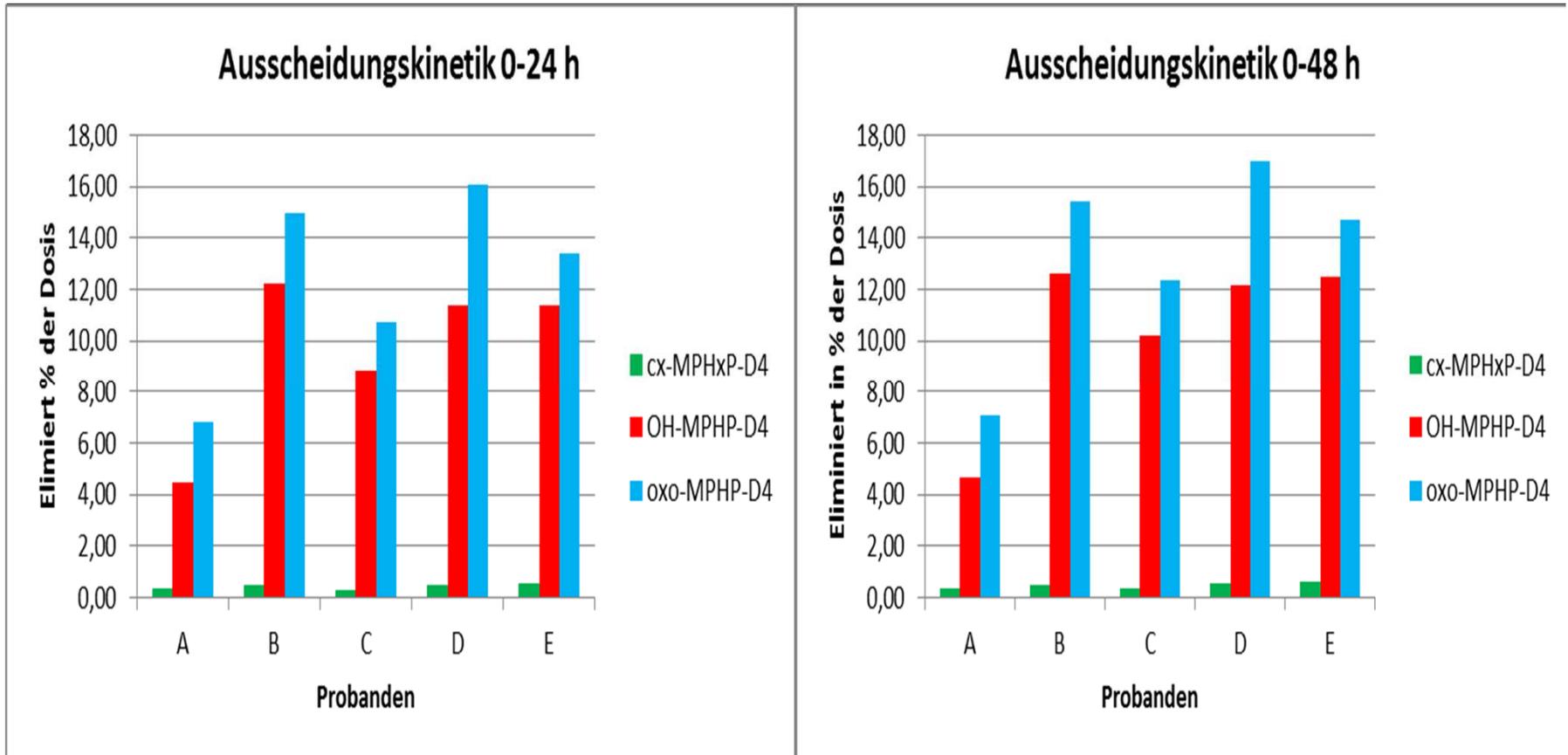
- Weichmacher für technische Anwendungen
- Meßmethode für bisher erfassbare Phthalate: LC/MS/MS

Gries, Ellrich, Küpper, Ladermann, Leng: Analytical method for the sensitive determination of major di-(2-propylheptyl)-phthalate metabolites in human urine, Journal of Chromatography B, 908, 128-136, 2012

DPHP METABOLISMUS

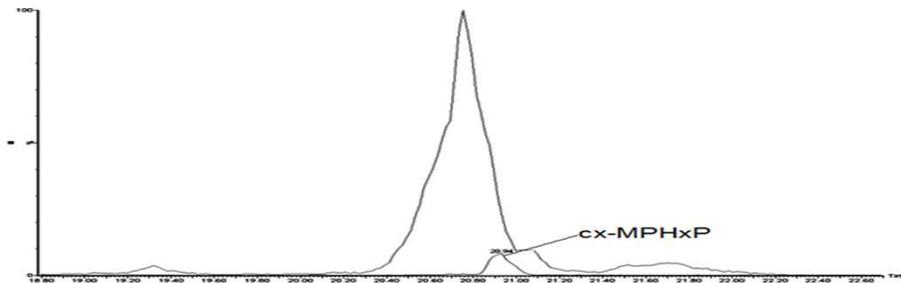


HUMANKINETIKSTUDIE

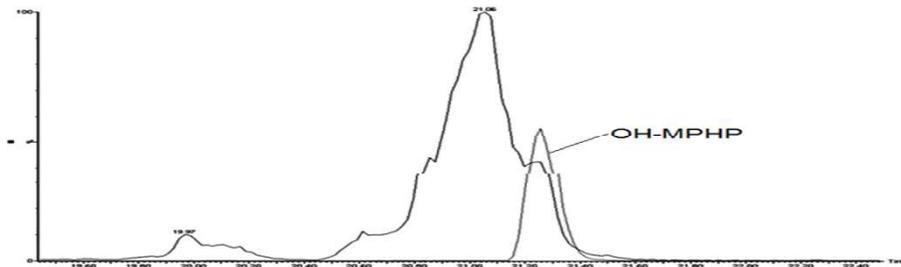


- Durchgeführt vom IPA in Bochum
- 50 mg D4-DPHP oral
- Innerhalb von 48 h werden 24 % der Dosis wiedergefunden
- Hauptmetabolite: oxo-MPHP > OH-MPHP >> cx-MPHxP

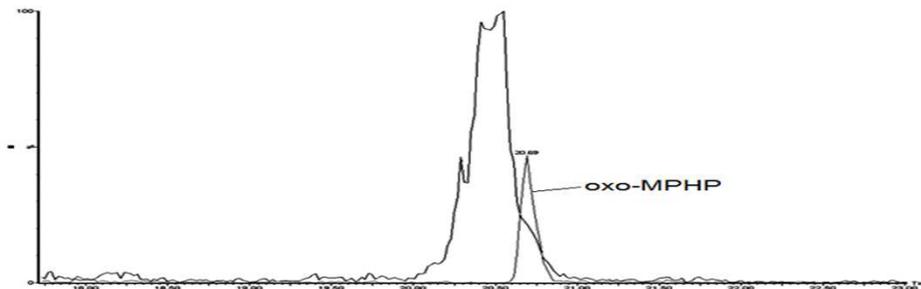
DPHP ANALYSE MITTELS LC-MS/MS



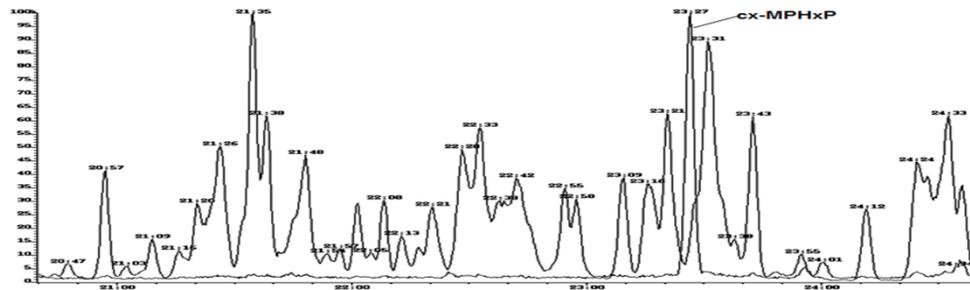
Urinprobe einer DiDP/DiNP exponierten Person, überlagert mit einem 1 µg/L Standard eines DPHP Metaboliten



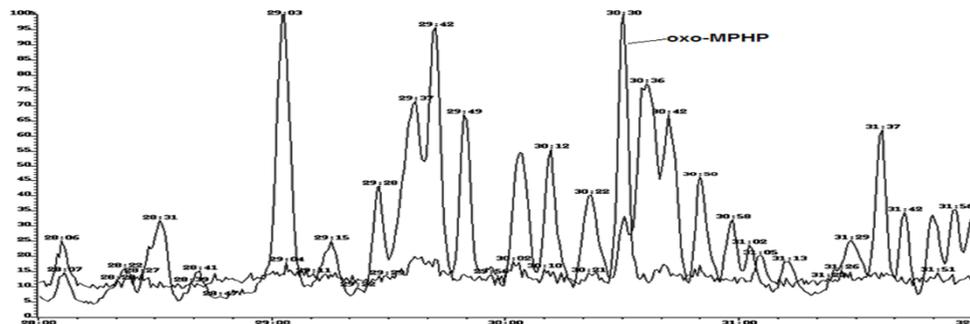
Ergebnis:
Summe der Metabolite von DiDP + DiNP + DPHP werden erfasst, d.h. keine selektive Erfassung einer DPHP-Belastung möglich



DPHP ANALYSE MITTELS GC-HRMS



Urinprobe einer DiDP/DiNP exponierten Person, überlagert mit einem 1 µg/L Standard eines DPHP Metaboliten

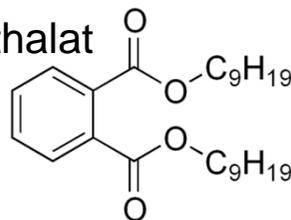


DPHP METABOLITE BEI 12 PERSONEN MIT PLASTISOL (DINP UND DIDP) EXPOSITION

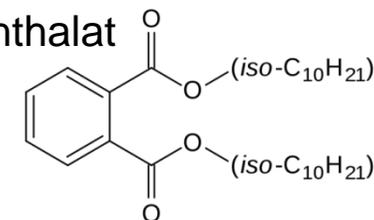
	HPLC-MS/MS			GC-HRMS		
	Summe cx	Summe OH	Summe oxo	cx-MPHxP	OH-MPHP	oxo-MPHP
Median (µg/L)	15.7	44.9	6.1	<LOQ	<LOQ	0.26
Mittelwert (µg/L)	28.3	127.7	16.9	<LOQ	<LOQ	0.31
Bereich (µg/L)	2.1-99.7	7.7-337	1.1-49.2	<LOQ	<LOQ	<LOQ-0.72
Detektionsrate (%)	100	100	100	0	0	58

Proben zur Verfügung gestellt von Holger Koch, IPA

DiNP – Di-iso-nonylphthalat



DiDP – Di-iso-decylphthalat



VIELEN DANK FÜR IHRE AUFMERKSAMKEIT

