

Kupfer und seine anorganischen Verbindungen

[7440-50-8] (Kupfer)

Nachtrag 2014

MAK-Wert (2013)	0,01 mg Kupfer/m³ A
Spitzenbegrenzung (2013)	Kategorie II, Überschreitungsfaktor 2
Hautresorption	–
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung (2006)	Gruppe C
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–

Kupfer-Exposition findet im Erzbergbau, in der Verhüttung und in Raffinerien statt. Kupfer und seine Legierungen werden in großem Maße in der Produktion von verschiedenen elektrischen Einrichtungen, Kochgeschirr, Wasserleitungen und bei der Herstellung von Farbstoffen oder Holzschutzmitteln verwendet. Weiterhin wird Kupfer in Dünger, Tiernahrungszusätzen, Bakteriziden, Fungiziden, Insektiziden und Antifouling-Mitteln eingesetzt (ATSDR 2004; WHO 1998).

Zu Kupfer und seinen anorganischen Verbindungen liegt eine Begründung aus dem Jahr 2004 vor sowie ein Nachtrag zur Entwicklungstoxizität von 2007. Durch eine neue Inhalationsstudie (ICA 2010) ist ein Nachtrag erforderlich.

Allgemeiner Wirkungscharakter

Siehe auch Begründung von 2004.

Nach Inhalation werden die Kupferpartikel in der Lunge von den alveolären Makrophagen aufgenommen und führen zu Entzündungsreaktionen. So zeigen sich auch in einer 28-Tage-Inhalationsstudie an Ratten mit Cu₂O-Aerosol ab der niedrigsten Konzentration von 0,17 mg Kupfer/m³ entzündliche Effekte an der Lunge, begleitet von entsprechenden Veränderungen in der bronchio-alveolären Lavage (BAL) und im Blut.

2 Kupfer und seine anorganischen Verbindungen

Wirkungsmechanismus

Wie schon in der Begründung von 2004 beschrieben, ist das wirksame Agens der anorganischen Kupferverbindungen das Kupfer-Ion selbst. Dies gilt auch für Kupfer-Nanopartikel.

Nach Inhalation werden die Kupferpartikel in der Lunge von den alveolären Makrophagen aufgenommen. Die in die Phagosomen (Fressorganellen) der Makrophagen aufgenommenen Partikel fusionieren mit den Lysosomen. Letztere setzen Enzyme und freie Radikale frei, um im Normalfall den aufgenommenen Fremdkörper, z. B. ein Bakterium, zu verdauen. Partikel, die nicht verdaut werden können, verbleiben beim Menschen bis zu 700 Tage in den Makrophagen und lösen dort Schäden aus (Simkó et al. 2008).

Führen die Schäden zum Zelltod, werden die Partikel wieder freigesetzt und wiederum von Makrophagen aufgenommen, so dass ein Kreislauf entsteht, der unter anderem oxidativen Stress auslöst. Der oxidative Stress wiederum kann zu chronischen Entzündungsreaktionen führen (Simkó et al. 2008).

Toxikokinetik und Metabolismus

Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

In einer Ganzkörper-Inhalationsstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 412 mit Cu₂O an Sprague-Dawley-Ratten (siehe Abschnitt „Subakute, subchronische und chronische Toxizität“) wurden die Kupfer-Konzentrationen in Lunge, bronchio-alveolärer Lavage (BAL), Leber und Gehirn nach vierwöchiger Exposition gegen 0; 0,17; 0,35; 0,7 oder 1,7 mg Kupfer/m³ und zusätzlich nach ein- bis dreiwöchiger Exposition sowie nach der 13-wöchigen Nachbeobachtungszeit nur in der Kontrolle und der höchsten Konzentrationsgruppe untersucht. In der Lunge betrug die Kupfer-Konzentration nach einer Exposition gegen bis zu 0,7 mg Kupfer/m³ bei nahezu allen Tieren weniger als 2,50 µg/g Gewebe (Nachweisgrenze). Nach ein- bis vierwöchiger Exposition gegen 1,7 mg Kupfer/m³ betrug die Konzentration 4,23 bis 5,09 und 4,44 bis 6,87 µg/g Lungengewebe für männliche bzw. weibliche Tiere. Die höchsten Konzentrationen wurden nach ein- bis zweiwöchiger Expositionszeit beobachtet. In der BAL traten bei Exposition gegen 1,7 mg Kupfer/m³ die höchsten Konzentrationen von 400 und 458 ng/ml bei männlichen bzw. weiblichen Tieren nach einer Woche auf, die niedrigsten von 204 bzw. 243 ng/ml nach drei Wochen. Nach vier Wochen lagen ab 0,7 mg Kupfer/m³ die Konzentrationen in der BAL unter der Nachweisgrenze von 100 ng Kupfer/ml, bei 1,7 mg Kupfer/m³ betrug sie 232 ng/ml bei männlichen und 347 ng/ml bei weiblichen Tieren. Nach 13-wöchiger Nachbeobachtungszeit lagen die Konzentrationen in der Lunge und der BAL unterhalb der jeweiligen Nachweisgrenzen. In der Leber konnten nach ein- bis vierwöchiger Exposition nur nach Exposition gegen 1,7 mg Kupfer/m³ leicht erhöhte Kupfer-Konzentrationen nachgewiesen werden. Sie betrug nach vier Wochen 7,58 µg/g bei den männlichen Tieren und 7,64 µg/g bei den weiblichen Tieren (Kontrolle 6,6 bzw. 6,64 µg/g) und waren 13 Wochen nach Beendigung der Exposition

mit 5,82 µg/g und 6,63 µg/g im Vergleich zur Kontrolle (5,06 bzw. 6,48 µg/g) nicht mehr statistisch signifikant erhöht. Die höchsten Werte traten auch hier nach einwöchiger Exposition gegen 1,7 mg Kupfer/m³ auf, was zeigt, dass Kupfer nicht in der Leber akkumuliert. Im Gehirn wurde in keiner der Gruppen nach ein- bis vierwöchiger Exposition eine erhöhte Kupfer-Konzentration beobachtet (ICA 2010).

Erfahrungen beim Menschen

Allergene Wirkung

Seit der Begründung von 2004 liegen nur wenige weitere Fallberichte über vermutete kontaktallergene Reaktionen auf Kupfer vor. Diese betreffen eine Frau mit einem möglicherweise durch eine Kupfer-haltige Prothese verursachtem Lichen planus (Knötchenflechte) der Mundschleimhaut und einen Angestellten einer Spielbank mit einer vermutlich durch den Kontakt mit Münzen verursachten Dermatitis der Fingerkuppen und Augenlider. Beide Patienten zeigten im Epikutantest eine positive Reaktion auf 2% Kupfersulfat in Vaseline (Paredes Suárez et al. 2002; Vergara et al. 2004). Für einen weiteren positiven Epikutantest bei einer Frau mit nicht näher beschriebenen Beschwerden an der Mundschleimhaut fehlen Angaben zu den Testbedingungen (Gerhardsson et al. 2002). Bei einem Automechaniker, bei dem seit fünf Monaten ein arbeitsplatzabhängiges Handekzem bestand, trat nach einer Lokalbehandlung der Hände mit 0,005%iger wässriger Kupfersulfat-Lösung sowie einer topischen Betamethason-Behandlung ein Ekzemschub im Bereich der Hände auf. Der Patient zeigte im Epikutantest nach 48 und 72 Stunden eine isolierte Reaktion auf eine 5%ige wässrige Kupfersulfat-Zubereitung (El Sayed et al. 2006).

Wiederholte Exposition

In der Begründung von 2004 wird eine Studie an Arbeitern beschrieben, in der grippeähnliche Symptome bei Exposition gegen 0,12 bis 0,36 mg Kupfer/m³ beschrieben wurden. Es handelte sich bei der Exposition um sehr feines, vermutlich metallisches Kupfer („copper of an extreme fineness“). Nach Absenkung der Exposition auf 0,008 mg Kupfer/m³ traten die beschriebenen Symptome nicht mehr auf (Gleason 1968).

Da die berichteten Symptome nicht in der Weise wie beim typischen Metallrauchfieber auftraten und weder ein plötzliches Einsetzen noch eine Gewöhnung vorhanden waren, wird eine andere Ursache für die grippeähnlichen Symptome angenommen (Borak 2000).

In zahlreichen Untersuchungen wird eine Assoziation zwischen der Exposition gegen Kupferrauch oder Kupferoxidstaub und Metallrauchfieber-ähnlichen Symptomen „erst bei sehr hohen Kupfer-Konzentrationen“ beschrieben, die aber nicht genau angegeben sind (siehe Begründung 2004). Jedoch werden unter den meisten Expositionsbedingungen Kupfer-Aerosole mit eher größeren Partikelgrößen (>1 µm) freigesetzt, die

4 Kupfer und seine anorganischen Verbindungen

üblicherweise nicht zum typischen Metallrauchfieber führen. Metallrauchfieber wird bei Exposition gegen feinen Rauch (Partikelgröße $<1 \mu\text{m}$) von Metalloxiden hervorgerufen (Borak 2000).

Zusammengefasst gibt die Studie von Gleason (1968) – wenn sie auch unzureichend dokumentiert ist – einen Hinweis darauf, dass für eine inhalative Exposition gegen sehr feines metallisches Kupfer die NOAEC am Arbeitsplatz etwa bei $0,008 \text{ mg Kupfer/m}^3$ liegt, während grippeähnliche Symptome bei Konzentrationen im Bereich von $0,12\text{--}0,36 \text{ mg/m}^3$ auftreten.

Tierexperimentelle Befunde

Akute Toxizität

Inhalative Aufnahme

Wie schon in der Begründung von 2004 beschrieben, führte die einmalige dreistündige Exposition von Syrischen Goldhamstern (jeweils vier Tiere pro Gruppe) gegen Kupfer (II)sulfat-Aerosol (MMAD: massenmedianer aerodynamischer Durchmesser: $0,75 \mu\text{m}$) bei $3,3 \text{ mg Kupfer/m}^3$ zu einer verminderten Cilienbewegung und histologischen Befunden an der Trachea in Form einer Abnahme des normalen Epithels mit glatter Oberfläche und aktiven Cilien. Die NOAEC betrug $1,2 \text{ mg Kupfer/m}^3$ (Drummond et al. 1986). Bei dieser Konzentration wurde nach vierstündiger Exposition schon eine dosisabhängig reduzierte endozytotische Kapazität der Makrophagen in der Lunge des Syrischen Goldhamsters beobachtet (Skornik und Brain 1983 in Begründung 2004).

Die einmalige dreistündige Exposition von jeweils vier CD1-Mäusen pro Gruppe gegen Kupfer(II)sulfat-Aerosol in Konzentrationen von $1,2$ oder $3,3 \text{ mg Kupfer/m}^3$ (MMAD $0,75 \mu\text{m}$) verursachte keine Effekte auf die Cilienbewegung in der Trachea oder das Trachea-Epithel. Allerdings war hier das respiratorische Epithel der Kontrolltiere von schlechter Qualität, u. a. von Nekrosen durchzogen, begleitet von Cilienverlust und Abschilferungen, so dass eine Auswertung der Ergebnisse nicht möglich war, und die Tiere nach Angaben der Autoren nicht für den Versuch geeignet waren (Drummond et al. 1986).

Ein weiterer Versuch mit Kupfer(II)sulfat-Aerosol wurde von der selben Arbeitsgruppe an 23 bis 100 CD1-Mäusen pro Geschlecht und Dosisgruppe durchgeführt. Die Tiere wurden drei Stunden lang gegen Konzentrationen von $0; 0,56; 1,2$ oder $3,3 \text{ mg Kupfer/m}^3$ (MMAD $0,54 \mu\text{m}$) exponiert, und die Fähigkeit der pulmonalen Abwehrmechanismen bei gleichzeitiger Inhalation von Streptokokken (*Streptococcus zooepidemicus*; zehn koloniebildende Einheiten pro Tier) untersucht. Diese Behandlung führte zu einer signifikanten und dosisabhängigen Zunahme der Mortalität innerhalb von 14 Tagen: $62, 70$ und 100% bei Exposition gegen $0,56; 1,2$ bzw. $3,3 \text{ mg Kupfer/m}^3$. Eine NOAEC konnte nicht abgeleitet werden. Die bakterizide Aktivität der alveolären Makrophagen wurde zusätzlich mittels Exposition gegen ^{35}S -markierte Bakterien des Stamms *Klebsiella pneumonia* bestimmt. Hierzu wurden vier Stunden nach der Exposition die Lungen der Tiere homogenisiert und das Verhältnis von lebenden zu nicht lebensfähigen

gen Bakterien ausgezählt. In der hohen Konzentrationsgruppe betrug die bakterizide Aktivität der Lungen-Makrophagen 59% der Kontrolle (Drummond et al. 1986).

Die LD₂₀ (20%ige Mortalität) bei Mäusen nach dreistündiger Exposition gegen Kupfer-(II)sulfat und anschließender Exposition gegen ein Streptokokken-Aerosol betrug 0,6 mg Kupfersulfat/m³ (0,24 mg Kupfer/m³) (k. w. A.). Es zeigte sich eine geringere Mortalität bei Totenkopffäffchen und Hamstern im Vergleich zu Mäusen. Zudem war die Stärke der Reaktion auch abhängig von der Resistenz des Mäusestammes sowie der verwendeten Bakterien (Ehrlich 1980).

In Tabelle 1 sind die bewertungsrelevanten Studien mit akuter inhalativer Exposition gegen Kupfer und seine anorganischen Verbindungen dargestellt.

Zusammengefasst zeigt sich eine Beeinträchtigung der Lunge nach akuter Exposition gegen Kupfer-Aerosole ab 0,56 mg Kupfer/m³ und Partikeldurchmessern von 0,54 µm MMAD, wenn auch die Studien älter und unzureichend beschrieben sind und nicht nach aktuellen Untersuchungsmethoden durchgeführt wurden. Die Maus scheint im Vergleich zu Goldhamstern und Affen die sensitivste Spezies im „Host Defense Assay“ zu sein. Untersuchungen zur akuten Toxizität an Ratten liegen nicht vor.

Der Mensch reagiert möglicherweise ebenso mit verminderten Abwehrmechanismen auf die Anwesenheit infektiös wirkender Agenzien. Die Beeinträchtigung der Wirtsabwehr scheint auf eine Schädigung der Makrophagen zurückzuführen zu sein (Ehrlich 1980).

Tab. 1. Studien mit akuter Inhalation von Kupfer und seinen anorganischen Verbindungen

Spezies	Expositions- dauer (h)	Partikel- durch- messer (µm)	NOAEC mg Cu/m ³	LOAEC mg Cu/m ³	Befunde	Literatur
Hartley- Meer- schweinchen	1	0,03	– ^{a)}	1,3	Atemzug- u. Atem- minuten-Volumen ↓	Chen et al. 1991 in Be- gründung 2004
CD1-Maus	3	0,54	– ^{a)}	0,56	pulmonale Abwehr- mechanismen der Lun- gen-Makrophagen ↓	Drummond et al. 1986
CD1-Maus	3	k. A.	– ^{a)}	0,24	LD ₂₀	Ehrlich 1980
Syrischer Goldhamster	3	0,75	1,2	3,3	Cilienbewegung ↓, histologische Befunde an der Trachea	Drummond et al. 1986
Syrischer Goldhamster	4	k. A.	0,13	1,2	endozytotische Kapa- zität der Makrophagen in der Lunge ↓	Skornik und Brain 1983 in Be- gründung 2004

^{a)} es konnte keine NOAEC abgeleitet werden; k. A.: keine Angabe; LD₂₀: 20%ige Mortalität



Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Inhalative Aufnahme

Wie schon in der Begründung von 2004 beschrieben, wurden CD1-Mäuse fünf oder zehn Tage lang, drei Stunden täglich gegen Kupfer(II)sulfat in Konzentrationen von $0,12 \text{ mg Kupfer/m}^3$ (fünf Tage) bzw. $0,13 \text{ mg Kupfer/m}^3$ (zehn Tage) exponiert. Der MMAD betrug $0,54 \mu\text{m}$. Die Tiere wurden bezüglich ihrer Abwehrmechanismen der Lunge untersucht, indem sie zeitgleich inhalativ gegen Streptokokken (*Streptococcus zooepidemicus*) exponiert wurden. Messparameter waren die bakterizide Aktivität der alveolaren Makrophagen und die Mortalität der Tiere sowie histopathologische Untersuchungen des Atemtraktes (Veränderungen der Cilienbewegung in der Trachea, Anteil normalen Epithels mit glatter Oberfläche und aktiven Cilien in der Trachea). Nach fünf-tägiger Exposition wurde bei Exposition gegen $0,12 \text{ mg Kupfer/m}^3$ und einer inhalativen Exposition gegen Streptokokken (zehn koloniebildende Einheiten pro Tier) kein Anstieg der Mortalität beobachtet. Nach zehntägiger Exposition gegen $0,13 \text{ mg Kupfer/m}^3$ und einer inhalativen Exposition gegen Streptokokken (zehn koloniebildende Einheiten pro Tier) war die Mortalität der männlichen und weiblichen Tiere im Vergleich zur Kontrolle signifikant um 28% erhöht, was eine deutliche Zeitabhängigkeit des immunsuppressiven Effekts zeigt. Die histopathologischen Befunde konnten nicht bewertet werden, da das respiratorische Epithel der Kontrolltiere eine zu schlechte Qualität aufwies (u. a. von Nekrosen durchzogen, begleitet von Cilienverlust und Abschilferungen). Zusätzlich wurde die bakterizide Aktivität der Makrophagen mittels Exposition gegen ^{35}S -markierte Bakterien des Stamms *Klebsiella pneumonia* bestimmt. Vier Stunden nach der Exposition wurden die Lungen homogenisiert und lebende im Verhältnis zu nicht lebensfähigen Bakterien ausgezählt. Die fünf-tägige Exposition von 22 männlichen und 24 weiblichen Mäusen gegen $0,12 \text{ mg Kupfer/m}^3$ führte bei den weiblichen Tieren zu einer geringen (94% der Kontrolle), aber signifikanten Abnahme der bakteriziden Aktivität der alveolären Makrophagen. Die zehntägige Exposition von 22 männlichen und 18 weiblichen Mäusen gegen $0,13 \text{ mg Kupfer/m}^3$ führte bei männlichen und weiblichen Tieren zu einer signifikanten Abnahme der bakteriziden Aktivität der alveolären Makrophagen (95 bzw. 85% der Kontrolle) (Drummond et al. 1986). Des Weiteren wurden in einer Untersuchung an Kaninchen (Johansson et al. 1983, 1984 in Begründung 2004) nach vier- bis sechswöchiger Exposition gegen $0,6 \text{ mg Kupfer/m}^3$ (als Kupfer(II)chlorid) eine Dichtezunahme der Typ-II-Alveolarzellen um das 1,5-Fache und eine Tendenz zu vermehrten lamellären Einschlüssen und Membranschädigungen der Makrophagen beobachtet. Drei Tage nach Beendigung der Exposition wurden weder histologische Lungenveränderungen noch eine Beeinträchtigung der Makrophagenfunktion festgestellt.

In einer nur als Zusammenfassung vorliegenden Untersuchung wurden Ratten 90 bis 100 Tage lang entweder gegen Kupfer(II)oxid-Aerosol in variablen Konzentrationen im Bereich von $0,01\text{--}0,1$ oder gegen 1 mg/m^3 ($0,008\text{--}0,08$ oder $0,8 \text{ mg Kupfer/m}^3$) exponiert. Bei den Tieren der niedrigen Konzentrationsgruppe waren die Serumproteine, in der hohen Konzentrationsgruppe zusätzlich Hämoglobin und Erythrozyten, angestiegen (k. w. A.; Ginoyan 1976). Da keine Angaben über den Untersuchungsumfang vorliegen, wird diese Studie nicht zur Bewertung herangezogen.

Eine vierwöchige Ganzkörper-Inhalationsstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 412 wurde mit Kupfer(Ioxid (Cu_2O) an Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Die Tiere wurden hierzu an fünf Tagen pro Woche (insgesamt 20-mal), sechs Stunden pro Tag gegen 0; 0,2; 0,4; 0,8 bzw. 2,0 mg/m^3 (MMAD 1,725 $\mu\text{m} \pm 1,73 \mu\text{m}$ geometrische Standardabweichung (GSD); entsprechend 0,17; 0,35, 0,7 und 1,7 mg Kupfer/ m^3) exponiert und 13 Wochen lang nachbeobachtet. Für die Hauptstudie wurden in der Kontrollgruppe und der höchsten Konzentrationsgruppe jeweils 20 männliche und weibliche Tiere eingesetzt, in den beiden Gruppen mit der niedrigen und mittleren Konzentration jeweils zehn männliche und weibliche Tiere. Satellitengruppen von jeweils zehn männlichen und weiblichen Tieren zur Untersuchung der Zeitabhängigkeit wurden zusätzlich in der Kontroll- und Hochdosisgruppe mitgeführt und nach 5, 10 und 15 Expositionen (1, 2 bzw. 3 Wochen) untersucht. Histopathologisch wurden Lunge, Nase, Lungen-assoziierte Lymphknoten, Leber, Nieren und Gehirn untersucht. Zudem fand eine Untersuchung der BAL und eine Bestimmung des Nass- und Trockengewichtes der Lunge statt. Die Kupfer-Konzentrationen wurden in Leber, Gehirn, Lungen und BAL bestimmt (siehe Abschnitt „Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung“). Die Durchführung der Lungenlavage erfolgte im rechten Lungenlappen mit einem Lösungsvolumen von $35 \times \text{Körpergewicht (kg)} \times 0,4 \text{ ml/kg KG}$ bei der ersten Spülung und $35 \times \text{Körpergewicht (kg)} \times 0,33 \text{ ml/kg KG}$ bei der zweiten und dritten Spülung. Die Lösung war ein Zellkulturmedium („Hanks' Balanced Salt Solution“) ohne Calcium, Magnesium oder Phenolrot. Die Exposition hatte keine Auswirkung auf Überlebensrate oder klinische Symptome. In der höchsten Konzentrationsgruppe trat bei den männlichen Tieren in den ersten elf Expositionstagen eine vorübergehend verminderte Körpergewichtszunahme auf, die mit einer verringerten Futteraufnahme bis zum vierten Tag korrelierte (ICA 2010).

Bei allen exponierten Tieren war die Anzahl neutrophiler Granulozyten im Blut verglichen mit denen der Kontrolltiere nach der vierwöchigen Exposition erhöht, um 61,7 bis 112,1% bei den männlichen und um 52,3 bis 120,2% bei den weiblichen Tieren, statistisch signifikant bei den männlichen Tieren bei 0,4 und 0,8 mg/m^3 und bei den weiblichen Tieren bei 0,8 und 2,0 mg/m^3 . Der Anstieg neutrophiler Granulozyten resultiert vermutlich aus der Entzündungsreaktion in der Lunge und ist begleitet von einer erniedrigten Anzahl an Lymphozyten im Blut (ICA 2010).

Am Ende der Expositionszeit waren die Lactatdehydrogenase (LDH) sowie das Gesamtprotein dosisabhängig in der BAL der männlichen Tieren ab 0,4 mg/m^3 und bei weiblichen Tieren ab 0,2 mg/m^3 erhöht. Auch nach ein-, zwei-, und dreiwöchiger Exposition (nur in der höchsten Dosisgruppe untersucht) wies die BAL eine erhöhte LDH-Aktivität und einen erhöhten Gesamtproteingehalt auf. Dabei zeigte sich ein Plateau bzw. eine leichte Abnahme zwischen dem 12. und 19. Tag. Nach Angaben der Autoren könnte dies ein Hinweis auf einen adaptiven Effekt sein, was jedoch nicht abschließend geklärt werden konnte (ICA 2010).

Ab 0,4 mg/m^3 war die Zellzahl in der BAL bei männlichen und weiblichen Tieren leicht erhöht, ab 0,8 mg/m^3 statistisch signifikant. Die Mehrzahl der Zellen waren alveoläre Makrophagen, ein kleinerer Anteil Lymphozyten, neutrophile Granulozyten und Epithelzellen. Die Zunahme der Gesamtzellzahl war bei allen exponierten Tieren mit einem Anstieg neutrophiler Granulozyten assoziiert. Durch die statistisch signifikante Zunahme der neutrophilen Granulozyten war der Anteil der Makrophagen statistisch signifikant reduziert. Diese Parameter waren in der Satellitengruppe, die gegen 2,0 mg/m^3 exponiert wurde, auch nach zwei und drei Wochen statistisch signifikant



8 Kupfer und seine anorganischen Verbindungen

verändert, wobei die höchste Gesamtzellzahl bei den weiblichen Tieren am 12. Tag und bei den männlichen Tieren am 19. Tag beobachtet wurde (ICA 2010).

Makroskopisch wiesen zwei männliche Tiere der 0,8-mg/m³-Gruppe vergrößerte bronchiale Lymphknoten auf, was sich in der histopathologischen Untersuchung bei einem Tier als Hyperplasie erwies. In der Satellitengruppe, die nur gegen 2,0 mg/m³ exponiert wurde, fanden sich nach einer Woche jeweils drei männliche und weibliche Tiere mit vergrößerten bronchialen oder mediastinalen Lymphknoten, die sich histopathologisch ebenfalls als lymphoide Hyperplasien herausstellten, und von den Autoren als behandlungsbedingt bewertet wurden (ICA 2010).

Ab 0,2 mg/m³ traten behandlungsbedingt erhöhte absolute und relative Lungengewichte bei männlichen (10,3 bzw. 13,7%) und weiblichen (10,2 bzw. 10,0%) Ratten auf. Statistisch signifikant erhöht waren sie erst ab 0,4 mg/m³ bei männlichen (28,3 bzw. 34,5%) und weiblichen (30,6 bzw. 28,9%) Tieren und stiegen bei der höchsten Konzentration teils auf über 90% an. Am Ende der Nachbeobachtungszeit waren das absolute und das relative Lungengewicht der 2,0-mg/m³-Gruppe bei den männlichen und weiblichen Ratten noch um 15,4 bzw. 15,5% (absolut) und 8,9 bzw. 5,9% (relativ zu Körpergewicht) erhöht. In der Satellitengruppe, in der die Tiere nur gegen 2,0 mg/m³ exponiert wurden, wiesen die männlichen Tiere bei den absoluten Lungengewichten in den ersten drei Wochen einen zeitabhängigen Anstieg auf. Bei den weiblichen Tieren wurde nach zwei Wochen ein Plateau erreicht. Für die relativen Lungengewichte war nach zwei Wochen bei männlichen und weiblichen Tieren ein Plateau zu beobachten (ICA 2010).

In der histopathologischen Untersuchung traten am Ende der Expositionszeit bei den Ratten Befunde in der Lunge, den bronchialen und mediastinalen Lymphknoten und der Nase (Schnittebene II, III, IV und V) auf. Die Lunge wies ab einer Exposition gegen 0,2 mg/m³ konzentrationsabhängig, minimal bei 0,2 mg/m³ und mäßig bei 2,0 mg/m³, eine alveoläre Histozytose und einen Anstieg schaumiger Makrophagen auf (ICA 2010). Nach Ansicht der Kommission handelt es sich bei den „schaumigen Makrophagen“ um aufgrund zytotoxischer Effekte degenerative Makrophagen. Hierbei ist eine Kupfer-spezifische Wirkung anzunehmen, da ein allgemeiner Partikeleffekt bei dieser Konzentration noch nicht zu erwarten ist.

Die akute Entzündung der Lunge war bei jeweils einem der fünf männlichen und weiblichen Tiere der 0,2-mg/m³-Gruppe von minimaler Ausprägung und trat bei allen Tieren ab 0,4 mg/m³ auf. Die Stärke der Entzündung stieg konzentrationsabhängig an. Eine lymphoide Hyperplasie der bronchialen Lymphknoten wurde bei einem weiblichen Tier der 0,2-mg/m³-Gruppe beobachtet und war in der Mehrzahl aller Tiere ab 0,4 mg/m³ vorhanden. Die mediastinalen Lymphknoten waren ab 0,4 mg/m³ ebenfalls betroffen, aber in geringerer Inzidenz (ICA 2010).

An der Nase traten minimale bis leichte subakute Entzündungen in Schnittebene II und III bei einem männlichen Tier nach Exposition gegen 0,2 mg/m³ und bei drei männlichen Tieren bei 2,0 mg/m³ auf (siehe Tabelle 2). Bei den weiblichen Tieren zeigten sich keine auffälligen Befunde in der Nase. Der Befund in der niedrigen Konzentrationsgruppe wurde von den Autoren als Zufall bewertet, da keine Tiere bei 0,4 oder 0,8 mg/m³ betroffen waren (ICA 2010). Jedoch ist die Anzahl der untersuchten fünf Tiere pro Gruppe für eine statistische Auswertung zu gering. Ob die Entzündung bei dem einen Tier bei 0,2 mg/m³ substanzbedingt ist, ist daher nicht abschließend zu klären. Zum anderen ist eine Verstärkung der Effekte mit der Zeit nicht auszuschließen, da

Tab. 2. Effekte an der Nase von männlichen Ratten nach 4 Wochen inhalativer Exposition gegen Cu₂O (ICA 2010)

	mg/m ³				
	0	0,2	0,4	0,8	2,0
Subakute Entzündung an der Nase					
Schnittebene II gesamt	0/5	1/5	0/5	0/5	3/5
minimal	0/5	1/5	0/5	0/5	1/5
leicht	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5
Schnittebene III gesamt	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5
minimal	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5
leicht	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5
Degenerationen des olfaktorischen Epithels					
Schnittebene IV					
minimal	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5
Schnittebene V					
minimal	0/5	1/5	0/5	1/5	1/5

nach dreiwöchiger Exposition gegen 2 mg/m³ keine Entzündungen in den Nasen der männlichen Tiere gefunden wurden, nach vier Wochen aber drei von fünf männlichen Tieren betroffen waren. Hinzu kommt, dass eine alveolengängige Fraktion (A) untersucht wurde, und bei Verwendung einer einatembaren Fraktion (E) eine höhere Deposition in der Nase zu erwarten ist.

Alle Effekte waren am Ende der Nachbeobachtungszeit bis auf die erhöhten, aber rückläufigen absoluten und relativen Lungengewichte bei 2,0 mg/m³ vollständig reversibel (ICA 2010).

Die Satellitengruppe zeigte nach einer Woche eine minimale bis leichte alveoläre Histiozytose bei allen Tieren (2,0 mg/m³). Die Stärke nahm nach der 2. und 3. Expositionswoche deutlich, in der letzten Woche nur noch leicht zu. Inzidenz und Stärke der akuten Entzündung waren zu allen Zeitpunkten gleich. Die lymphoide Hyperplasie der bronchialen und mediastinalen Lymphknoten war bei den meisten Tieren nach der 1., 2. und 3. Expositionswoche vorhanden; Inzidenz und Stärke scheinen nicht zeitabhängig zu sein. Die absoluten Lungengewichte und die Inzidenz der lymphoiden Hyperplasie der bronchialen Lymphknoten männlicher Tier stiegen in der vierten Expositionswoche weiter an (ICA 2010).

In Tabelle 3 sind die bewertungsrelevanten Studien mit wiederholter inhalativer Exposition gegen Kupfer und seine anorganischen Verbindungen dargestellt.

Es liegen zudem zwei Untersuchungen mit Kupfer-Nanopartikeln an Mäusen vor, jeweils nur mit einer Konzentration (3,5 bzw. 3,6 mg/m³) durchgeführt, die Veränderungen in der BAL aufzeigen (Kim et al. 2011; Pettibone et al. 2008). Da die Studien mit Nanopartikeln durchgeführt wurden, werden sie nicht zur Bewertung herangezogen.



10 Kupfer und seine anorganischen Verbindungen

Tab. 3. Studien mit Kupfer und seinen anorganischen Verbindungen nach wiederholter inhalativer Exposition

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte , Sprague Dawley, je 10 ♂, ♀ Satelliten- gruppen je 10 ♂, ♀	28 Tage , 0; 0,2; 0,4; 0,8; 2,0 mg Cu ₂ O/m ³ (0; 0,17; 0,35; 0,7, 1,7 mg Cu/m ³) 6 h/d, 5 d/w 13 Wochen Nach- beobachtungszeit MMAD±GSD= 1,725±1,73 µm	ab 0,2 mg/m³ : LOAEC (0,17 mg Cu/m ³) ♂/♀: neutrophile Granulozyten im Blut ↑ (♂: 62–112%; ♀: 52–120%; signifikant bei ♂ bei 0,4 u. 0,8 mg/ m ³ , bei ♀ ab 0,8 mg/m ³); alveoläre Histiozytose ↑ (konzentrationsabhängig); abs. u. rel. Lungenge- wicht ↑ (10–13,7%, nicht signifikant, aber konzentrationsabhängig); BAL: neutrophile Granu- lozyten ↑ (45% vs. 0–1,1% in der Kontrolle), ♀: lymphoide Hyperplasie der bronchialen Lymphknoten bei 1 Tier, BAL: LDH u. Gesamt- protein ↑, ♂: Nase: minimale bis leichte subakute Entzün- dung in Schnittebene II und III bei 1 Tier; ab 0,4 mg/m³ : ♂/♀: Lunge: akute Entzündung (konzentrationsabhängig), lymphoide Hyperplasie der bronchialen u. mediastinalen Lymphknoten, abs. u. rel. Lungengewicht ↑ (≥28%), BAL: kern- haltige Zellen ↑ (nicht signifikant), ♂: BAL: LDH u. Gesamtprotein ↑; ab 0,8 mg/m³ : ♂/♀: BAL: kernhaltige Zellen ↑; bei 0,8 mg/m³ : ♂: 2 Tiere mit vergrößerten bronchialen Lymphknoten; 2,0 mg/m³ : ♂/♀: BAL: LDH u. Gesamtprotein Plateau bzw. eine leichte Abnahme zwischen 12. und 19. Tag; nach 1 Wo: vergrößerte bron- chiale und mediastinale Lymphknoten (6/10), ♂: Nase: minimale bis leichte subakute Entzün- dung in Schnitteben II und III bei 3 Tieren; bis auf erhöhte abs. u. rel. Lungengewicht bei 2,0 mg/m ³ waren alle Effekte am Ende der Nachbeobachtungszeit reversibel	ICA 2010
Ratte , k. w. A.	90–100 Tage , 0; 0,01–0,1; 1 mg/m ³ Kupferoxid-Aerosol (0,008–0,08; 0,8 mg Cu/m ³) k. w. A.	ab 0,01–0,1 mg/m³ (0,008–0,08 mg Cu/m ³): Serumproteine ↑; 1 mg/m³ (0,8 mg Cu/m ³): Hämoglobin ↑, Ery- throzyten ↑	Ginoyan 1976
Maus , CD1, 22 ♂, 24 ♀	5 Tage , 0; 0,12 mg Cu/m ³ (als CuSO ₄) 3 h/d MMAD=0,54 µm	0,12 mg/m³ : bakterizide Aktivität alveolärer Makrophagen ↓ (94%)	Drummond et al. 1986

Tab. 3. Fortsetzung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Maus, CD1, 22 ♂, 18 ♀	10 Tage, 0; 0,13 mg Cu/m ³ (als CuSO ₄) 3 h/d MMAD=0,54 µm	0,13 mg/m³: Mortalität ↑ (28%); bakterizide Aktivität alveolärer Makrophagen ↓ (95 bzw. 85%)	Drummond et al. 1986
Kaninchen, 8 ♂	4–6 Wochen, 0; 0,6 mg Cu/m ³ (als Cu ₂ O) 6 h/d, 5 d/w MMAD=0,5–1 µm	0,6 mg/m³: Dichte der Typ-II-Alveolarzellen ↑ (1,5fach), lamelläre Einschlüsse und Membran- schädigung bei Makrophagen ↑	Johansson et al. 1983, 1984 in Be- gründung 1984

GSD: geometrische Standardabweichung; HEC: humanäquivalente Konzentration; MMAD: massenmedianer aerodynamischer Durchmesser

Allergene Wirkung

In einem Maximierungstest an fünf weiblichen Hartley-Meerschweinchen wurde Kupfernaphthenat auf kontaktsensibilisierende Wirkung und auf Kreuz-Reaktivität getestet. Die Tiere erhielten zur intradermalen und epikutanen Induktion 1% bzw. 25% Kupfernaphthenat (k. A. zum Vehikel) und zur Auslösebehandlung 0,5% der Testsubstanz in Petrolether. Es ist jedoch nicht nachvollziehbar, warum die Auslösekonzentration um den Faktor 50 niedriger gewählt wurde als die topische Induktionskonzentration. Die Hautreaktionen wurden hinsichtlich Erythem- (Score 0–4) und Ödemausprägung (Score 0–3) bewertet. Aus der Summe der Reaktionsausprägungen wurde die mittlere Reaktionsausprägung (MR), bezogen auf alle in den einzelnen Gruppen behandelten Tiere, errechnet. Nach Vorbehandlung mit Kupfernaphthenat war bei keinem der fünf behandelten Tiere sowie bei keinem der fünf Kontrolltiere eine Reaktion auf Kupfernaphthenat oder 1% Kupfer(II)chlorid (in Ethanol) auslösbar (MR=0) (Yamano et al. 2006).

Die Substanz wurde außerdem in einem Local Lymph Node Assay (LLNA) an BALB/c-Mäusen überprüft. Hiernach waren Kupfernaphthenat-Zubereitungen in „Petrolether“/Olivenöl (4:1) bis zu einer Konzentration von 1% nicht sensibilisierend (Stimulationsindex (SI) <2). Die Befunde mit höheren Kupfernaphthenat-Konzentrationen deuten, gemessen an der Zunahme der Ohrdicke, eher auf eine primär irritative Wirkung hin (3%: SI etwa 6, geringe irritative Wirkung; 10%: SI etwa 9, deutliche irritative Wirkung) (Yamano et al. 2006).

Bewertung

Kritischer Effekt nach inhalativer Exposition gegen Kupfer ist die lokale Wirkung am Atemtrakt.



12 Kupfer und seine anorganischen Verbindungen

MAK-Wert. Alveolengängige Fraktion

In einer älteren Untersuchung an Arbeitern, die gegen feine Kupferpartikel einer Konzentration von 0,12 bis 0,36 mg Kupfer/m³ exponiert waren, wurden grippeähnliche Symptome beobachtet. Die Effekte traten bei einer Konzentration von 0,008 mg Kupfer/m³ nicht mehr auf (Gleason 1968). Nach fünf- oder zehntägiger Exposition von Mäusen gegen Kupfersulfat wurde ab 0,12 bzw. 0,13 mg Kupfer/m³ eine dosisabhängige Reduktion der pulmonalen Abwehrmechanismen bei gleichzeitiger Inhalation von Streptokokken beobachtet (Drummond et al. 1986). In einer vierwöchigen Ganzkörper-Inhalationsstudie (ICA 2010) nach OECD-Prüfrichtlinie 412 mit Cu₂O an Sprague-Dawley-Ratten traten bereits ab der niedrigsten Konzentration von 0,2 mg Cu₂O/m³ (0,17 mg Kupfer/m³) deutliche Entzündungsreaktionen in der Lunge auf.

Eine Berechnung der humanäquivalenten Konzentration (HEC = „human equivalent concentration“) auf Basis dieser Studie unter der Annahme einer NAEC von 0,067 mg Cu₂O/m³ (1/3 der LOAEC) für die Ratte ergibt eine NAEC für den Menschen von 0,012 mg Kupfer/m³ (siehe Anhang).

Die Gesamtbetrachtung der Untersuchungen an Arbeitern (Gleason 1968), der 28-tägigen Ratten-Inhalationsstudie (ICA 2010) und der fünf- bzw. zehntägigen Inhalationsstudie an Mäusen von Drummond et al. (1986) zeigt eine Übereinstimmung im Zielorgan Lunge, speziell den alveolären Makrophagen, und deutliche Effekte im gleichen Konzentrationsbereich (0,12–0,36 mg/m³ Kupfer/m³). Wenn auch keine NOAEC aus den Tierversuchen vorliegt, gibt die Studie von Gleason (1968) an Arbeitern den Hinweis, dass bei 0,008 mg Kupfer/m³ keine Wirkung zu erwarten ist. Basierend auf allen verfügbaren Daten wird ein MAK-Wert von 0,01 mg Kupfer/m³ für die alveolengängige Fraktion festgesetzt.

Einatembare-Fraktion

Eine abschließende Bewertung der Effekte an der Nase in der 28-Tage-Inhalationsstudie an Ratten (ICA 2010) bei 0,2 mg Cu₂O/m³ (0,17 mg Kupfer/m³) ist nicht möglich. Zum einen wurden nur fünf Tiere untersucht, so dass nicht zu klären ist, ob die nach vier Wochen histopathologisch nachgewiesene Entzündung an der Nase bei einem männlichen Tier in der niedrigsten Konzentrationsgruppe substanzbedingt ist. Zum anderen ist eine Zunahme der Effekte mit der Zeit nicht auszuschließen, da nach nur dreiwöchiger Exposition gegen die höchste Konzentration von 2 mg/m³ Cu₂O/m³ (0,17 mg Kupfer/m³) noch keine Entzündung in der Nase der männlichen Tiere gefunden wurde, nach vierwöchiger Exposition aber drei der fünf Tiere betroffen waren. Hinzu kommt noch, dass eine A-Fraktion untersucht wurde; bei Verwendung einer E-Fraktion mit gleicher Konzentration würde man eine höhere Deposition in der Nase erwarten, so dass basierend auf dieser Inhalationsstudie ein Luftgrenzwert für die E-Fraktion nicht festgelegt werden kann. Zu betrachten ist auch die systemische Toxizität von Kupfer: So liegt das 97,5-Perzentil der Gesamt-Kupferaufnahme in der Allgemeinbevölkerung bei 4,0 und 3,3 mg/Tag für Männer bzw. Frauen eng beim NOAEL von 10 mg/Tag nach 12-wöchiger oraler Kupfer-Aufnahme durch Probanden (Pratt et al. 1985). Ausgehend von dem NOAEL wurde vom EU Scientific Committee on Food der „Tolerable Upper Limit Value“ von 5 mg Kupfer/Tag aus allen Expositionsquellen, also einschließlich der Nahrung, abgeleitet (BfR 2004). Eine Luftkonzentration von 0,03 mg/m³ E würde bei 30% oraler und 100% inhalativer Resorption und einem Atemvolumen von 10 m³/Tag 1 mg/Tag und damit der Differenz zwischen dem 97,5-Perzentil der

Gesamt-Kupferaufnahme und dem „Tolerable Upper Limit Value“ von 5 mg/Tag entsprechen. Ferner ist zu beachten, dass die bei oraler Exposition bei Erwachsenen sehr gut ausgeprägte Kupfer-Homöostase nicht für die inhalative Exposition gilt. Jedoch liegt die inhalative Resorption eines E-Staubs deutlich niedriger als 100%, der Rest wird nach Abschlucken oral aufgenommen. Insgesamt können bei der derzeitigen Datenlage bei einer Luftkonzentration von $0,1 \text{ mg/m}^3$ E also weder die Reizwirkung an der Nase noch eine systemische Überladung oder adverse Lungeneffekte ausgeschlossen werden. Da somit aufgrund der beschriebenen Unsicherheiten kein Wert für die einatembare Fraktion abgeleitet werden kann, wird der bisherige MAK-Wert von $0,1 \text{ mg/m}^3$ für die einatembare Fraktion ausgesetzt; dennoch sollte dieser Wert zur Vermeidung einer Kupferüberladung und potentieller systemischer Toxizität deutlich unterschritten werden.

Spitzenbegrenzung. Da der kritische Effekt zwar an der Eintrittspforte an der Lunge auftritt, aber nicht unmittelbar in Form einer Reizwirkung, werden Kupfer und seine anorganischen Verbindungen der Kurzzeitwert-Kategorie II zugeordnet. Daten zur Halbwertszeit in der Lunge fehlen, so dass der Basisüberschreitungsfaktor von 2 festgelegt wird.

Hautresorption. Seit 2004 sind keine Arbeiten erschienen, die eine dermale Resorption von Kupfer beschreiben. Die Resorption von Kupfer-Komplexen kann nicht zur Beurteilung herangezogen werden. Kupfer und seine anorganischen Verbindungen bleiben daher weiterhin ohne Markierung mit „H“ .

Sensibilisierung. Zur sensibilisierenden Wirkung von Kupfer und seinen anorganischen Verbindungen wurde in der Begründung von 2004 festgestellt, dass eine kontaktallergische Reaktion sehr selten ist. Auch aus den vorliegenden Ergebnissen der tierexperimentellen Untersuchungen war keine kontaktsensibilisierende Wirkung abzuleiten. Es liegen weiterhin keine klinischen Beobachtungen beim Menschen oder tierexperimentelle Befunde vor, aus denen eine haut- oder eine atemwegssensibilisierende Wirkung von Kupfer und seinen anorganischen Verbindungen abzuleiten ist. Kupfer und seine anorganischen Verbindungen werden daher weiterhin weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

Fruchtschädigende Wirkung. Im Nachtrag von 2007 wurden Kupfer und seine anorganischen Verbindungen der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität beträgt 9 mg Kupfer/kg KG und Tag bei Kaninchen. Für Maternaltoxizität ergab sich bei Kaninchen ein LOAEL von 6 mg Kupfer/kg KG und Tag (European Union Copper Task Force 2003 in Nachtrag 2007). Zur toxikokinetischen Übertragung dieses NOAEL von 9 mg Kupfer/kg KG und Tag in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen Kaninchen und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:2,4), die angenommene orale Resorption (30%), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m^3) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Kupfer-Konzentration von $7,9 \text{ mg/m}^3$. Da der 790fache Abstand der berechneten NOAEC für Entwicklungstoxizität für Kaninchen zum MAK-Wert von $0,01 \text{ mg/m}^3$ für die alveolengängige

14 Kupfer und seine anorganischen Verbindungen

Fraktion ausreichend groß ist, wird die Zuordnung von Kupfer und seinen anorganischen Verbindungen zur Schwangerschaftsgruppe C beibehalten.

Literatur

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2004) Toxicological profile for copper, update. U.S. Department of Health and Human Services; Public Health Service, Atlanta, GA, USA
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (2004) Verwendung von Mineralstoffen in Lebensmitteln. Toxikologische und ernährungsphysiologische Aspekte, Teil II, http://www.bfr.bund.de/cm/350/verwendung_von_mineralstoffen_in_lebensmitteln_bfr_wissenschaft_4_2004.pdf
- Borak J, Cohen H, Hethmon TA (2000) Copper exposure and metal fume fever: lack of evidence for a causal relationship. *Am Ind Hyg Assoc J* 61: 832–836
- Drummond JG, Aranyi C, Schiff LJ, Fenters JD, Graham JA (1986) Comparative study of various methods used for determining health effects of inhaled sulfates. *Environ Res* 41: 514–528
- Ehrlich R (1980) Interaction between environmental pollutants and respiratory infections. *Environ Health Perspect* 35: 89–99
- El Sayed F, Dhaybi R, Ammoury A, Bazex J (2006) Dermatitis de contact au sulfate de cuivre. *Ann Dermatol Venereol* 133: 805–806
- Gerhardsson L, Björkner B, Karlsteen M, Schütz A (2002) Copper allergy from dental copper amalgam? *Sci Total Environ* 290: 41–46
- Ginoyan MM (1976) Experimental data for hygienic substantiation of the maximum permissible concentration of copper oxide in the atmosphere. *Gig Sanit* 41: 8–12
- Gleason RP (1968) Exposure to copper dust. *Am Ind Hyg Assoc J* 29: 461–462
- ICA (International Copper Association) (2010) A four-week inhalation toxicity study of cuprous oxide in Sprague Dawley rats with a time course evaluation and a 13-week recovery evaluation. WIL Research Laboratories, LLC, Studiennummer: WIL-708003, ICA Inc., New York, USA, unveröffentlicht
- Kim JS, Adamcakova-Dodd A, O'Shaughnessy PT, Grassian VH, Thorne PS (2011) Effects of copper nanoparticle exposure on host defense in a murine pulmonary infection model. *Part Fibre Toxicol* 8: 1–29
- Paredes Suárez C, Fernández-Redondo V, Toribio J (2002) Bingo-hall worker's occupational copper contact dermatitis from coins. *Contact Dermatitis* 47: 182
- Pettibone JM, Adamcakova-Dodd A, Thorne PS, O'Shaughnessy PT, Weydert JA, Grassian VH (2008) Inflammatory response of mice following inhalation exposure to iron and copper nanoparticles. *Nanotoxicology* 2: 189–204
- Pratt WB, Omdahl JL, Sorenson JR (1985) Lack of effects of copper gluconate supplementation. *Am J Clin Nutr* 42: 681–682
- Simkó M., Fiedeler U., Gazsó A., Nentwich M (2008) Einfluss von Nanopartikeln auf zelluläre Funktionen. NanoTrust-Dossiers, Nr. 007, November 2008, Wien: Institut für Technikfolgen-Abschätzung (ITA), <http://pub.oeaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier007.pdf>
- Vergara G, Silvestre JF, Botella R, Albares MP, Pascual JC (2004) Oral lichen planus and sensitization to copper sulfate. *Contact Dermatitis* 50: 374
- WHO (World Health Organization) (1998) Copper. IPCS – Environmental health criteria No 200, WHO, Genf, Schweiz
- Yamano T, Shimizu M, Noda T (2006) Allergenicity and cross-reactivity of naphthenic acid and its metallic salts in experimental animals. *Contact Dermatitis* 54: 25–28

Anhang

Berechnung der humanäquivalenten Konzentration (HEC) für Kupfer auf Basis des Ratten-Inhalationsversuchs mit Cu_2O (ICA 2010) unter Verwendung des MPPD-Modells (Version 2.01)

Die LOAEC des Ratten-Inhalationsversuchs mit Cu_2O (ICA 2010, siehe Abschnitt „Subakute, subchronische, und chronische Toxizität“) beträgt $0,2 \text{ mg/m}^3$.

Für die Extrapolation von einer LOAEC zu einer NAEC wird von einem Faktor 3 ausgegangen. Daher wird für die Berechnung der HEC der Wert von $0,067 \text{ mg Cu}_2\text{O/m}^3$ als NAEC für Cu_2O verwendet.

Bei der Übertragung der Ergebnisse aus dem Inhalationsversuch an Ratten auf den Menschen ist zu berücksichtigen, dass die inhalierten Stäube in Abhängigkeit von der Partikelgröße (MMAD, massenmedianer aerodynamischer Durchmesser) in der Lunge der Ratte und des Menschen unterschiedliche Depositionsraten haben. Demzufolge führt die Inhalation einer bestimmten Partikelkonzentration mit einer bestimmten Partikelgrößenverteilung über die Zeit in der Lunge der Ratte und des Menschen zu unterschiedlichen Mengen von deponierten Partikeln. Um also die gleiche deponierte Partikeldosis pro Lungenfläche in der Lunge von Ratte und Mensch zu erreichen, müssen die beiden Spezies mit unterschiedlichen Partikelkonzentrationen exponiert werden. Es wird davon ausgegangen, dass Ratte und Mensch gleich empfindlich auf gleich große Partikeldosen in der Lunge reagieren. Die NAEC-Partikeldosis der Ratte entspricht unter dieser Annahme der NAEC-Partikeldosis des Menschen. Es muss also die Expositionskonzentration für den Menschen berechnet werden, die zur NAEC-Partikeldosis in der Lunge des Menschen führt; dies ist die so genannte „Human Equivalence Concentration“ (HEC). Da sich die für chronische Effekte in der Lunge relevante Partikeldosis (retinierte Partikeldosis) aus der Differenz zwischen deponierter Partikelmenge und über die alveolären Makrophagen aus der Lunge heraustransportierter Partikelmenge ergibt, müssen auch die speziesspezifischen Retentionshalbwertszeiten der Partikel in der Lunge berücksichtigt werden. Die Extrapolation der NAEC von der Ratte auf den Menschen muss also bestimmte speziesspezifische und versuchsbedingte Unterschiede wie Expositionsdauer, Atemvolumen/Zeiteinheit, Alveolaroberfläche und alveoläre Partikelclearance berücksichtigen.

Die Bestimmung der NAEC-Expositionskonzentration des Menschen erfolgt mit dem HEC-Konzept in zwei Schritten:

Im ersten Schritt wird mit Hilfe des MPPD-Modells die Depositionsfraktion bei der durch die Inhalationsstudie gegebenen Partikelgrößenverteilung in den Alveolen der Ratte und des Menschen berechnet. Hier sind auch die unterschiedlichen Atemzugvolumina und Atemfrequenzen von Ratte ($2,1 \text{ ml}$, $102/\text{min}$, Standardvorgabe des MPPD-Modells $\cong 0,077 \text{ m}^3$ in 6 Stunden) und Mensch (oro-nasale Atmung, 1040 ml , $20/\text{min}$ $\cong 10 \text{ m}^3/8$ Stunden, Annahme für Arbeitsplatzexposition) zu berücksichtigen. Dazu werden die in Tabelle 4 aufgelisteten Daten in die MPPD-Software eingegeben.

Im zweiten Schritt wird dann aus der NAEC-Expositionskonzentration der Ratte die NAEC-Expositionskonzentration des Menschen berechnet. Bei dieser Berechnung müssen die speziesspezifischen Unterschiede zwischen Ratte und Mensch bezüglich der in den Alveolen deponierten Partikelfraktion (MPPD-Modell 2.01) berücksichtigt werden wie auch die Unterschiede im täglichen Atemvolumen (arbeitender Mensch: 10 m^3 , Ratte $0,077 \text{ m}^3$), in der durchschnittlichen Expositionsdauer (Mensch 240 Tage

16 Kupfer und seine anorganischen Verbindungen

Tab. 4. Ausgangsdaten für die Berechnung der Depositionsfraction für Cu₂O mit Hilfe des MPPD-Modells (Version 2.01)

	Ratte	Mensch
Dichte [g/cm ³]	6,30	6,30
MMAD (massenmedianer aerodynamischer Durchmesser) [µm]	1,80	1,80
GSD (geometrische Standardabweichung)	1,80	1,80
FRC (funktionelle Residualkapazität) [ml]	4,00	3300,00
URT Volume (Volumen des oberen Atemtraktes) [ml]	0,42	50,00
Atemzugvolumen [ml]	2,10	1040,00
Atemfrequenz [1/min]	102,00	20,00

pro Jahr, Ratte 5 Tage pro Woche), in der alveolären Retentionshalbwertszeit für Partikel (Mensch: 400 Tage, Ratte 60 Tage) und in der Alveolaroberfläche (am Ende der Ausatmung, das heißt zum Zeitpunkt der funktionellen Residualkapazität, Mensch: 57,22 m², Ratte 0,297 m²) (Tabelle 5).

Tab. 5. Ausgangsdaten für die HEC-Berechnung für Cu₂O

	Ratte	Mensch
Depositionsfraction (aus MPPD 2.01)	0,0837	0,1035
Expositionsdauer	6 h/d, 5 d/Wo	240 d/a
Atemvolumen pro Tag [m ³]	0,077	10
Eliminations-Halbwertszeit in Lunge [d]	60	400
Alveolaroberfläche [m ²]	0,297	57,22

Das Vorgehen und die verwendeten Annahmen sind analog zu den in der Begründung „Allgemeiner Staubgrenzwert (A-Fraktion) Granuläre biobeständige Stäube“ 2012 für die Methode A beschrieben.

1. Berechnung der Gleichgewichtsbeladung der Rattenlunge

Gleichgewichtsbeladung der Lunge = mittlere Depositionsrate/Clearance

mittlere Depositionsrate = Depositionsfraction für Cu₂O (Ratte) × Atemzugvolumen × Atemfrequenz × Expositionsdauer

$$= 0,0837 \times (2,1/1\ 000\ 000) \text{ [m}^3/\text{Atemzug]} \times 102 \text{ [Atemzüge/min]} \times 60 \text{ [min/h]} \times 6 \text{ [h/d]} \times 5/7 \text{ [d/d]} = 0,0046 \text{ [m}^3/\text{d]}$$

Clearance = $-\ln(0,5)/\text{Eliminations-Halbwertszeit}$

$$= -\ln(0,5)/60 \text{ d} = 0,0116/\text{d}$$

$$\Rightarrow \text{Gleichgewichtsbeladung der Rattenlunge} = 0,0046 \text{ [m}^3/\text{d}]/0,0116 \text{ [1/d]} = 0,397 \text{ [m}^3]$$

2. Berechnung der Gleichgewichtsbeladung der menschlichen Lunge

Gleichgewichtsbeladung der Lunge = mittlere Depositionsrate/Clearance

mittlere Depositionsrate = Depositionsfraktion für Cu₂O (Mensch) × Atemvolumen/Tag × Expositionsdauer

$$= 0,1035 \times 10 \text{ [m}^3/\text{d}] \times 240/365 \text{ [d/d]} = 0,68 \text{ [m}^3/\text{d]}$$

Clearance = $-\ln(0,5)/\text{Eliminations-Halbwertszeit}$

$$= -\ln(0,5)/400 \text{ d} = 0,00173/\text{d}$$

$$\Rightarrow \text{Gleichgewichtsbeladung der menschlichen Lunge} = 0,68 \text{ [m}^3/\text{d}]/0,00173 \text{ [1/d]} = 393,1 \text{ [m}^3]$$

3. HEC-Berechnung

$$\text{HEC} = c(\text{NAEC})_{\text{Ratte}} \times (\text{Gleichgewichtsbel. / Alveolaroberfl.})_{\text{Ratte}} / (\text{Gleichgewichtsbel. / Alveolaroberfl.})_{\text{Mensch}}$$

mit $c(\text{NAEC})_{\text{Ratte}} = 0,067 \text{ mg /m}^3$ errechnet sich daraus

$$\text{HEC Cu}_2\text{O} = 0,067 \times (0,397/0,297)/(393,1/57,22) = 0,013 \text{ mg Cu}_2\text{O/m}^3$$

Unter Berücksichtigung der molaren Massen (M) für Cu₂O = 143,09 g/mol und Cu = 63,54

errechnet sich daraus mit

$$\text{HEC Cu} = \text{HEC Cu}_2\text{O} \times 2 \times M_{\text{Cu}} / M_{\text{Cu}_2\text{O}}$$

$$\boxed{\text{HEC Cu} = 0,013 \text{ mg/m}^3 \times 2 \times 63,54/143,09 = 0,012 \text{ mg/m}^3}$$

abgeschlossen am 05.12.2012

