

Analytische Studie zu männlichen Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Metallindustrie



Wissenschaftlicher Schlussbericht

Birte Mester
Nils Schmeißer
Ingo Langner
Thomas Behrens
Wolfgang Ahrens

Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin (BIPS)
Abt. Epidemiologische Methoden und Ursachenforschung
Universität Bremen
Linzer Strasse 8 – 10
D- 28359 Bremen
Tel.: 0049 – 421 – 59596 – 0
FAX: 0049 – 421 – 59596 – 65
Email: ahrens@bips.uni-bremen.de
Internet: www.bips.uni-bremen.de

Das Forschungsvorhaben wurde vom Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin (BIPS) durchgeführt und mit Mitteln aus dem Forschungsfonds der DGUV und durch die Vereinigung der Metallberufsgenossenschaften (VMBG) finanziell unterstützt. Die Analysen für den Berichtsteil B „Biomonitoring“ wurden in Kooperation mit dem Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (BGFA) und von der Firma Biodetection Systems (BDS), Amsterdam im Werkvertrag durchgeführt.

Förderzeitraum des Forschungsvorhabens: 01.08.2005 – 30.04.2009

Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter im BIPS:

Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Ahrens (Projektleitung)

Dr. med. Thomas Behrens

Dr. med. Birte Mester

Dipl. Biol. Nils Schmeißer

Dipl. Biol. Andrea Gottlieb

Dr. rer. nat. Ingo Langner

Sigrid Joppich

Anke Suderburg

Hauke Lünzmann

Annette Lübke

Hermann Pohlabein

Gesamtinhaltsverzeichnis

- Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks
- Beschreibung der Relevanz der Ergebnisse für die gesetzliche Unfallversicherung
- Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan
- Wissenschaftlicher Schlussbericht Teil A - Allgemeiner Teil
 - Anhang:
 - Publikationsmanuskripte- vertraulich
- Wissenschaftlicher Schlussbericht Teil B – Biomonitoring
 - Anhang:
 - Biomonitoring-Fragebogen
(Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin - BIPS)
 - Humanbiomonitoring - Qualitätssicherungsbericht
(Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung – BGFA)
 - Humanbiomonitoring – Abschlussbericht
(Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung – BGFA)
 - Validation of the extraction and ERaCALUX® analysis of human plasma/serum
(BioDetectionSystems – BDS)

Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks

Die im Rahmen des Antrags zu der vorliegenden Fall-Kontroll-Studie formulierten und in der Einleitung des Abschlussberichts Teil A wiedergegebenen Forschungsziele wurden durch die Forschungsarbeiten umfassend erreicht. Durch die Weiterführung der Inzidenzerhebung wurden weitere an einem männlichen Keimzelltumor erkrankte Personen, die den Einschlusskriterien der Studie entsprachen, identifiziert. Schließlich konnten 205 männliche Personen mit Keimzelltumor in die Studie eingeschlossen werden.

Die explorative Datenanalyse zur Aufdeckung von bisher unbekannten beruflichen Risikofaktoren erbrachte Hinweise auf ein erhöhtes Erkrankungsrisiko bei Metallarbeitern, insbesondere bei spanender Metallbearbeitung. Eindeutige Aussagen zu möglichen stofflichen Expositionen, die diese Erkrankungshäufung begründen, sind jedoch auf Grundlage der Studienergebnisse nicht möglich. Die Analysen zu stofflichen Expositionen und deren Zusammenhang zum Auftreten von Keimzelltumoren erbrachten diskrete Hinweise auf eine Risikoerhöhung beim beruflichen Umgang mit Bisphenol A, dem Glykolether EGBE und Dimethylformamid. Die Studienergebnisse geben dagegen keine Hinweise auf ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für männliche Keimzelltumoren durch Exposition gegenüber elektromagnetischen Feldern am Arbeitsplatz, wie dies initial für den Umgang mit handgeführten Schweißzangen diskutiert wurde.

Bestehende Instrumente zur retrospektiven Expositionseinschätzung wurden im Rahmen der Studie in Zusammenarbeit mit einem interdisziplinären Arbeitskreis weiterentwickelt. Das daraus entstandene Konzept zur Expositionseinschätzung wurde evaluiert. Die Möglichkeit, Analysen in biologischen Materialien einzubeziehen (Biomonitoring), wurde in einem eigenen Studienteil (Abschlussbericht Teil B) untersucht. Da dieser Studienteil nur auf ausgewählte Studienprobanden beschränkt war, wurden die Untersuchungsergebnisse nicht in die Expositionseinschätzung einbezogen. Die Untersuchungsergebnisse wurden jedoch in Bezug auf Angaben aus dem Fragebogen sowie die Expositionseinstufungen der ausgewählten Studienteilnehmer analysiert.

Die erhöhte Keimzellerkrankungshäufigkeit in dieser Kohorte von Metallarbeitern, die Anlass zur Durchführung dieser Studie war, kann nicht (wie ursprünglich angenommen) durch frühere oder nebenberufliche landwirtschaftliche Tätigkeiten erklärt werden.

Bekannte außerberufliche Einflussfaktoren wurden bei der explorativen Datenanalyse berücksichtigt. Als außerberufliche Faktoren konnten der bekannte Risikofaktor Kryptorchismus sowie die Körpergröße festgestellt werden.

Beschreibung der Relevanz der Ergebnisse für die gesetzliche Unfallversicherung insbesondere im Hinblick auf die Praxisverknüpfung

Insbesondere die Ergebnisse zu einer möglichen Risikoerhöhung infolge spanender Metallbearbeitung legen weitere Untersuchungen dieses möglichen Risikofaktors nahe. Bei einer statistisch signifikanten Odds Ratio von 1,87 für die Ausübung spanender Metallbearbeitung und das Auftreten von männlichen Keimzelltumoren hat dieses Ergebnis in Verbindung mit gleich lautenden Hinweisen auf einen entsprechenden Zusammenhang aus der Literatur Relevanz im Sinne des Berufskrankheitenrechts. Ein Assoziationsmaß nahe ‚2‘ innerhalb eines branchenspezifischen Untersuchungskollektivs liegt knapp unterhalb des Verdopplungsrisikos. Ein noch höheres Erkrankungsrisiko durch Tätigkeiten mit spanender Metallbearbeitung lässt sich deshalb in Bezug auf die Allgemeinbevölkerung, die keinen potentiellen industriellen Gefahrstoffen ausgesetzt ist, vermuten. Um im Entschädigungsverfahren für Berufskrankheiten eine fundierte Entscheidungsgrundlage zu erlangen bzw. um zukünftig arbeitsschutzrechtliche Maßnahmen empfehlen zu können,

sollten anschließende Untersuchungen des Keimzelltumorrisikos in weiteren Branchen der Metallindustrie durchgeführt werden.

Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan

Die erhobenen Forschungsergebnisse werden der wissenschaftlichen Öffentlichkeit im Rahmen wissenschaftlicher Publikationen präsentiert. Ein weiterer aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan besteht von Seiten des Forschungsnehmers nicht.

Analytische Studie zu männlichen Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Metallindustrie



Wissenschaftlicher Schlussbericht
Teil A –Allgemeiner Teil
(30.06.2009)
überarbeitet anhand der Anmerkungen
durch die Mitglieder des Lenkungskreises

Birte Mester
Nils Schmeißer
Ingo Langner
Thomas Behrens
Wolfgang Ahrens

Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin (BIPS)
Abt. Epidemiologische Methoden und Ursachenforschung
Universität Bremen
Linzer Strasse 8 – 10
D- 28359 Bremen
Tel.: 0049 – 421 – 59596 – 0
FAX: 0049 – 421 – 59596 – 65
Email: ahrens@bips.uni-bremen.de
Internet: www.bips.uni-bremen.de

Das Forschungsvorhaben wurde vom Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin (BIPS) durchgeführt und mit Mitteln aus dem Forschungsfonds der DGUV und durch die Vereinigung der Metallberufsgenossenschaften (VMBG) finanziell unterstützt. Die Analysen für den Berichtsteil Biomonitoring wurden in Kooperation mit dem Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (BGFA) und von der Firma Biodetection Systems (BDS), Amsterdam im Werkvertrag durchgeführt.

Laufzeit des Forschungsvorhabens: 01.08.2005 – 30.04.2009

Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter im BIPS:

Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Ahrens (Projektleitung)

Dr. med. Thomas Behrens

Dr. med. Birte Mester

Dipl. Biol. Nils Schmeißer

Dipl. Biol. Andrea Gottlieb

Dr. rer. nat. Ingo Langner

Sigrid Joppich

Anke Suderburg

Hauke Lünzmann

Annette Lübke

Hermann Pohlabein

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Inhaltsverzeichnis

	Tabellenverzeichnis	6
	Abbildungsverzeichnis.....	8
	Abkürzungsverzeichnis.....	9
	Zusammenfassung.....	11
1	Einleitung	13
1.1	Grundlage der Studie, Zielstellung.....	13
1.2	Medizinische Grundlagen und deskriptive Epidemiologie von männlichen Keimzelltumoren	14
1.3	Analytische Epidemiologie von männlichen Keimzelltumoren	16
1.3.1	Erbliche Einflussfaktoren	17
1.3.2	Pränatale Einflussfaktoren	17
1.3.3	Postnatale Einflussfaktoren.....	18
1.3.4	Literaturverzeichnis	22
2	Material und Methoden.....	28
2.1	Studienpopulation	28
2.1.1	Fallrekrutierung: Diagnosesicherung bekannter Verdachtsfälle, Ermittlung neuer Fälle	28
2.1.2	Ein- und Ausschlusskriterien	28
2.1.3	Matchingverfahren.....	29
2.1.4	Probandenansprache	30
2.1.5	Response	32
2.1.6	Ausfallgründe.....	37
2.2	Datenerhebung mittels Interview /Expositionsermittlung.....	38
2.2.1	Beschreibung der Erhebungsinstrumente.....	38
2.3	Ermittlung beruflicher Expositionen.....	44
2.3.1	Konzept	44
2.3.2	Entwicklung der branchenspezifischen Job Exposure Matrix	47
2.3.3	Automatische Expositionseinstufung mittels Interviewangaben und Job Exposure Matrix	48
2.3.4	Auswahl der in eine individuelle Expositionseinstufung einzubeziehenden Expositionsphasen ..	49
2.3.5	Auswahl von Probanden für die Untersuchung von biologischem Material	50
2.4	Codierungen	57
2.4.1	Berufe und Branchen.....	57
2.4.2	Diagnosen	58
2.4.3	Medikamente	59
2.4.4	Nationalität	59
2.5	Analytische Methoden	60
2.5.1	Matching.....	60
2.5.2	Quantitative Maße für die Exposition	60
2.5.3	Statistische Analysen	62
2.6	Qualitätssicherung.....	62
2.6.1	Probandenansprache	62
2.6.2	Plausibilitätskontrollen	63
2.6.3	Interviewerinnenschulung und -betreuung	64
2.6.4	Diagnosesicherung durch Referenzbefundung	65
2.6.5	Re-Interviews	69
2.6.6	Recodierungen (Beruf und Branche).....	69
2.7	Arbeits- und Zeitabläufe des Gesamtprojekts	71
3	Ergebnisse	73
3.1	Allgemeine Beschreibung der Studienpopulation	73
3.1.1	Alter	73
3.1.2	Diagnosejahr	74
3.1.3	Ergebnis der Referenzbefundung.....	75
3.1.4	Schul- und Berufsausbildung	75
3.1.5	Werksstandort.....	76
3.1.6	Anzahl der Berufsphasen.....	77
3.1.7	Dauer der Berufsphasen	77

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

3.1.8	Interviewdauer	78
3.1.9	Interviewqualität	78
3.2	Außerberufliche Einflussfaktoren.....	81
3.2.1	Anthropometrische Kenngrößen und medizinische Vorgeschichte	81
3.2.2	Sozioökonomischer Status	82
3.2.3	Pestizide im Haushalt	83
3.3	Berufliche Expositionen	83
3.3.1	Tätigkeiten und Branchen	83
3.3.2	Stoffbezogene Expositionen in der Kfz-Produktion.....	84
3.3.3	Stoffbezogene Expositionen außerhalb der Kfz-Produktion	107
4	Schlussfolgerungen.....	107
5	Publikationen und Vorträge.....	108
6	Anhang.....	109
a.	Publikationsmanuskript “Development and evaluation of a tool for retrospective exposure assessment of selected endocrine disrupting chemicals and EMF in the metal working industry”	109
b.	Publikationsmanuskript “Case-control study of male germ cell tumours nested in a cohort of car manufacturing workers: findings from the occupational history”	109
c.	Publikationsmanuskript “No association of germ cell cancer with activities and exposures in farming and forestry in a nested case-control study of male car workers in Germany”	109

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1: Ergebnis der Diagnosesicherung	28
Tabelle 2-2: Responseproportionen	33
Tabelle 2-3: Ausfallgründe	37
Tabelle 2-4: Einsatz von Datenbanken im Projekt	43
Tabelle 2-5: Anzahl Interviews nach Art und Interviewpartner	44
Tabelle 2-6: Auswahl stofflicher Expositionen für die Expositionsermittlung	46
Tabelle 2-7: Einstufungskategorien für Expositionswahrscheinlichkeit	47
Tabelle 2-8: Einstufungskategorien für den zeitlichen Umfang der Exposition an der regelmäßigen Arbeitszeit	47
Tabelle 2-9: Zugrunde liegende Informationsquellen für quantitative Expositionseinstufungen innerhalb der Job Exposure Matrix	48
Tabelle 2-10: Subjektive Qualitätseinschätzung für quantitative Expositionseinstufungen innerhalb der JEM	48
Tabelle 2-11: Für die Auswahl der Biomonitoring-Probanden relevanten Merkmale und ihre Ausprägungen	51
Tabelle 2-12: Anzahl der zum Interviewzeitpunkt aktuell in der Kfz-Herstellung beschäftigten Probanden nach Werksstandort	52
Tabelle 2-13: Exposition gegenüber relevanten Stoffen der für das Biomonitoring ausgewählten Probanden	54
Tabelle 2-14: Ergebnisse der Kontaktaufnahme für das Biomonitoring	55
Tabelle 2-15: Ausfallgründe	56
Tabelle 2-16: Von NACE und ISCO abweichende Sondercodes für Phasen der Nicht-Erwerbstätigkeit und für Soldaten	57
Tabelle 2-17: Allgemeine Festlegungen zur Codierung der Diagnosen	59
Tabelle 2-18: Plausibilitätskontrollen während der Durchführung des Interviews	64
Tabelle 2-19: Interviews je Interviewerin nach Fall-Kontrollstatus	65
Tabelle 2-20: Referenzbefundung	66
Tabelle 3-1: Anzahl der Risksets mit jeweiliger Anzahl der Kontrollen pro Tumorpatient	73
Tabelle 3-2: Altersverteilung bei Erstdiagnose (für Kontrollpersonen: Alter zum Diagnosezeitpunkt des gematchten Tumorpatienten)	74
Tabelle 3-3: Ergebnisse der Referenzbefundung von Schnittpräparaten und histopathologischen Befunden	75
Tabelle 3-4: Verteilung von höchster Schul- und Berufsausbildung bei Tumorpatienten und Kontrollpersonen	76
Tabelle 3-5: Verteilung der Fälle und Kontrollen nach Werksstandorten in denen jemals einer Beschäftigung nachgegangen wurde.	77
Tabelle 3-6: Vollständigkeit des Interviews	79
Tabelle 3-7: Zusammenarbeit mit interviewter Person	79
Tabelle 3-8: Subjektive Qualitätseinschätzung durch Interviewerin	79
Tabelle 3-9: Gründe für eingeschränkte Zuverlässigkeit	80
Tabelle 3-10: Interview-Unterbrechungen	80
Tabelle 3-11: Dauer der Interviewunterbrechung	80
Tabelle 3-12: Einverständnis mit Audioaufnahme	81
Tabelle 3-13: Verteilung von höchstem erreichten ISEI bei Tumorpatienten und Kontrollpersonen	83
Tabelle 3-14: Verteilungen der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) die jemals gegenüber einer in der JEM erfassten Substanz exponiert waren sowie zugehörige Odds Ratios und 95% Konfidenz-Intervalle (95%-KI).	85
Tabelle 3-15: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen), die jemals gegenüber einer bestimmten Substanz inhalativ exponiert waren, und entsprechende Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).	87
Tabelle 3-16: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen), die jemals gegenüber einer bestimmten Substanz dermal exponiert waren, Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).	89
Tabelle 3-17: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach Spitzen- Intensität bei inhalativer Exposition und entsprechende Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).	91

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-18: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach Spitzen-Intensität bei dermalen Exposition und Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).	94
Tabelle 3-19: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach Dauer der Exposition gegenüber einer bestimmten Substanz und Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).	96
Tabelle 3-20: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach stoffspezifischem kumulativem Expositionsindex für inhalative Einwirkung und Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).	101
Tabelle 3-21: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach EMF Exposition und entsprechende Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).	106

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1: Die Entwicklung verschiedener Keimzelltumoren des Hodens (aus: Wittekind, C., Neid, M.: Hodentumoren, Der Onkologe 2003, 9: 937 – 942)	14
Abbildung 1-2: Verlauf der altersstandardisierten Inzidenz und Mortalität für Hodentumoren (aus: Krebs in Deutschland 2003 – 2004. Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin, 2008)	15
Abbildung 1-3: Schätzung der altersstandardisierten Inzidenz für Hodentumoren in Deutschland 2004 (aus: Krebs in Deutschland 2003 – 2004. Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin, 2008)	16
Abbildung 2-1: Erfolgsquote je Ansprachestufe bei Tumorpatienten	35
Abbildung 2-2: Erfolgsquote nach Ansprachestufe bei Kontrollpersonen	36
Abbildung 2-3: Prioritätenliste für den Einsatz von Zusatzfragebögen	42
Abbildung 2-4: Fließdiagramm zum Konzept der Ermittlung beruflicher Expositionen	45
Abbildung 2-5: Anzahl der das Schwellenkriterium erfüllenden Probanden mit Expositionen gegenüber Nichtmetallen.	53
Abbildung 2-6: Anzahl der das Schwellenkriterium erfüllenden Probanden mit Expositionen gegenüber Metallen.....	53
Abbildung 2-7: Entscheidungsschema für die Einstufung oder den Ausschluss als Tumorpatient für diejenigen Tumorpatienten, deren Gewebeproben beurteilt wurden	68
Abbildung 2-8: Aufbau der Maske für die Zweitcodierung der Berufs- und Branchenangaben.....	70
Abbildung 2-9: Aufbau der Maske für die Drittcodierung der Berufs- und Branchenangaben	71
Abbildung 2-10: Schematische Darstellung der geplanten und tatsächlichen Arbeits- und Zeitabläufe	72
Abbildung 3-1: Verteilung der Erstdiagnosen der in der Studie analysierten Tumorpatienten nach Kalenderjahren.....	74
Abbildung 3-2: Verteilung der Interviewdauer für Tumorpatienten und Kontrollpersonen	78
Abbildung 3-3: Histogramm der Häufigkeit des maximal erreichten ISEI für Fälle und Kontrollen.....	82

Abkürzungsverzeichnis

ATC	Anatomisch-therapeutisch-chemische Klassifikation
BG	Berufsgenossenschaft
BGFA	Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung
BIPS	Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin
BKK	Betriebskrankenkasse
CAPI	Computer assisted personal interview
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DEGDME	Diethylenglykoldimethylether
DIDP	Di-isodecyl-phthalat
DINP	Di-isononyl-phthalat
DOP	Dioctylphthalat (synonym: DEHP, Di-(2-ethylhexyl)-phthalat)
EDC	Endocrine disrupting chemical
EGBE	Ethylenglykolmonobutylether
EGEE	Ethylenglykolethylether
EMF	Elektromagnetische Felder
HVBG	Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften
ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
TV	Terminverwaltung
ID	Studienteilnehmernummer
IEEA	Individual expert exposure assessment
ILO	International Labour Office
ISCO	International Standard Classification of Occupations
ISEI	International Socio-Economic Index
JEM	Job Exposure Matrix
Kfz	Kraftfahrzeug
KI	Konfidenzintervall
NACE	Nomenclature générale des activités dans les communautés Européennes
o.n.A.	ohne nähere Angabe
OPH	Operationshandbuch
OR	Odds Ratio
p,p-DDE	Dichlordiphenyldichlorethen
PVC	Polyvinylchlorid
SES	Sozioökonomischer Status

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

TDS	Testicular dysgenesis syndrome
TEGME	Triethylenglykolmonoethylether
VMBG	Vereinigung der Metall-Berufsgenossenschaften
ZB	Zusatzbogen

Zusammenfassung

Der nachfolgende Abschlussbericht enthält als technischer Report ausführliche Beschreibungen des Studienkollektivs und der angewandten Methoden. Die Ergebnisse der Studie werden in Form wissenschaftlicher Publikationsmanuskripte präsentiert. Bereits vorliegende Publikationsmanuskripte sind als Anhang Teil dieses Abschlussberichts.

Hintergrund:

Eine vom Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin (BIPS) im Jahr 2002 durchgeführte Inzidenzstudie zum Auftreten von männlichen Keimzelltumoren bei Beschäftigten in der Kfz-Herstellung zeigte eine erhöhte Erkrankungshäufigkeit im Untersuchungskollektiv. Daraufhin wurde eine in die Kohorte eingebettete Fall-Kontrollstudie durchgeführt, um der Frage nachzugehen, ob berufliche oder außerberufliche Expositionen für die beobachtete Erhöhung der Inzidenz von Keimzelltumoren verantwortlich sind. Die Haupthypothesen konzentrierten sich dabei v. a. auf eine Exposition gegenüber elektromagnetischen Feldern (EMF), z.B. durch den Umgang mit Schweißzangen, Lösemitteln (wie z.B. Dimethylformamid (DMF)), gegenüber Stoffen mit hormonähnlichen Eigenschaften (z.B. Weichmachern) bzw. Metallen, welche hormonähnliche Eigenschaften aufweisen können. Da das Exzess-Risiko in der Kohorte an einem Werksstandort in einer landwirtschaftlich geprägten Region besonders stark ausgeprägt war, wurde auch eine frühere oder berufsbegleitende Beschäftigung in der Landwirtschaft, welche mit einer Exposition gegenüber dem vermuteten Risikofaktor Pestizide einhergehen kann, als möglicher Einflussfaktor untersucht.

Studienkollektiv und Methoden:

Die Studie wurde als Fall-Kontroll-Studie mit 205 Tumorpatienten und 1091 Kontrollpersonen aus einer Kohorte von Beschäftigten der Kfz-Herstellung durchgeführt. Das Matching der Kontrollen erfolgte nach Geburtsjahr der Fälle (± 2 Jahre). Im Rahmen von persönlichen Interviews wurden ausführliche Informationen u. a. zur medizinischen Vorgeschichte, zum Ernährungsverhalten und zur Berufsbiographie erhoben. Für ausgewählte Berufsgruppen erfolgte eine detaillierte Erfassung von Tätigkeiten und verwendeten Arbeitsverfahren durch den Einsatz so genannter Zusatzfragebögen. Zur Ermittlung und Bewertung von Expositionen gegenüber Arbeitsstoffen wie DMF, Bisphenol A, verschiedenen Glykolethern, Phthalaten und Metallverbindungen wurde im Rahmen der Studie ein interdisziplinärer Expertenkreis bestehend aus Vertretern der Berufsgenossenschaften, des Kfz-Herstellers und des BIPS eingerichtet. In Zusammenarbeit mit diesem Expertenkreis wurde ein mehrstufiges Verfahren zur Expositionsermittlung entwickelt und eine Job-Expositions-Matrix, die durch ein individuelles Expositionseinstufungsverfahren ergänzt wurde, ausgearbeitet. Für die Expositionseinstufung wurden verschiedene Indizes der kumulativen Exposition, der Expositionshäufigkeit, der Expositionsintensität und der Expositionswahrscheinlichkeit ausgearbeitet. Odds Ratios (OR) und 95% Konfidenzintervalle (KI) wurden mittels bedingter logistischer Regression berechnet.

Ergebnisse:

Die Prävalenz landwirtschaftlicher und forstwirtschaftlicher Tätigkeiten war mit 5,7 % deutlich niedriger als ursprünglich erwartet. Für Beschäftigungen in der Forstwirtschaft fand sich eine statistisch nicht signifikant erhöhte Odds Ratio (OR 1,74; KI 0,47–6,38). Für Expositionen gegenüber Pflanzenschutzmitteln, Düngemitteln und Desinfektionsmitteln ergaben sich bei geringer Prävalenz keine erhöhten ORs. Statistisch signifikant erhöhte ORs ergaben sich für die Berufsgruppierung der Maschinenschlosser, Maschinenmonteure und Präzisionsinstrumentenmacher (OR 1,8; KI 1,25–2,53). Eine Differenzierung dieser Berufsgruppierung in Tätigkeiten mit und ohne spanende Metallbearbeitung akzentuierte die Erhöhung der Odds Ratio für Tätigkeiten mit spanender Metallbearbeitung (OR 1,87; KI 1,31–2,67).

Jemals stattgefundene Expositionen gegenüber Bisphenol A (OR 1,39; KI 0,93–2,06), Epoxydharzen (OR 1,41; KI 0,95–2,09) und dem Glykolether EGBE (OR 1,3; KI 0,93–1,83)

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

zeigen statistisch nicht signifikant erhöhte Odds Ratios. Untersuchungen mit Berücksichtigung der Expositionsdauer ergaben auch für Dimethylformamid einen Hinweis auf eine Assoziation mit dem Auftreten von männlichen Keimzelltumoren bei einer Expositionsdauer von 3,5 bis 8,5 Jahren (OR 3,48; KI 0,98 – 12,34).

Schlussfolgerungen:

Berufliche Expositionen gegenüber elektromagnetischen Feldern waren in dieser Studie nicht mit dem Auftreten von männlichen Keimzelltumoren assoziiert.

Es deutete sich ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für verschiedene Gruppen von Metallarbeitern an, insbesondere wenn diese in der spanenden Metallbearbeitung tätig waren.

Für Expositionen gegenüber Bisphenol A, Epoxydharzen, dem Glykolether (EGBE) und Dimethylformamid, welche mit einer östrogenen Aktivität in Verbindung gebracht werden, bestehen Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang mit dem Auftreten von männlichen Keimzelltumoren. Die Risikoschätzer erreichten jedoch keine statistische Signifikanz.

Die Erkrankungshäufung in der Kohorte konnte aufgrund der niedrigen Expositionsprävalenz nicht auf frühere oder berufsbegleitende landwirtschaftliche Tätigkeiten zurückgeführt werden.

Da es möglich ist, dass eine unscharfe Expositionseinstufung mögliche Effekte maskiert, sind vertiefende Analysen und eine abschließende Bewertung der Expositionseinstufung mit Berücksichtigung der Ergebnisse aus dem Biomonitoring erforderlich.

1 Einleitung

1.1 Grundlage der Studie, Zielstellung

Ausgangspunkt der vorliegenden Studie war zunächst der Verdacht einer Häufung von Hodentumorerkrankungen bei Beschäftigten der Kraftfahrzeugproduktion (Kfz-Produktion) durch einen niedergelassenen Arzt. Daraufhin wurde der Verdacht auf das Vorliegen einer Berufskrankheit in einigen Fällen bei der zuständigen Berufsgenossenschaft angezeigt. Als möglicher zugrunde liegender Risikofaktor wurde dabei insbesondere eine Exposition gegenüber elektromagnetischen Feldern beim Schweißen mit handgeführten Punktschweißzangen diskutiert.

Dem Verdacht einer erhöhten Inzidenz an männlichen Keimzelltumoren wurde seit dem Jahr 2000 im Rahmen einer Inzidenzstudie sowie einer nachfolgenden Validierungsstudie nachgegangen. Überprüft wurde, ob innerhalb einer Gruppe männlicher Beschäftigter der Kraftfahrzeugproduktion in den Jahren 1989 bis 2000 tatsächlich häufiger Hodentumorerkrankungen auftraten als in der männlichen Allgemeinbevölkerung. Deren Neuerkrankungsrate an Hodentumorerkrankungen wurde mit Hilfe der Daten des Saarländischen Krebsregisters ermittelt.

Ergebnis der beiden Studien war eine im Vergleich zu den Angaben des Saarländischen Krebsregisters tatsächlich erhöhte Hodentumorinzidenz für die Beschäftigten der Kraftfahrzeugherstellung. Insbesondere für zwei Werksstandorte und für Beschäftigte im Alter über 50 Jahren zeigte sich eine Erhöhung der altersadjustierten Neuerkrankungsrate im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung. Besonders die Risikoerhöhung bei älteren Arbeitnehmern wurde als Hinweis auf eine berufliche (Mit-)Verursachung gedeutet. Eine Zuordnung der erhöhten Inzidenz zu einzelnen Arbeitsbereichen im Rahmen der Inzidenz- und Validierungsstudie ergab keine klaren Hinweise auf ursächliche Expositionen.

Die vorliegende „analytische Studie zu männlichen Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion“ versucht, in Form einer eingebetteten Fall-Kontroll-Studie innerhalb einer Kohorte von jemals in der Kraftfahrzeugproduktion Beschäftigter mögliche Gründe für diese Erkrankungshäufung zu identifizieren.

Folgende Ziele wurden im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie verfolgt:

- 1.) Vervollständigung der Inzidenzerhebung
- 2.) Explorative Datenanalyse von Arbeitsbereichen, Tätigkeiten, EMF-Expositionen und stofflichen Expositionen zur Aufdeckung möglicher bisher unbekannter Risikofaktoren für Berufstätigkeiten in der Kfz-Herstellung,
- 3.) Weiterentwicklung von Instrumenten zur retrospektiven Expositionseinschätzung unter Beteiligung eines interdisziplinären Arbeitskreises und der Einbeziehung analytischer Untersuchungen biologischen Materials,
- 4.) Identifizierung beruflicher Ursachen außerhalb der Kfz-Herstellung (Confounding) und
- 5.) Untersuchung außerberuflicher Einflussfaktoren (Confounding).

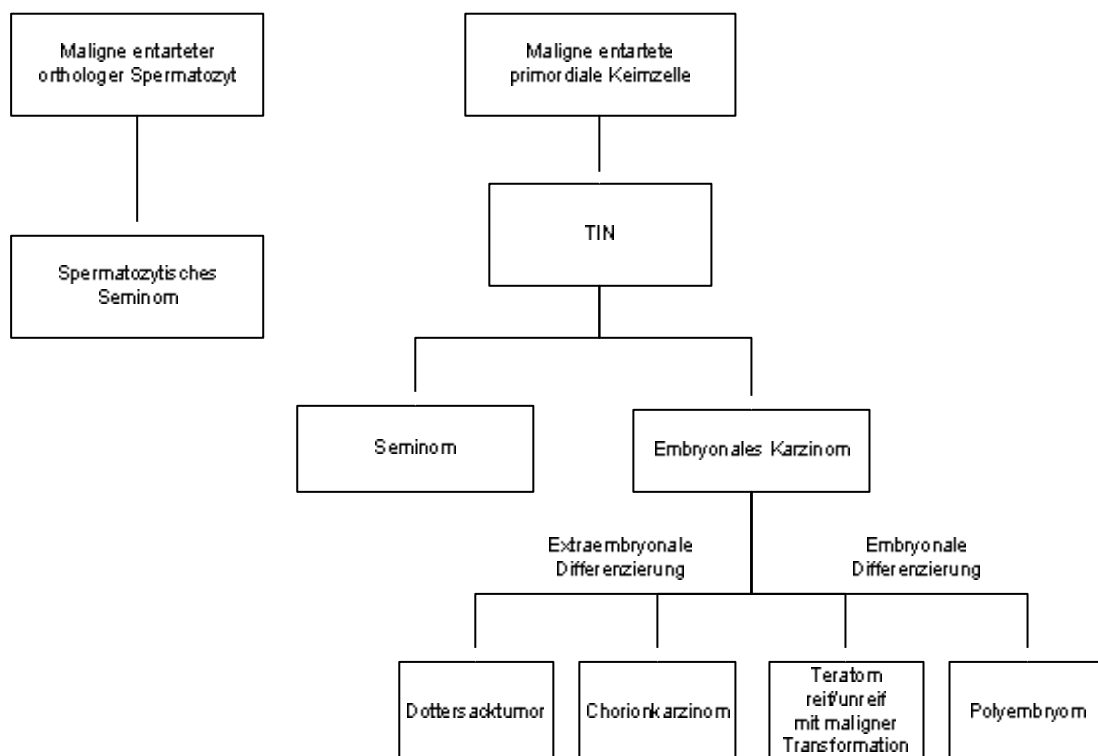
1.2 Medizinische Grundlagen und deskriptive Epidemiologie von männlichen Keimzelltumoren

Die Hoden sind die paarig angelegten Keimdrüsen des Mannes. Sie besitzen jeweils 250 bis 300 Läppchen, welche durch bindegewebige Scheidewände voneinander getrennt sind. Innerhalb der Läppchen befinden sich die zusammengeknäuelten Hodenkanälchen. In den Keimzellen der Hodenkanälchen erfolgt die Spermienproduktion. Die zwischen den Keimzellen und den versorgenden Blutgefäßen liegenden Sertoli-Zellen regulieren die Versorgung der Keimzellen und greifen über die Produktion von androgenbindendem Protein und Inhibin in die hormonelle Steuerung der Spermienproduktion ein. Zwischen den Hodenkanälchen finden sich die Leydig-Zellen, in denen während der Fetalperiode und ab der Pubertät das männliche Geschlechtshormon Testosteron produziert wird. Während der Fetalperiode wird die Testosteronproduktion in den Leydig-Zellen durch das humane Choriongonadotropin (hCG) aus der mütterlichen Plazenta reguliert. Mit Beginn der Pubertät wird die Testosteronbildung durch das Luteinisierende Hormon (LH) aus der Hirnanhangdrüse beeinflusst.

Hodentumoren können sich grundsätzlich aus allen im Hoden vorkommenden histologischen Zelltypen entwickeln. Je nach Literaturangabe lassen sich jedoch bis zu 95% aller Hodentumoren auf entartete Keimzellen zurückführen. Die restlichen 5% der Hodentumoren bilden sich aus Zellen des Stütz- und Bindegewebes.

Die Keimzelltumoren des Hodens lassen sich in Seminome und Nicht-Seminome unterteilen. Diese kommen zu etwa gleichen Teilen vor. Es wird angenommen, dass sich beide Formen über das Zwischenstadium der testikulären intraepithelialen Neoplasie (TIN) aus einer maligne entarteten primordialen Keimzelle entwickeln. Als einzige Ausnahme gelten spermatozytische Seminome, welche sich offenbar aus Spermatozyten entwickeln (Abbildung 1-1)

Abbildung 1-1: Die Entwicklung verschiedener Keimzelltumoren des Hodens (aus: Wittekind, C., Neid, M.: Hodentumoren, Der Onkologe 2003, 9: 937 – 942)



Sowohl Prognose als auch die Wahl der geeigneten Therapie sind abhängig vom histologischen Typ des Hodentumors sowie vom jeweiligen Stadium der Erkrankung. Die Einteilung des Erkrankungsstadiums erfolgt nach der international einheitlichen TNM-Klassifikation (T = Tumor, N = Nodus/Lymphknoten, M = Metastase). Ergänzend werden Informationen zum Tumormarker-Status herangezogen.

Die Therapie umfasst je nach histologischem Typ und Erkrankungsstadium neben der operativen Entfernung des betroffenen Hodens regelmäßige Kontrolluntersuchungen, chemotherapeutische und/oder strahlentherapeutische Maßnahmen. Die Heilungsraten konnten in den vergangenen Jahrzehnten aufgrund der interdisziplinären Erarbeitung von Behandlungsstandards deutlich verbessert werden. Bei entsprechend dieser Leitlinien durchgeführten Therapie-Schemata liegen die Heilungsraten in Deutschland für frühe Erkrankungsstadien bei 95% bis 100%, für späte Tumorstadien mit schlechter Prognose bei 50%. Die Sterblichkeit aufgrund von Hodentumorerkrankungen ist dementsprechend in den vergangenen Jahren rückläufig.

In Deutschland erkranken jährlich etwa 4750 Männer an einem Hodentumor. Hodentumorerkrankungen gehören damit zu den eher seltenen Krebserkrankungen. Sie stellen jedoch die häufigste Tumorerkrankung bei Männern unter 50 Jahren dar. Nur etwa 2% aller bösartigen Krebserkrankungen bei Männern in Deutschland sind Hodentumoren. Auffällig ist jedoch ein seit Jahrzehnten anhaltender Trend mit zunehmenden Neuerkrankungszahlen, welche nicht durch verbesserte diagnostische Verfahren zu erklären sind (vgl. Abbildung 1-2). Dieser Trend ist auch in anderen europäischen Ländern zu verzeichnen (Bergström et al., 1996, Richardi, et al., 2004, Bray et al., 2006).

Altersstandardisierte Inzidenz und Mortalität in Deutschland 1980–2004, ICD-10 C62
Fälle pro 100.000 (Europastandard)

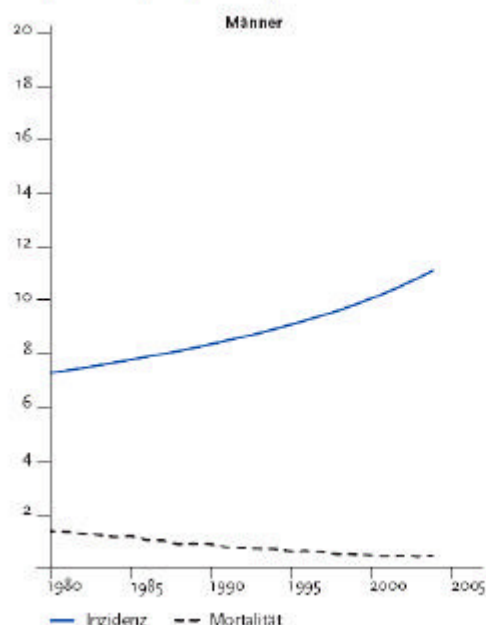


Abbildung 1-2: Verlauf der altersstandardisierten Inzidenz und Mortalität für Hodentumoren (aus: Krebs in Deutschland 2003 – 2004. Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin, 2008)

Im internationalen Vergleich liegt die geschätzte Neuerkrankungsrate für Deutschland mit 11,2 Neuerkrankungsfällen pro 100.000 Männer im Jahr 2004 mit an vorderster Stelle (Globocan Schätzung 2002). Innerhalb der Bundesrepublik variiert die Inzidenz für Hodentumoren regional. Die höchste altersstandardisierte erfasste Neuerkrankungsrate findet man in Schleswig-Holstein und Niedersachsen, die geringsten Werte werden für Berlin und Hessen angegeben (Krebs in Deutschland 2003-2004, 2008).

Hodentumoren besitzen zudem im Vergleich zu anderen bösartigen Tumorerkrankungen eine auffällige Altersverteilung. Die höchste Neuerkrankungsrate findet sich bei Männern im Alter zwischen 35 und 39 Jahren. Etwa 80% aller Hodentumorneuerkrankungen betreffen Männer im Alter unter 50 Jahren (vgl. Abbildung1-3).

Schätzung der altersspezifischen Inzidenz in Deutschland 2004, ICD-10 C62
Neuerkrankungen pro 100.000 in Altersgruppen

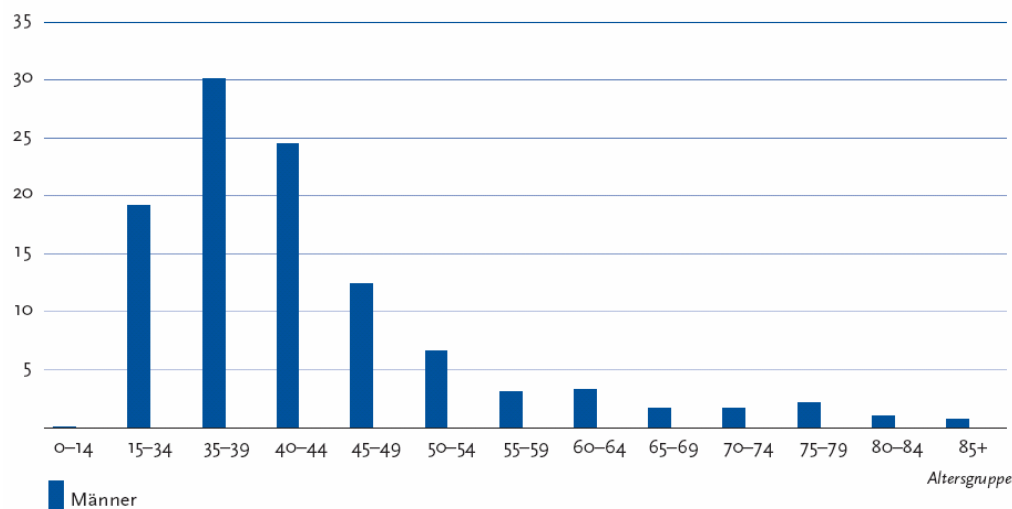


Abbildung1-3: Schätzung der altersstandardisierten Inzidenz für Hodentumoren in Deutschland 2004 (aus: Krebs in Deutschland 2003 – 2004. Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin, 2008)

Gründe für die Häufung von Neuerkrankungen in diesem Alter sind ebenso wie Begründungen für die ansteigende Erkrankungshäufigkeit bisher nicht bekannt. Verschiedene prä-, peri- und postnatale Einflüsse werden diskutiert.

1.3 Analytische Epidemiologie von männlichen Keimzelltumoren

Auf der Suche nach möglichen Risikofaktoren für männliche Keimzelltumoren wurden zahlreiche Untersuchungen mit unterschiedlichen Designs durchgeführt. Die Anzahl der Publikationen zu möglichen Ursachen von männlichen Keimzelltumoren ist immens (vgl. Behrens et al. 2006). Die nachfolgende Zusammenstellung einiger aktuell diskutierter Risikofaktoren stellt einen Zusammenhang mit den in der durchgeführten Fall-Kontroll-Studie untersuchten Faktoren her.

1.3.1 Erbliche Einflussfaktoren

Eine Hodentumorerkrankung in der Familiengeschichte gilt als einer der stärksten bekannten und akzeptierten Risikofaktoren mit einer bis zu zehnfachen Risikoerhöhung. Dieser Umstand legt die Vermutung einer genetischen Prädisposition nahe. Kandidatengen-Assoziationsstudien zur Aufdeckung entsprechender Suszeptibilitätsgene ergaben bisher jedoch keine eindeutige Zuordnung (Rapley 2007).

1.3.2 Pränatale Einflussfaktoren

Verschiedene Aspekte im Auftreten von Hodentumorerkrankungen haben die Vermutung nahe gelegt, dass bereits Einflüsse während der Intrauterinphase und/oder kurz nach Geburt die spätere Krankheitsentstehung bestimmen bzw. bahnen.

Die Entwicklung von Tumorerkrankungen nimmt gewöhnlich mehrere Jahre bis Jahrzehnte in Anspruch. Der frühe Erkrankungsgipfel bei Männern im Alter unter 40 Jahren deutet daher auf eine vorgeburtliche oder frühkindliche Initiierung des Krankheitsgeschehens hin.

Die Relevanz der Vorgeburts- bzw. frühkindlichen Phase wird auch durch Untersuchungen bei Männern, welche aus einem Land mit geringem Erkrankungsrisiko in ein Land mit hohem Erkrankungsrisiko umgezogen sind, gestützt. Diese Männer behielten im Vergleich zur Bevölkerung ihres neuen Heimatlandes eine deutlich niedrigere Erkrankungswahrscheinlichkeit, unabhängig vom Zeitpunkt der Auswanderung oder der Dauer des Aufenthaltes im neuen Heimatland. Daher werden frühzeitige Einflüsse im Herkunftsland als Determinanten der späteren Krankheitsentstehung abgeleitet (Ekbom et al. 2003). Andere Studien zeigen, dass der Zeitpunkt der Geburt einen nennenswerten Einfluss auf die Krankheitsentstehung hat (Bergström et al. 1996, Bray et al. 2006). Männer, die in den Jahren 1940 bis 1945, also während des Zweiten Weltkriegs, in Frankreich, Italien, Dänemark, Norwegen und Schweden zur Welt kamen, entwickelten im späteren Leben seltener Hodentumorerkrankungen als Männer früherer und späterer Geburtskohorten.

Um welche vorgeburtlichen oder frühkindlichen Umstände innerhalb der Geburtskohorten es sich bei der Beeinflussung der Krankheitsentstehung handelt, ist dabei jedoch noch unklar. Mehrere Möglichkeiten werden diskutiert.

Der Inzidenzrückgang für die Geburtskohorten des Zweiten Weltkriegs wird u.a. auf Ernährungsbeschränkungen zurückgeführt (Aschim et al. 2005). Entsprechend könnte die seit der Nachkriegszeit zu beobachtende Inzidenzzunahme der sich anhaltend verbessernden Ernährungslage in den westlichen Ländern zugeschrieben werden. Eine kalorienreiche Ernährung während der Schwangerschaft und/ oder während der frühen Kindheit wäre somit mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer Hodentumorerkrankung verbunden. Diese Hypothese hat durch die aktuelle Studie von Diekmann (Diekmann u. Pichlmeier 2004, Diekmann et al. 2008) zusätzliche Unterstützung bekommen.

Eine weitere Theorie vermutet, dass ein erhöhter Östrogenspiegel während der Schwangerschaft zu einem erhöhten Hodentumorrisiko führt. Bestätigende epidemiologische Hinweise hierfür stammen aus Studien, die u.a. Schwangerschaftsübelkeit (Sonke et al. 2007), das Geburtsgewicht (Moller u. Skakkebaek 1997), den Erstgeborenen-Status (Weir et al. 2000) und das Alter der Mutter bei Geburt (Swerdlow et al. 1987) im Zusammenhang mit dem Auftreten von Hodentumorerkrankungen untersucht haben. Dabei gelten Schwangerschaftsübelkeit, ein geringes Geburtsgewicht, ein Status als Erstgeborener und ein höheres Alter der Mutter bei Geburt als Hinweise auf einen erhöhten Östrogenspiegel der Mutter.

Auch die Einwirkung exogen zugeführter Östrogene während der Schwangerschaft scheint in Zusammenhang mit dem Auftreten von männlichen Keimzelltumoren zu stehen. Hierzu geben Untersuchungen bei Söhnen von Müttern, welche während der Schwangerschaft das Medikament Diethylstilboestrol (DES) erhalten haben, Hinweise (Strohsnitter et al. 2001).

Neuere Untersuchungen zur Theorie der erhöhten Östrogenspiegel und männlichen Keimzelltumoren erweitern die Theorie und stellen ein Überwiegen der östrogenartig wirkenden Hormone im Verhältnis zu androgenartig wirkenden Hormone in den Vordergrund (Zhang et al. 2005).

Ein Überwiegen an östrogenartig wirkenden Hormonen im Verhältnis zu androgen wirkenden Hormonen, ob körpereigen oder von extern zugeführt, wird auch in der Entstehung des so genannten „testicular dysgenesis syndrom“ (TDS) diskutiert.

Unter dem TDS werden Hypospadien, Kryptorchismus, verminderte Samenqualität und Keimzelltumoren zusammengefasst. In vielen westlichen Ländern wurden ansteigende Häufigkeiten im Auftreten dieser Erkrankungen beobachtet. Diese Parallele zwischen den verschiedenen Erkrankungen führte zu der Vermutung, dass dem TDS gemeinsame Ursachen zugrunde liegen. Besondere Beachtung findet dabei die Hypothese, dass mütterliche Expositionen gegenüber „endocrine disruptors“ während der Schwangerschaft grundlegende Bedeutung zukommt (Sonne et al. 2008). Unter endokrinen Disruptoren werden exogene Stoffe oder Gemische verstanden, die zu Funktionsänderungen im Hormonsystem und damit verbunden zu ungünstigen Entwicklungen in einzelnen Organismen und deren Nachkommen führen.

1.3.3 Postnatale Einflussfaktoren

Auch Einflüsse während späterer Lebensphasen werden mit dem Auftreten von Hodentumorerkrankungen in Verbindung gebracht. Aufgrund der Häufung von Neuerkrankungen insbesondere im Alter über 50 Jahren innerhalb der Kohorte kommt im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie diesen Einflüssen besondere Bedeutung zu.

1.3.3.1 Lebensstilfaktoren, Gewohnheiten und Vorerkrankungen

Rauchen und Alkoholkonsum gelten im Gegensatz zu verschiedenen anderen Tumorerkrankungen bei männlichen Keimzelltumoren nicht als Risikofaktoren (United Kingdom Testicular Cancer Study Group 1994), wobei zumindest im Bezug auf Alkoholkonsum endgültige Schlüsse bisher nicht zulässig erscheinen.

Für Ernährungsgewohnheiten wurden Assoziationen zum Auftreten von Hodentumorerkrankungen beschrieben. Hierzu zählen insbesondere der Konsum von Milch und Milchprodukten in der Kindheit (Stang et al. 2006).

Der Einfluss körperlicher Aktivität auf die Entstehung von männlichen Keimzelltumoren ist hingegen unklar. Studien zeigten sowohl einen protektiven Effekt (Gallagher et al. 1999) als auch einen risikosteigernden Effekt (Srivastava et Kreiger 2000).

Expositionen gegenüber elektromagnetischen Feldern im privaten Wohnumfeld zeigten bisher keine Assoziationen zum Auftreten von männlichen Keimzelltumoren (Verreault et al. 1990, Verkasalo et al. 1996, Baumgardt-Elms et al. 2005). Die Expositionsabschätzung ist hierbei

jedoch besonders schwierig, so dass Ungenauigkeiten bei der Einstufung zu falsch negativen Ergebnissen geführt haben könnten.

In einer französischen Studie (Walschaerts et al. 2007) zeigte die Fragebogenangabe „regelmäßige Gärtner Tätigkeit“ (Obst- und Gemüseanbau) in der univariaten Auswertung einen signifikanten Bezug zu männlichen Keimzelltumoren. Im multivariaten Analyseverfahren bestand dieser jedoch nicht fort. Die Angabe regelmäßiger Gärtner Tätigkeit könnte als Indikatorvariable für einen privaten Umgang mit Pflanzenschutzmitteln gewertet werden.

Der Kryptorchismus, eine Lageanomalie des Hodens mit zumindest zeitweise nicht im Hodensack befindlichem Hoden, gilt als gesicherter Risikofaktor für männliche Keimzelltumoren (Garner et al. 2005). Im Sinne des TDS erscheint es jedoch als fraglich, ob der Kryptorchismus tatsächlich als eigenständiger Risikofaktor oder ebenfalls als Effekt gemeinsamer genetischer und/oder pränataler Einwirkungen zu interpretieren ist. Weitere Vorerkrankungen, die mit dem Auftreten mit einem Hodentumor in Verbindung gebracht wurden, sind u.a. Leistenhernien, Mumpsorchitis (Swerdlow et al. 1987) und die infektiöse Mononukleose (Shimakage et al. 1996). Keine dieser Vorerkrankungen gilt jedoch als akzeptierter Risikofaktor. Die Vermutung, dass Hodentraumata eine ursächliche Rolle spielen (Brown et al. 1987), darf als eher unwahrscheinlich gelten (Merzenich et al. 2000).

1.3.3.2 Berufliche Einflussfaktoren

Obwohl bisher zahlreiche Studien einen Bezug zwischen der Berufstätigkeit in ausgewählten Branchen bzw. Berufen und dem Auftreten von männlichen Keimzelltumoren hergestellt haben, konnten bisher keine eindeutigen Beziehungen zu chemischen und/oder physikalischen Einwirkungen als Risikofaktoren hergestellt werden.

In einer Studie aus dem Jahr 1986 fanden McDowell und Balarajan für Männer aus England und Wales aus den Berufsgruppen Farmer, Lebensmittelhersteller und Zeichner ein erhöhtes Risiko, an einer Hodenkrebskrankung zu versterben (McDowell u. Balarajan 1986).

Swerdlow und Skeet (1988) berichten über erhöhte Erkrankungsrisiken für Männer in Südostengland mit höherem sozioökonomischen Status. Besonders betroffene Berufsgruppen sind dieser Studie zufolge Manager und Verwaltungsangestellte, Verkäufer sowie Fach- und Büroangestellte. Zudem werden Männer in Elektroberufen als gefährdet beschrieben. Auch für Regionen des Staates Washington wurden ähnliche Berufsgruppen beschrieben, die einem erhöhten Erkrankungsrisiko ausgesetzt zu sein scheinen: Verwalter, Manager, Verkäufer, Seeleute und Elektriker (Van den Eeden et al. 1991). Auch in einer Untersuchung zum möglicherweise veränderten Erkrankungsrisiko durch die aktive Teilnahme am Golfkrieg bei Mitgliedern der Streitkräfte der Vereinigten Staaten von Amerika zeigte sich ein erhöhtes Risiko für Männer, die elektronische oder elektrische Reparaturen durchführten (Knoke et al. 1998). Für finnische Männer werden erhöhte Erkrankungsrisiken für Elektroingenieure beschrieben, daneben noch für Eisenbahnaufseher, Programmierer und Universitätsprofessoren (Guo et al. 2005). Eine von Swerdlow durchgeführte Studie erbrachte dagegen keinen Hinweis auf eine Risikoerhöhung für Elektriker (Swerdlow et al. 1991). In einer Studie zur Anerkennung von Berufsunfähigkeitsrenten bei Malern und Elektrikern in der Schweiz konnte kein Zusammenhang zwischen der Tätigkeit als Elektriker und dem Bezug einer Berufsunfähigkeitsrente aufgrund einer Hodenkrebskrankung gesehen werden (Gubéran et al. 1989). Die Erkrankungsdefinition anhand der Anerkennung des Versicherungsfalls ist besonders anfällig für Verzerrungseffekte und erscheint insbesondere im Bezug auf Hodenkrebskrankungen jedoch als ungeeignet.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Berichte über mögliche Erkrankungshäufungen bei Polizisten (Davis et Mostofi 1993, Finkelstein 1998) führten zu der Vermutung, dass die Anwendung von Radarpistolen und eine damit verbundene berufliche Exposition gegenüber hochfrequenten elektromagnetischen Feldern mit Hodentumorerkrankungen assoziiert sind. Weitere Studien führten jedoch zu uneinheitlichen Ergebnissen (Hardell et al. 1998, Hayes et al. 1990, Baumgardt-Elmset al. 2002). Einige Untersuchungen für weitere berufliche Expositionen gegenüber elektromagnetischen bzw. magnetischen Feldern deuten hingegen auf einen positiven Zusammenhang hin (Stenlund et Floderus 1997, Floderus et al. 1999), während andere keine Zusammenhänge fanden (Baumgardt-Elms et al. 2002). Im Hinblick auf Expositionen gegenüber elektromagnetischen Feldern infolge von Schweiß Tätigkeiten zeigten eine Kohortenstudie in Schweden und eine Fall-Kontroll-Studie in Frankreich keinen bzw. nur einen geringen möglichen Einfluss auf die Krankheitsentstehung (Håkansson et al. 2002, Walschaerts et al. 2007).

Als weitere physikalische Exposition am Arbeitsplatz wurde zudem die Einwirkung extremer Hitze untersucht. Hierbei zeigte sich in zwei Studien eine Assoziation zwischen Arbeiten an Hitzearbeitsplätzen und dem Auftreten von Hodentumorerkrankungen (Haughey et al. 1989, Zhang et al. 1995). Auch berufliche Expositionen gegenüber sehr niedrigen Temperaturen führten laut der zweiten Studie zu einer erhöhter Odds Ratio (OR).

In einer Fall-Kontroll-Studie aus Ontario zeigte sich neben anderen auch ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Beschäftigte der Lederverarbeitung (Knight et al. 1996). Dieses Ergebnis steht im Einklang zum Auftreten eines Mini-Clusters von Hodentumorerkrankungen in einer Ledergerberei in Fulton County, New York (Centers of Disease Control 1989). Im Rahmen der Untersuchungen zu diesen Erkrankungscluster wurden Informationen zu den Berufsbiographien der Erkrankten und zu den typischen Arbeitsabläufen in der Gerberei erhoben. Die drei Fälle waren in der Fertigungsendlinie beschäftigt und dabei verschiedenen Gefahrstoffen gegenüber exponiert, u.a. Glykolether und Dimethylformamid. Eine auf der Grundlage des Clusters durchgeführte Fall-Kontroll-Studie deutet ebenfalls auf ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Lederbearbeiter hin (Marshall et al. 1990).

Ein weiteres Cluster wurde in einer Reparaturwerkstatt für Oberflächenarbeiten und Arbeiten an elektrischen Anlagen von Kampfflugzeugen gefunden (Ducatman et al. 1986). Auch bei diesen Arbeiten wurde verbreitet Dimethylformamid verwendet. In einer weiteren Studie bei Angehörigen der Royal Navy wurden 110 Hodenkrebspatienten und 440 nicht erkrankte Kontrollpersonen im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie untersucht. Auch hier zeigten sich erhöhte Risikoschätzer für Tätigkeiten innerhalb des Truppenteils „Fleet Air Arm“, also dem Teil der Royal Navy der für den Betrieb von Flugzeugen an Bord der Schiffe zuständig ist (Ryder et al. 1997). In einer retrospektiven Kohortenstudie zur Mortalität bei Beschäftigten des Flugzeugbauunternehmens Lockheed Martin zeigte sich eine erhöhte Sterblichkeit an Hodenkrebs Erkrankungen im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung für Beschäftigte mit Expositionen gegenüber Lösemittelgemischen (Boice et al. 1999).

Weitere Hinweise auf ein erhöhtes Erkrankungsrisiko bestehen für Feuerwehrmänner (Stang et al. 2003). Auch eine entsprechende Meta-Analyse zu Krebsrisiken bei Feuerwehrmännern anhand 32 Studien kommt zu dem Ergebnis einer möglichen Risikoerhöhung (LeMasters 2006).

Bereits seit 1984 wird über Assoziationen zwischen landwirtschaftlicher Tätigkeit und dem Auftreten von Keimzelltumoren berichtet (Mills et al. 1984, Swerdlow und Skeet 1988, Wiklund et al. 1989, Van den Eeden 1991, Hardell 1998). Allerdings existieren ebenso Veröffentlichungen ohne erkennbaren Zusammenhang zwischen Hodentumorerkrankungen und einer landwirtschaftlichen Tätigkeit (Brown et Pottern 1984, Hayes 1990, Pollan et al. 2001). Als möglicher zugrundeliegender Risikofaktor einer etwaigen Assoziation zwischen einer

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

landwirtschaftlichen Tätigkeit werden sowohl Tierkontakt als auch der Umgang mit Pflanzenschutzmitteln, die zum Teil als endokrine Disruptoren klassifiziert werden, diskutiert.

Eine schwedische Studie zeigte in einer Untersuchung innerhalb der Papierindustrie erhöhte Erkrankungsrisiken für Mitarbeiter im Arbeitsbereich Instandhaltung (Andersson et al. 2003). Für Produktionsarbeiter an den Papiermühlen fanden sich hingegen keine erhöhten Risikoschätzer für Hodentumorerkrankungen. Die Risikoerhöhung für Instandhaltungsmitarbeiter wird auf die Tätigkeit mit dem Schwerpunkt Metallbearbeitung zurückgeführt. Bereits im Jahr 1995 berichtete Rhomberg über ein erhöhtes Hodentumorrisiko für Metallarbeiter in der Region Hannover (Rhomberg et al. 1995). Eine weitere schwedische register-basierte Studie zum Auftreten von männlichen Keimzelltumoren bestätigt eine Erhöhung des Erkrankungsrisikos für Metallarbeiter (Pollán et al. 2001). Und auch eine Fall-Kontroll-Studie, welche in den Jahren 2002 bis 2005 in Krankenhäusern fünf französischer Städte durchgeführt wurde, zeigt erhöhte Risikoschätzer für Beschäftigte in der Metallbearbeitung und insbesondere für Schweiß Tätigkeiten (Walschaerts et al. 2007).

Wie bereits angedeutet, wurde vielfach versucht, die gefundenen Ergebnisse für einzelne Berufsgruppen im Hinblick auf zugrunde liegende Expositionen zu interpretieren.

Infolge der Berichte über Hodentumorcluster in einer Ledergerberei und in der Flugzeugwartung, also in Berufsfeldern, in denen Dimethylformamid (DMF) regelmäßig zur Anwendung kam, wurde der Verdacht geäußert, dass Expositionen gegenüber DMF ein Risikofaktor für Hodentumorerkrankungen sein könnten. Nachfolgende Studien konnten dies jedoch nicht belegen (Walrath et al. 1989, Gollins 1991). Weder in der Lederbearbeitung noch bei der Flugzeugwartung kam DMF allein zu Anwendung. In Kombination mit DMF wurden u.a. Azofarbstoffe, aliphatische Diamine und Elastomere verwendet. Als mögliche Risikofaktoren kommen somit eine Vielzahl möglicher Substanzen in Frage.

In besonderem Interesse auch nicht-wissenschaftlicher Medien stehen bereits seit mehreren Jahren Substanzen, welche als endokrine Disruptoren bezeichnet werden. Diese Stoffe wirken aufgrund ihres chemischen Aufbaus auf das hormonelle System verschiedener Organismen, auch des Menschen, ein. Dabei sind verschiedene Wirkungsmechanismen beschrieben: hormonähnliche Wirkungen (östrogen, androgen), Blockierung von Hormonwirkungen (antiöstrogen, antiandrogen), z.B. durch eine blockierende Bindung am Hormonrezeptor, und indirekte Wirkungen, z.B. über einen veränderten Hormonabbau. Die Liste der bisher identifizierten endokrin wirksamen Chemikalien ist lang. Einen Überblick über die Thematik und bereits identifizierte Substanzen bietet u.a. eine Informationsschrift vom Bayerischen Landesamt für Umwelt (Bayerisches Landesamt für Umwelt 2008). Wie bereits oben beschrieben, wird den endokrin disruptorischen Chemikalien (EDC) eine zentrale Rolle bei der Verursachung des TDS zugesprochen (Bay et al. 2006, Joensen et al. 2008).

Expositionen gegenüber endokrinen Disruptoren treten in verschiedenen Lebensbereichen auf, zum Beispiel bei der Verwendung von Kosmetika, der Einnahme von Medikamenten, und bei der Nutzung von Arbeitsmaterialien. Die Aufnahme von endokrinen Disruptoren in den Körper kann dabei sowohl über die Haut, als auch über die Atemwege oder den Mund erfolgen. Die Abschätzung der z.B. täglich aufgenommenen Menge eines oder mehrerer endokriner Disruptoren ist daher sehr schwierig.

Bisphenol A wird als bedeutende Industriechemikalie u.a. bei der Herstellung von Polycarbonaten und Epoxidharzen genutzt. Infolge vielfältiger Aufnahmemöglichkeiten ist Bisphenol A in menschlichem Gewebe nachweisbar und führt zu biologischen Effekten (Welshons et al. 2006). Bisphenol A besitzt endokrin disruptorische Wirkungen. Es wirkt einerseits östrogenartig direkt am Östrogenrezeptor. Darüber hinaus wirkt Bisphenol A auch als Rezeptormodulator. Die Wirkung erfolgt bereits in sehr geringen Konzentrationen (Welshons et

al. 2006). Studien zum Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber Bisphenol A und dem Auftreten von männlichen Keimzelltumoren beim Menschen liegen bisher nicht vor.

1997 beschrieb Hardell die berufliche Exposition gegenüber PVC als einen potentiellen Risikofaktor in einer Fall-Kontroll-Studie (Hardell et al. 1997). In einer nachfolgenden Fall-Kontroll-Studie konnte der beschriebene Zusammenhang jedoch nicht mehr eindeutig nachvollzogen werden (Hardell et al. 2004). Inwieweit PVC als möglicher Risikofaktor in diesen Studien zu bewerten ist oder ob andere den PVC-Produkten zugefügte Stoffe wie Bisphenol A oder Phthalate als Risikofaktoren zu diskutieren sind, bleibt deshalb unklar (Ohlson et Hardell 2000).

Die u.a. als Weichmacher in Plastikprodukten verwendeten Phthalate gelten ebenfalls als endokrine Disruptoren mit anti-androgener Wirkung. Für einzelne Vertreter dieser Stoffgruppe wurden im Tierversuch Fehlbildungen männlicher Geschlechtsorgane nach intra-uteriner Exposition beschrieben. Diese Fehlbildungen entsprechen dabei den beim Menschen als TDS bezeichneten Veränderungen (Fisher 2004). Epidemiologische Studien, die einen direkten Zusammenhang zwischen Expositionen gegenüber einzelnen Phthalaten und dem Auftreten von Hodentumorerkrankungen beim Menschen untersuchen, liegen bisher nicht vor.

Auch einige Pflanzenschutzmittel wie das in der Anwendung früher weit verbreitete DDT besitzen endokrin disruptorische Wirkung. Dabei besitzt DDT eine östrogen-artige Wirkung und sein Abbauprodukt p,p-DDE eine antiandrogene Wirkung (Kelce et al. 1995). Eine jüngst veröffentlichte Fall-Kontroll-Studie zeigt einen Zusammenhang zwischen gemessenen Serum-Spiegeln für p,p-DDE und für zwei Bestandteile von Chlordan, einem früher insbesondere in den USA verwendeten Insektizid, und dem Auftreten von männlichen Keimzelltumoren (McGlynn et al. 2008). Dieses Ergebnis stimmt überein mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für lizenzierte Pestizidanwender in Schweden, welches bereits 1989 beschrieben wurde (Wiklund et al. 1989). Für Pestizidanwender in Kalifornien wurde ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Anwender von Atrazin beschrieben (Mills 1998).

Über eine seit mehreren Jahren für andere Tumorerkrankungen (Brustkrebs, Prostatakrebs und Dickdarmkrebs) diskutierte Beziehung zu Nachtschichtarbeit (Kolstad 2008), wurde in Bezug auf männlichen Keimzelltumoren bisher nur in einer tschechischen Studie berichtet. Dabei fand sich in dieser Fall-Kontroll-Studie eine erhöhte Odds Ratio für Personen, die angegeben hatten, vor dem Diagnosezeitpunkt über einen Zeitraum von mindestens drei Jahre regelmäßig in Nachtschicht tätig gewesen zu sein (Dusek et al. 2008).

1.3.4 Literaturverzeichnis

Andersson, E., Nilsson, R., Toren, K. (2003): Testicular cancer among Swedish pulp and paper workers. *Am J Ind Med* 43: 642 – 646.

Aschim, E.L., Grotmol, T., Tretli, S., Haugen, T.B. (2005): Is there an association between maternal weight and the risk of testicular cancer? An epidemiologic study of Norwegian data with emphasis on World War II. *Int J Cancer* 116: 327 – 330.

Baumgardt-Elms, C., Ahrens, W., Broman, K., Boikat, U., Stang, A., Jahn, I., Stegmaier, C., Jöckel, K.H. (2002): Testicular cancer and electromagnetic fields (EMF) in the workplace: results of a population-based case-control study in Germany. *Cancer Causes Control* 13: 895 – 902.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Baumgardt-Elms, C., Schümann, M., Ahrens, W., Broman, K., Stang, A., Jahn, I., Stegmaier, C., Jöckel, K.H. (2005): Residential exposure to overhead high-voltage lines and the risk to testicular cancer: results of a population-based case-control study in Hamburg (Germany). *Int Arch Occup Environ Health* 78: 20 – 26.

Bay, K., Asklund, C., Skakkebaek, N.E., Andersson, A.M. (2006): Testicular dysgenesis syndrome: possible role of endocrine disruptors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 20: 77 – 90.

Bayerisches Landesamt für Umwelt (HRSG.) (2008): Umweltwissen-Umweltchemikalien mit hormoneller Wirkung. Unter <http://www.lfu.bayern.de/umweltwissen/index.htm>

Behrens, T., Pesch, B., Peplies, J., Taeger, D., Gottlieb, A., Brüning, T., Ahrens, W. (2006): Epidemiologie der Keimzelltumoren des Hodens. *Umweltmed Forsch Prax* 11: 142 – 156.

Bergström, R., Adami, H.-O., Möhner, M., Zatonski, W., Storm, H., Ekbom, A., Tretli, S., Teppo, L., Akre, O., Hakulinen, T. (1996): Increase in testicular cancer incidence in six european countries: a birth cohort phenomenon. *Journal Natl Cancer Inst* 88: 727 – 733.

Boice, J.D., Marano, D.E., Fryzek, J.P., Sadler, C.J., McLaughlin, J.K. (1999): Mortality among aircraft manufacturing workers. *Occup Environ Med* 56: 581 – 597.

Bray, F., Richardi, L., Ekbom, An., Forman, D., Pukkala, E., Cuninkova, M., Moller, H. (2006): Do testicular seminoma and nonseminoma share the same etiology? Evidence from age-period-cohort analysis of incidence trends in eight european countries. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15: 652 – 658.

Brown, L.M., Pottern, L.M. (1984): Testicular cancer and farming. *Lancet* 1: 1356.

Brown, LM., Pottern, L.M., Hoover, R.N. (1987): Testicular cancer in young men: the search for causes of the epidemic increase in the United States. *J Eoidemiol Commun Health* 41: 349 – 354.

Davis R.L., Mostofi, F.K. (1993): Cluster of testicular cancer in police officers exposed to hand-held radar. *Am J Ind Med* 24: 231 – 233.

Dieckmann, K.P., Pichlmeier, U. (2004): Clinical epidemiology of testicular germ cell tumors. *World J Urol* 22: 2 – 14.

Dieckmann, K.P., Hartmann, J.T., Classen, J., Lüdde, R., Diederichs, M., Pichlmeier, U., German Testicular Cancer Study Group (2008): Tallness is associated with the risk of testicular cancer: evidence for the nutrition hypothesis. *Br J Cancer* 99: 1517 – 1521.

Ducatman, A.M., Conwill, D.E., Crawl, J. (1986): Germ cell tumors of the testicle among aircraft repairmen. *J Urol* 136: 834 – 836.

Dusek, L., Abrahamova, J., Lakomy, R., Vyzula, R., Koptikova, J., Pavlik, T., Muzik, J., Klimes, D. (2008): Multivariate analysis of risk factors for testicular cancer: a hospital-based case-control study in the Czech Republic. *Neoplasma* 55: 356 – 368.

Ekbom, A., Richardi, L., Akre, O., Montgomery, S.M., Sparen, P. (2003): Age at immigration and duration of stay in relation to risk for testicular cancer among Finnish immigrants in Sweden. *J Natl Cancer Inst* 95: 1238 – 1240.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Finkelstein, M.M. (1998): Cancer incidence among Ontario police officers. *Am J Ind Med* 34: 157 -162.

Fisher, J.S. (2004): Environmental anti-androgens and male reproductive health: focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome. *Reproduction* 127: 305 – 315.

Floderus, B., Stenlund, C., Persson, T. (1999): Occupational magnetic field exposure and site-specific cancer incidence: a Swedish cohort study. *Cancer Causes Control* 10: 323 – 332.

Gallagher, R.P., Huchcroft, S., Phillips, N., Hill, G.B., Coldman, A.J., Coppin, C., Lee, T. (1995): Physical activity, medical history, and risk of testicular cancer (Alberta and British Columbia, Canada). *Cancer Causes Control* 6: 398 – 406.

Garner, M.J., Turner, M.C., Ghardirian, P., Krewski, D. (2005): Epidemiology of testicular cancer: an overview. *Int J Cancer* 116: 331 – 339.

Gollins, W.J.F. (1991): Dimethylformamide and testicular cancer. *Lancet* 337: 307.

Guberan, E., Usel, M., Raymond, L., Tissot, R., Sweetnam, P.M. (1989): Disability, mortality, and incidence of cancer among Geneva painters and electricians: a historical prospective study. *Br J Ind Med* 46: 16 – 23.

Guo, J., Pukkala, E., Kyrrönen, P., Lindbohm, M.L., Heikkilä, P., Kauppinen, T. (2005): Testicular cancer, occupation and exposure to chemical agents among Finnish men in 1971 – 1995. *Cancer Causes Control* 16: 97 – 103.

Hakansson, N., Floderus, B., Gustavsson, P., Johansen, C., Olson, J.H. (2002): Cancer incidence and magnetic field exposure in industries using resistance welding in Sweden. *Occup Environ Med* 59: 481 – 486.

Hardell, L., Malmquist, N., Ohlson, C.G., Westberg, H., Eriksson, M. (2004): Testicular cancer and occupational exposure to polyvinyl chloride plastics: a case-control study. *Int J Cancer* 109: 425 – 429.

Hardell, L., Näsman A., Ohlson, C.G., Fredrikson, M. (1998): Case-control study on risk factors for testicular cancer. *Int J Oncol* 13: 1299 – 1303.

Hardell, L., Näsman, A., Ohlson, C.G., Fredrikson, M. (1998): Case-control study on risk factors for testicular cancer. *Int J Oncol* 13: 1299 – 1303.

Hardell, L., Ohlson, C.G., Fredrikson, M. (1997): Occupational exposure to polyvinyl chloride as a risk factor for testicular cancer evaluated in a case-control study. *Int J Cancer* 73: 828 – 830.

Haughey, B.P., Graham, S., Brasure, J., Zielezny, M., Sufrin, G., Burnett, W.S. (1989): The epidemiology of testicular cancer in upstate New York. *Am J Epidemiol* 130: 25 – 36.

Hayes, R.B., Brown, L.M., Pottern, L.M., Gomez, M., Kardaun J.W.P.F., Hoover, R.N., O'Connell, K.J., Sutzman, R.E., Javadpour, N. (1990): Occupation and risk for testicular cancer: a case-control study. *Int J Epi* 19: 825 – 831.

Joensen, U.N., Jorgensen, N., Rajpert-DeMeyts, E., Skakkebaek, N.E. (2008): Testicular dysgenesis syndrome and Leydig cell function. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 102: 155 – 161.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

- Kelce, W.R., Stone, C.R., Laws, S.C., Gray, L.E., Kemppainen, J.A., Wilson, E.M. (1995); Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 375: 581 – 585.
- Knight, J.A., Marrett, L.D., Weir, H.K. (1996): Occupation and risk of germ cell testicular cancer by histologic type in Ontario. *JOEM* 38: 884 – 890.
- Centers of Disease Control (1989): Epidemiologic notes and reports testicular cancer in leather workers—Fulton County, New York. *MMWR* 38: 105 – 114.
- Knoke, J.D., Gray, G.C., Garland, F.C. (1998): Testicular cancer and persian gulf war service. *Epidemiology* 9: 648 – 653.
- Kolstad, H.A. (2008): Nightshift work and risk of breast cancer and other cancers – a critical review of the epidemiologic evidence. *Scand J Work Environ Health* 34: 5 – 22.
- Krebs in Deutschland 2003- 2004. Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage. Robert-Koch-Institut (Hrsg.) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg.) Berlin , 2008.
- LeMasters, G.K., Genaidy, A.M., Succop, P., Deddens, J., Sobeih, T., Barriera-Viruet, H., Dunning, K., Lockey, J. (2006): Cancer risk among firefighters: a review and meta-analysis of 32 studies. *JOEM* 48: 1189 – 1202.
- Marshall, E.G., Melius, J.M., London, M.A., Nasca, P.C., Burnett, W.S. (1990): Investigation of a testicular cancer cluster using a case-control approach. *Int J Epidemiol* 19: 269 – 273.
- McDowell, M.E., Balarajan, R. (1986): Testicular cancer mortality in England and Wales 1971 – 80: variations by occupation. *J Epidemiol Commun Health* 40: 26 – 29.
- Merzenich, H., Ahrens, W., Stang, A., Baumgardt-Elms, C., Jahn, I., Stegmaier, C., Jöckel, K.H. (2000): Sorting the hype from the facts in testicular cancer: is testicular cancer related to trauma? *J Urol* 164: 2143 – 2144.
- Mills, P.K. (1998): Correlation analysis of pesticide use data and cancer incidence rates in California counties. *Arch Environ Health* 53: 410 – 413.
- Mills, P.K., Newell, G.R., Johnson, D.E. (1984): Testicular cancer associated with employment in agriculture and oil and natural gas extraction. *Lancet* 1: 207 – 210.
- Moller, H., Skakkebaek, N.E. (1997): Testicular cancer and cryptorchidism in relation to prenatal factors: case-control studies in Denmark. *Cancer Causes Control* 8: 904 – 912.
- My Glynn, K.A., Quraishi, S., Graubard, B.I., Weber, J.P., Rubertone, M.V., Erickson, R.L. (2008): Persistent organochlorine pesticides and risk of testicular germ cell tumors. *J Natl Cancer Inst* 100: 663 – 671.
- Ohlson, C.G., Hardell, L. (2000): Testicular cancer and occupational exposures with a focus on xenoestrogens in polyvinyl chloride plastics. *Chemosphere* 40: 1277 – 1282.
- Pollan, M., Gustavsson, P., Cano, M.I. (2001): Incidence of testicular cancer and occupation among Swedish men gainfully employed in 1970. *Ann Epidemiol* 11: 554 – 562.
- Rapley, E. (2007): Susceptibility alleles for testicular germ cell tumour: a review. *Int J Androl* 30: 242 – 250.

Rhomberg, W., Schmoll, H.J., Schneider, B. (1995): High frequency of metalworkers among patients with seminomatous tumors of the testis: a case-control study. *Am J Ind med* 28: 79 – 87.

Richardi, L., Bellocco, R., Adami, H.-O., Torrang, A., Barlow, L., Hakulinen, T., Rahu, M., Stengrevics, A., Storm, H., Tretli, S., Kurtinaitis, J., Tyczynski, J.E., Akre, O. (2004): Testicular cancer incidence in eight northern european countries: secular and recent trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13: 2157 – 2166.

Ryder, S.J., Crawford, P.I., Pethybridge, R.J. (1997): Is testicular cancer an occupational disease? A case-control study of Royal Naval personnel. *J R NAv Med Serv* 83: 130 – 146.

Shimakage, M., Oka, T., Shinka, T., Kurata, A., Sasagawa, T., Yutsudo, M. (1996): Involvement of Epstein-Barr virus expression in testicular tumors. *J Urol* 156: 253 – 257.

Sonke, G.S., Chang, S., Strom, S.S., Sweeney, A.M., Annegers, J.F., Sigurdson, A.J. (2007): Prenatal and perinatal risk factors and testicular cancer: a hospital-based case-control study. *Oncol Res* 16: 383 – 387.

Sonne S.B., Kristensen, D.M., Novotny, G.W., Ahlmann Olesen, I., Nielsen, J.E., Skakkebaek, N.E., Rajpert-De MEyts, E., Leffers, H. (2008): Testicular dysgenesis syndrome and the origin of carcinoma in situ testis. *Int J Androl* 31: 275 – 287.

Srivastava, A., Kreiger, N. (2000): Relation of physical activity to risk of testicular cancer. *Am J Epidemiol* 151: 78 – 87.

Stang, A., Ahrens, W., Baumgardt-Elms, C., Stegmaier, C., Merzenich, H., de Vrese, M., Schrezenmeir, J., Jöckel, K.H. (2006): Adolescent milk fat and galactose consumption and testicular germ cell cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15: 2189 – 2195.

Stang, A., Jöckel, K.H., Baumgardt-Elms, C., Ahrens, W. (2003): Firefighting and risk of testicular cancer: results from a German population-based case-control study. *Am J Ind Med* 43: 291 – 294.

Stenlund, C., Floderus, B. (1997): Occupational exposure to magnetic fields in relation to male breast cancer and testicular cancer: a Swedish case-control study. *Cancer Causes Control* 8: 184 – 191.

Strohsnitter, W.C., Noller, K.L., Hoover, R.N., Robboy, S.J., Palmer, J.R., Titus-Ernstoff, L., Kaufman, R.H., Adam, E., Herbst, A.L., Hatch, E.E. (2001): Cancer risk in men exposed in utero to diethylstilbestrol. *J Natl Cancer Inst* 93: 545 – 551.

Swerdlow, A.J., Douglas, A.J., Huttly, S.R.A., Smith, P.G. (1991): Cancer of testis, socioeconomic status, and occupation. *Br J Ind Med* 48: 670 – 674.

Swerdlow, A.J., Huttly, S.R., Smith, P.G. (1987): Prenatal and familial associations of testicular cancer. *Br J Cancer* 55: 571 – 575.

Swerdlow, A.J., Huttly, S.R., Smith, P.G. (1987): Testicular cancer and antecedent diseases. *Br J Cancer* 55: 97 – 103.

Swerdlow, A.J., Skeet, R.G. (1988): Occupational associations of testicular cancer in south east England. *Br J Ind Med* 45: 225 -230.

United Kingdom Testicular Cancer Study Group (1994): Social, behavioural and medical factors in the aetiology of testicular cancer: results from the UK study. *Br J Cancer* 70: 513 – 520.

Van den Eeden, S.K., Weiss, N.S., Strader, C.H., Daling, J.R. (1991): Occupation and the occurrence of testicular cancer. *Am J Ind Med* 19: 327 – 337.

Verkasalo, P.K., Pukkala, E., Kaprio, J., Heikkilä, K.V., Koskenvuo, M. (1996): Magnetic fields of high voltage power lines and risk of cancer in Finnish adults: nationwide cohort study. *BMJ* 313: 1047 – 1051.

Verreault, R., Weiss, N.S., Hollenbach, K.A., Strader, C.H., Daling, J.R. (1990): Use of electric blankets and risk of testicular cancer. *Am J Epidemiol* 131: 759 – 762.

Walrath, J., Fayerweather, W.E., Gilby, P.G., Pell, S. (1989): A case-control study of cancer among du pont employees with potential for exposure to dimethylformamide. *J Occup Med* 31: 432 – 438.

Walschaerts, M., Muller, A., Auger, J., Bujan, L., Guerin, J.F., Le Lannou, D., Clavert, A., Spira, A., Jouannet, P., Thonneau, P. (2007) : Environmental, occupational and familial risks for testicular cancer: a hospital-based case-control study. *Int J Androl* 30: 222 – 229.

Weir, H.K., Marrett, L.D., Kreiger, N., Darlington, G.A., Sugar, L. (2000): Pre-natal and peri-natal exposures and risk of testicular germ-cell cancer. *Int J Cancer* 87: 438 – 443.

Welshons, W.V., Nagel, S.C., vom Saal, F.S. (2006): Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of Bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology* 147: S56 – S69.

Wiklund, K., Dich, J., Holm, L.E., Eklund, G. (1989): Risk of cancer in pesticide applicators in Swedish agriculture. *Br J Ind Med* 46: 809 -814.

Wittekind, C., Neid, M. (2003): Hodentumoren, *Der Onkologe* 9: 937 – 942.

Zhang, Y., Graubar, B.I., Klebanoff, M.A., Ronckers, C., Stanczyk, F.Z., Longnecker, M.P., McGlynn, K.A. (2005): Maternal hormone levels among populations at high and low risk of testicular germ cell cancer. *Br J Cancer* 92: 1787 – 1793.

Zhang, Z.F., Vena, J.E., Zielezny, M., Graham, S., Haughey, B.P., Brasure, J., Marshall, J.R. (1995): Occupational exposure to extreme temperature and risk of testicular cancer. *Arch Environ Health* 50: 13 – 18.

2 Material und Methoden

2.1 Studienpopulation

2.1.1 Fallrekrutierung: Diagnosesicherung bekannter Verdachtsfälle, Ermittlung neuer Fälle

Grundlage der Fallrekrutierung waren die von der Betriebskrankenkasse (BKK) gemeldeten Hodentumorph Patienten der Jahre 1989 - 2002. Diese waren in 36 verschiedenen Kliniken behandelt worden. In einer nachgehenden Datenerhebung in diesen 36 Kliniken, 2 weiteren Großkliniken im Einzugsbereich der Werke sowie sechs Tumornachsorgeleitstellen, die die gesamte Studienregion abdecken, wurde die Diagnosesicherung durchgeführt. Gleichzeitig wurden in diesen Institutionen weitere bisher nicht bekannte Fälle aus der Kohorte der Kfz-Arbeiter identifiziert und deren Diagnosen ebenfalls gesichert.

Die Diagnosesicherung führte zu folgenden Ergebnissen (Tabelle 2-1):

Tabelle 2-1: Ergebnis der Diagnosesicherung

Ergebnis der Diagnosesicherung	Anzahl
Gesicherte Fälle	292
Verdachtsfälle (vermuteter Keimzelltumor nicht dokumentiert oder vorläufige Diagnose)	16
Gesamt	308

Die 308 identifizierten möglichen Fälle wurden im Folgenden hinsichtlich der Erfüllung weiterer Einschlusskriterien überprüft. Im weiteren Studienverlauf wurde außerdem bei den Verdachtsfällen die Diagnosesicherung weitergeführt. Kap. 2.1.2.1 beschreibt das Vorgehen.

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

2.1.2.1 Tumorpatienten

Tumorpatienten im Sinne der Studie waren alle Personen, bei denen ein histologisch gesicherter Keimzelltumor dokumentiert war. Als ausreichende Dokumentation des Befundes „Keimzelltumor“ galt entweder das Vorliegen des pathologisch-anatomischen Gutachtens, des Arztbriefes oder der vom behandelnden Arzt ausgefüllten Meldung an die Tumor-Nachsorgeleitstelle.

In die Studie wurden zusätzlich zunächst auch alle Verdachtsfälle von Hodentumoren aufgenommen (s. Tabelle 2-1). Alle Personen, bei denen entweder ein vermuteter Keimzelltumor nicht entsprechend dokumentiert war oder bei denen lediglich eine vorläufige Keimzelltumordiagnose vorlag, galten als Verdachtsfälle. Die zur Diagnosesicherung ausstehenden Unterlagen wurden nach dem Interview von den behandelnden Kliniken bzw. den behandelnden niedergelassenen Ärzten angefordert.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tumorpatienten, die folgende Kriterien erfüllen, wurden vorläufig in die Studie eingeschlossen:

- Verdachtsdiagnose Keimzelltumor im Zeitraum Januar 1989 – Dezember 2006
- Diagnose des Keimzelltumors nach Werkseintritt
- Männliche Beschäftigte oder ehemalige Beschäftigte in einem von sechs deutschen Betriebs-Standorten zwischen 1.1.1989 und 31.12.2002. Ein Tumorpatient muss zum Zeitpunkt der Erkrankung kumulativ für mindestens 6 Monate beschäftigt gewesen sein.
- Ausreichende deutsche Sprachkenntnisse für ein persönliches Interview.

Über den endgültigen Einschluss in die Auswertung wurde erst nach Abschluss der Diagnosesicherung entschieden. Eingeschlossen wurden Keimzelltumoren des Hodens oder anderer Lokalisation nach ICD-9: 186.-, ICD-10: C62, C48, C76, C80 und ICD-O (1990): 9060-9104.

16 der 308 identifizierten Fälle wurden nicht als Tumorpatienten in die Fall-Kontroll-Studie einbezogen, weil sie nur kurzfristig beschäftigt waren. Somit erfüllten 292 Tumorpatienten die Einschlusskriterien.

2.1.2.2 Kontrollen

Als Kontrollen konnten Personen ausgewählt werden, auf die folgende Kriterien zutrafen:

- Männliche Beschäftigte oder ehemalige Beschäftigte in einem von sechs deutschen Betriebs-Standorten. Beschäftigung zwischen 01.01.1989 und 31.12.2002 für mindestens 6 Monate zum Zeitpunkt der Erkrankung des zugehörigen Tumorpatienten
- Geburtsjahr der Kontrollperson ist Geburtsjahr des zugehörigen Tumorpatienten ± 2 Jahre (Matchingkriterium)
- Ausreichende deutsche Sprachkenntnisse für ein persönliches Interview
- Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung des zugehörigen Tumorpatienten lebend und nicht an einem Keimzelltumor erkrankt.

Für die Auswahl potentieller Kontrollpersonen wurde vom Kfz-Hersteller eine pseudonymisierte Datei aller männlichen Mitarbeiter des Beschäftigungszeitraums 01.01.1989-31.12.2002 (Beschäftigtendatei) zur Verfügung gestellt.

Für jeden für die Studie geeigneten Tumorpatienten wurden innerhalb dieser Datei entsprechend dem nachfolgend beschriebenen Matchingverfahren 10 potentielle Kontrollpersonen ausgewählt. Zur Kontaktaufnahme mit den Kontrollpersonen wurden für die ausgewählten Probanden die Identifikationsnummern (Stammnummer) an den Kfz-Hersteller übermittelt (s. 2.1.4.1).

2.1.3 Matchingverfahren

Das Matchingverfahren erfolgte nach dem Prinzip des Incidence-Density-Samplings, d.h. jede Person konnte einem Fall zugeordnet werden, wenn sie zum Zeitpunkt der Diagnose des Falles noch nicht erkrankt war und die Einschlusskriterien erfüllt waren.

Es wurde angestrebt, jedem Tumorpatienten fünf Kontrollen zuzuordnen. Matchingkriterium war das Geburtsjahr des Tumorpatienten ± 2 Jahre. Auf ein Matching für Einstellungsjahr bzw.

Werksstandort wurde verzichtet, um nicht indirekt für eine der untersuchten Expositionen innerhalb des Werkes bzw. für regionale (außerberufliche) Expositionen zu kontrollieren.

Vorgehen: Für jeden einzelnen Tumorpatienten (Fall) wurde aus der Beschäftigendatei (siehe Kapitel 2.1.2.2) eine Vorauswahl aller Personen gebildet, die die Einschlusskriterien und bezogen auf den einzelnen Fall das Matchingkriterien erfüllten. Diese bildeten das sog. Riskset. Jeder Kontrollperson aus einem einzelnen Riskset wurde eine Zufallszahl zugeordnet. Alle Personen des Risksets wurden dann nach dieser Zufallszahl sortiert und aus diesem sortierten Riskset die ersten zehn Kontrollpersonen ausgewählt.

Jeder Tumorpatient und die über das Matchingverfahren zugeordneten Kontrollpersonen bildeten ein sog. Matched Set. Der Zeitpunkt der Diagnosestellung des das Riskset definierenden Tumorpatienten bildete das Indexdatum für die Kontrollpersonen in dem jeweiligen Matched Set. Für die Analyse wurde die expositionsrelevante Berufshistorie bei den Kontrollen zum Indexdatum und bei den Fällen zum Diagnosedatum rechts trunkiert.

2.1.4 Probandenansprache

Die Ansprache der Tumorpatienten erfolgte über den Gewerbeärztlichen Dienst Niedersachsen, Frau Dr. Gephart. Die Ansprache der Kontrollpersonen erfolgte über den Gesundheitsdienst des Betriebes. Waren Studienteilnehmer inzwischen verstorben oder nicht in der Lage, ein Interview zu geben, wurde versucht, ein Angehörigen-Interview zu führen.

Für die standardisierte Probandenansprache und Dokumentation aller Kontaktversuche wurden erprobte Arbeitsmodule einer Access-Datenbank-Applikation, die so genannte Terminverwaltung (TV) des BIPS, an den Gewerbeärztlichen Dienst und den Betrieb übergeben.

Für die Studie wurden standardisierte Anschreiben entwickelt, die eine Einverständniserklärung zur Studienteilnahme beinhalteten. Diese wurden von den Studienteilnehmern direkt an das BIPS zurückgesandt.

2.1.4.1 Kontaktaufnahme Tumorpatienten

Durch die Inzidenzstudie waren Namen und Adressen der Tumorpatienten bekannt. Die Kontaktaufnahme erfolgte grundsätzlich durch den Gewerbeärztlichen Dienst Niedersachsen. Als Ausnahme wurden Patienten einer Klinik direkt von den behandelnden Ärzten angesprochen. Der Kontaktaufnahme ging ein Adress-Follow-up voraus. Bei verstorbenen Tumorpatienten wurde versucht, über Einwohnermelde- bzw. Standesämter einen Angehörigen (Ehefrau, Kinder, andere Angehörige) zu ermitteln. Der Ablauf der Ansprache ist in Abschnitt 2.1.4.3 dargestellt.

2.1.4.2 Kontaktaufnahme Kontrollpersonen

Im Matchingverfahren wurden 1424 Kontrollpersonen identifiziert. Für eventuelle Ausfälle und Absagen wurde eine Reserve von 1435 Personen gezogen, so dass 2859 Personen als potentielle Studienteilnehmer ausgewählt wurden. Für diese wurde zunächst ein Adress-Follow-up durchgeführt. Bei verstorbenen Kontrollpersonen wurde versucht, über Einwohnermeldeämter einen Angehörigen (Ehefrau, Kinder, andere Angehörige) zu ermitteln. Da zwischen erstem Anschreiben und Terminvereinbarung ein Zeitraum von mehreren Monaten vergehen kann,

wurde festgelegt, dass nach dem 31.03.2008 keine Adressrecherche mehr stattfand und keine Erstanschreiben mehr verschickt wurden, um den Zeitplan einhalten zu können.

Der Ablauf der Kontaktaufnahme zu Kontrollpersonen entsprach dem der Tumorpatienten und ist in Abschnitt 2.1.4.3 beschrieben. Nachdem das BIPS die zu kontaktierenden Kontrollpersonen ausgewählt hatte, wurden die entsprechenden Identifikations-Nummern (Stammnummer) an den Kfz-Hersteller übermittelt. Die Adressrecherche und die Ansprache der Kontrollpersonen wurden dann von Seiten des Betriebes durchgeführt.

Zur Qualitätssicherung und Ablaufsteuerung der beschriebenen Aufgaben fanden regelmäßige Besuche von Seiten des BIPS und Telefonkonferenzen zwischen dem Betrieb und dem BIPS statt (s. Kap. 2.6.1).

2.1.4.3 Verlauf der Probandenansprache

Für Tumorpatienten und Kontrollpersonen wurde ein vierstufiges Verfahren zur Ansprache umgesetzt:

- **1. Anschreiben:** machte auf die Studie aufmerksam, erläuterte Sinn und Zweck der Studie, erbat Einverständnis zur Studienteilnahme
- **2. Anschreiben (Erinnerung):** erläuterte Sinn und Zweck der Studie, erbat Einverständnis zur Studienteilnahme
- **telefonische Erinnerung** bzw. bei Probanden ohne Telefon
3. Anschreiben (Erinnerung):
Die telefonische Kontaktaufnahme erfolgte an unterschiedlichen Wochentagen und zu unterschiedlichen Zeiten, in mindestens 10 Kontaktversuchen. Die schriftliche Erinnerung enthielt neben dem Anschreiben und dem Formular für die Einverständniserklärung einen so genannten Non-Responder-Fragebogen, der einige grundlegende demographische Parameter enthielt, um später Angaben über mögliche Selektionseffekte machen zu können (s. Kap. 2.1.5).
- **4. Anschreiben (Erinnerung):** erläuterte kurz Sinn und Zweck der Studie, erbat Einverständnis zur Studienteilnahme, enthielt den Non-Responder-Fragebogen.

Zwischen den einzelnen Schritten der Kontaktaufnahme lagen feste Zeitintervalle. Nach Ablauf eines Intervalls von 14 Tagen ohne Rückmeldung durch die kontaktierte Person erfolgt der nächste Schritt.

Die Telefonnummernrecherchen erfolgten über www.telefonbuch.de. Waren Personen dort nicht registriert, wurden ältere Telefonverzeichnisse (D-Info 1997) genutzt. Auf diese Weise wurde die Möglichkeit genutzt, Telefonnummern von Personen, die nicht verzogen waren, aber inzwischen keinen Telefonbucheintrag mehr hatten, zu ermitteln. Für die Telefonnummernrecherche der Kontrollpersonen wurden außerdem betriebsinterne Telefonverzeichnisse genutzt.

Ursprünglich geplante Hausbesuche bei Probanden, die in den ersten 3 Stufen nicht erreicht werden konnten, wurden auf Wunsch des Betriebes nicht durchgeführt.

Bei einer expliziten Absage wurde der Proband nicht weiter kontaktiert und wurde damit als Studienteilnehmer ausgeschlossen.

2.1.5 Response

Das mehrstufige Anspracheverfahren diente der Responseoptimierung. Die Berechnung der Response erfolgte auf Basis der Daten der Terminverwaltungen von Gewerbeärztlichem Dienst, Betrieb und BIPS. Für die Studie wurden 292 Tumorpatienten und 2859 Kontrollpersonen als potentielle Studienteilnehmer identifiziert. Durch Ausfälle vor Erstkontakt sowie Nichtansprache von 526 Reserveprobanden verblieben 289 Tumorpatienten sowie 2203 Kontrollpersonen, die für eine Studienteilnahme kontaktiert wurden. Nach erfolgtem Interview wurden 11 Tumorpatienten und 72 Kontrollpersonen aus den Analysen ausgeschlossen, weil sie die Einschlusskriterien nachträglich nicht erfüllten oder ein Interview mit einer Kontrollperson letztlich keinem Tumorpatienten zugeordnet werden konnte. Bereinigt um diese Zahlen wurden somit 278 Tumorpatienten und 2131 Kontrollpersonen als relevante Studienteilnehmer berücksichtigt. Von diesen waren 205 Tumorpatienten (73,7%) und 1091 Kontrollpersonen (51,3%) mit einer Studienteilnahme einverstanden, während 73 Tumorpatienten (26,3%) und 1040 Kontrollpersonen (48,7%) nicht teilnahmen. Tabelle 2-2 gibt einen Überblick über die Responseproportionen.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 2-2: Responseproportionen

	Tumor- Patienten N	Tumor- Patienten %	Kontroll- Personen N	Kontroll- Personen %
Identifiziert (brutto)	292		2859	
Ausfälle vor Erstkontakt				
Verstorben	0		28	
Unbekannt verzogen	3		96	
Adressrecherche bis 31.3.08 nicht abgeschlossen	0		6	
Nicht kontaktierte Reserve-Personen	0		526	
Gesamt kontaktiertes N	289		2203	
Ausschlüsse nach Interview aufgrund:				
Verdachtsdiagnose nicht bestätigt	4		-	
Diagnose vor Werkseintritt	2		-	
Beschäftigung <6 Monate	5		69	
Deutsche Sprachkenntnisse unzureichend	0		2	
Keinem Fall zuzuordnen	-		1	
Bereinigtes N	278	100	2131	100
Verwertbare Interviews	205	73,7	1091	51,3
Ausfälle/Absagen nach Kontaktaufnahme				
Teilnahme nicht möglich*	2	0,7	59	2,8
Im Erhebungszeitraum nicht interviewbar**	2	0,7	22	1,0
Zur Teilnahme nicht bereit	44	15,8	704	33,0
Nie erreicht	25	9,0	255	12,0

* verstorben, unbekannt verzogen etc. (s.Tabelle 2-3)

* im Erhebungszeitraum bis Juni 2008 war keine Terminvereinbarung möglich (s.Tabelle 2-3)

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Nicht nur die generelle Teilnahmebereitschaft, sondern auch das Reaktionstempo auf die Ansprache unterschied sich bei Tumorpatienten und Kontrollen. Während z.B. auf das erste Anschreiben 92 von 289 (32%) der Tumorpatienten zusagten und 68% nicht reagierten, reagierten bei den Kontrollpersonen auf das erste Anschreiben 372 von 2203 (17%) positiv, 44 (2%) negativ und 1788 (81%) gar nicht.

Die höchste Anzahl an *Reaktionen* (positiven und negativen) wurde sowohl bei Tumorpatienten als auch bei Kontrollpersonen durch die telefonische Erinnerung erreicht. Bei 105 Tumorpatienten (70 positive, 35 negative Reaktionen) und 964 Kontrollpersonen (402 positive, 562 negative Reaktionen) konnte aufgrund der telefonischen Erinnerung eine Teilnahme bzw. eine Nicht-Teilnahme dokumentiert werden.

Die meisten *Zusagen* wurden bei den Tumorpatienten nach dem ersten Anschreiben und bei den Kontrollpersonen nach telefonischer Erinnerung erzielt.

Abbildung 2-1 und Abbildung 2-2 stellen die Erfolgsquote nach Ansprachestufen bei Tumorpatienten und Kontrollpersonen detailliert dar.

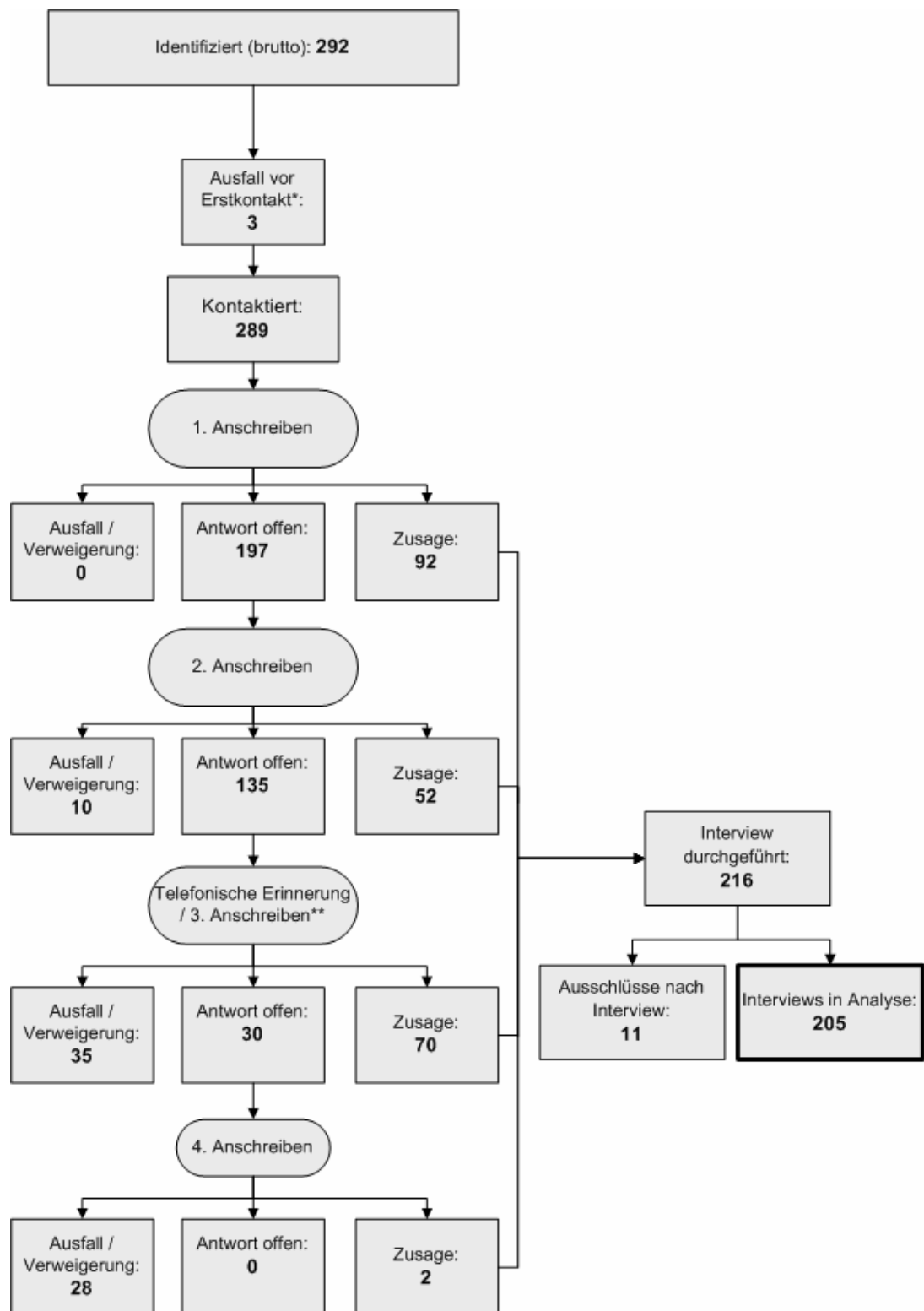


Abbildung 2-1: Erfolgsquote je Ansprachestufe bei Tumorpatienten

* es konnte keine aktuelle Adresse bzw. (bei Verstorbenen) kein Angehöriger ermittelt werden, so dass kein Erstanschreiben möglich war.

** für Probanden ohne Telefon bzw. keine Telefonnr. ermittelbar.

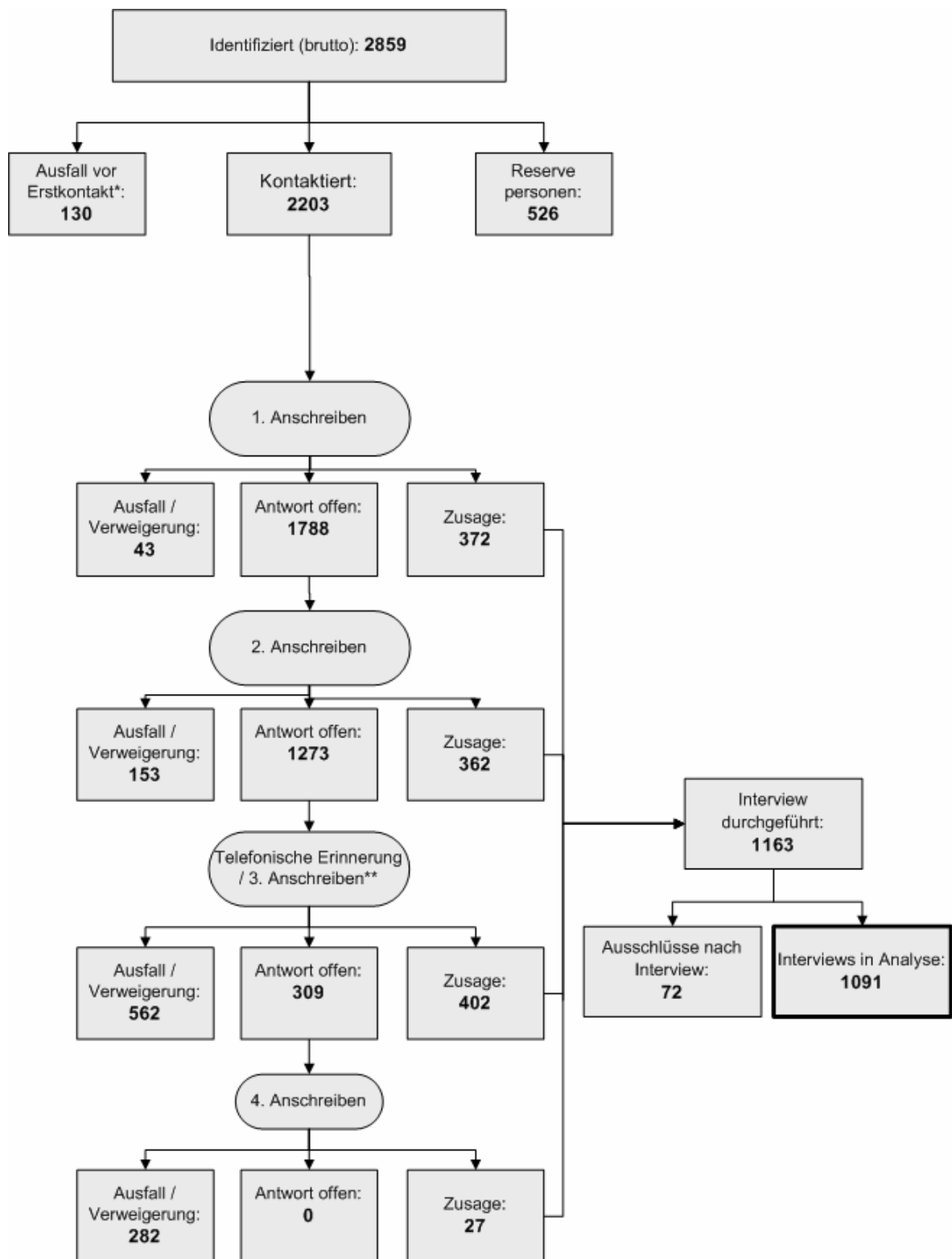


Abbildung 2-2: Erfolgsquote nach Ansprachestufe bei Kontrollpersonen

* es konnte keine aktuelle Adresse bzw. (bei Verstorbenen) kein Angehöriger ermittelt werden, so dass kein Erstanschreiben möglich war.

** für Probanden ohne Telefon bzw. keine Telefonnr. ermittelbar.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

2.1.6 Ausfallgründe

Es gab unterschiedliche Gründe, aus denen Probanden an der Studie nicht teilnehmen konnten oder wollten (Ausfallgründe). In der folgenden Tabelle sind die Ausfälle aufgelistet, die sich nach der Ansprache ergaben. Ausfälle bereits vor dem Erstkontakt (es konnte keine aktuelle Adresse bzw. (bei Verstorbenen) kein Angehöriger ermittelt werden, so dass kein Erstanschreiben möglich war) (s. Tabelle 2-2), sind hier nicht berücksichtigt:

Tabelle 2-3: Ausfallgründe

	Tumor- patienten	%	Kontroll- personen	%
Teilnahme nicht möglich, weil:				
110: ZP* verstorben, keine Angehörigen ermittelbar	2	2,7	10	1,0
120: ZP unbekannt verzogen/wohnt nicht im Haushalt	0		28	2,7
130: Unzureichende sprachliche Verständigung	0		5	0,5
140: Angehörige ohne Kontakt zu ZP	0		0	
150: Chronische Erkrankung/Pflegefall	0		8	0,8
160: Schwere Behinderung (schwerhörig/taub)	0		2	0,2
170: ZP ins Ausland verzogen, keine aktuelle Adresse	0		6	0,6
Summe:	2	2,7	59	5,7
ZP im Erhebungszeitraum nicht interviewbar, weil:				
210: Verreist bis...[nach Studienende]	0		1	0,1
220: Aus berufl. Gründen nicht am Wohnort	0		8	0,8
230: Zur Kur bis...[nach Studienende]	0		0	
240: Andere Gründe	0		4	0,4
250: Terminvereinbarung im Erhebungszeitraum nicht möglich	2	2,7	9	0,9
Summe:	2	2,7	22	2,1
ZP zur Teilnahme nicht bereit, weil:				
310: Keine Zeit	0		91	8,8
320: Auf „ärztliches Anraten“	0		1	0,1
330: Gesundheitliche Gründe (eigene Angabe)	1	1,4	22	2,1
340: v. Sinn u. Zweck d. Befragung nicht überzeugt	0		9	0,9
350: Aus Datenschutzgründen	2	2,7	12	1,2
360: Andere Gründe	10	13,7	142	13,7
370: Ohne Angabe von Gründen	31	42,5	427	40,9
Summe:	44	60,3	704	67,7
ZP nie persönlich oder telefonisch erreicht und keine Reaktion auf Anschreiben, keine Information über Gründe	25	34,2	255	24,6
Gesamt	73	100	1040	100

*ZP= Zielperson

2.1.6.1 Non-Responder

Als Non-Responder galten alle potentiellen Studienteilnehmer, die die Einschlusskriterien erfüllten, mit denen aber kein Interview zustande kam (= Ausfälle). Diese Ausfälle wurden mit einem Ausfallcode in der Terminverwaltung geführt. Um von Non-Respondern zumindest Minimalangaben zu bekommen und somit eine Aussage über mögliche Selektionseffekte machen zu können, wurden sowohl beim telefonischen Kontakt als auch bei der 2. und 3. schriftlichen Erinnerung versucht, die folgenden Angaben zu ermitteln:

- Geburtsdatum
- Schulabschluss
- Familienstand
- Erlerner Beruf
- Derzeit ausgeübter Beruf
- Am längsten ausgeübter Beruf.

12 von 73 Non-Respondern unter den Tumorpatienten (16,5%) und 48 von 1040 Non-Responder unter den Kontrollpersonen (4,6%) waren bereit, die gewünschten Angaben zu machen.

2.2 Datenerhebung mittels Interview /Expositionsermittlung

2.2.1 Beschreibung der Erhebungsinstrumente

2.2.1.1 Entwicklung und Erprobung des Fragebogens

Für Tumorpatienten und Kontrollpersonen wurde ein identischer Computer basierter Fragebogen verwendet. Zur Erprobung des Instruments wurden sowohl mit 5 Mitarbeitern des Kfz-Herstellers als auch mit 5 Handwerkern der Bremer Universität im Rahmen eines Pretests Interviews geführt. Die im Rahmen des Pretests festgestellten Probleme im Umgang mit dem Interview wurden anschließend bei der Überarbeitung des Erhebungsinstruments berücksichtigt. Die Modifikationen betrafen insbesondere Einzelheiten in der Filterführung sowie Probing-Anweisungen (Anweisungen, die der Interviewerin ermöglichten, bei unklaren oder unvollständigen Antworten durch gezieltes Nachfragen exaktere Antworten zu bekommen).

2.2.1.2 Struktur des Fragebogens

Das Interview gliederte sich in einen Hauptfragebogen und berufs- bzw. tätigkeitsspezifische Zusatzfragebögen, die zum Einsatz kamen, wenn der Studienteilnehmer bestimmte Tätigkeiten ausgeführt hatte. Die Zusatzbögen wurden nur dann eingesetzt, wenn das Interview mit der Indexperson selbst durchgeführt wurde. Falls stattdessen ein Angehöriger die Fragen beantwortete, wurden aufgrund der Komplexität und Detailliertheit der Zusatzfragen diese nicht gestellt.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Der **Hauptfragebogen** umfasste die folgenden Teile in der dargestellten Reihenfolge.

- **Angaben zur Person:**
Dokumentiert wurden Geburtsdatum, Geburtsland, Herkunftsland der Eltern, höchster Schulabschluss und Ausbildungsabschluss
- **Konstitution:**
Fragen zur körperlichen Konstitution betrafen Körpergröße, Gewichtsentwicklung, den Zeitpunkt des Einsetzens der Pubertät.
- **Berufsbiographie:**
Alle Arbeitsplätze, an denen der Proband mindestens für die Dauer von 6 Monaten beschäftigt war, wurden in Form einer chronologischen lebenslangen Berufsbiographie erhoben, wobei stets mit der ersten Tätigkeit nach Abschluss der Schulausbildung begonnen wurde. Beginn und Ende jeder beruflichen Tätigkeit wurde in Kalenderjahren sowie der durchschnittlichen Arbeitszeit pro Woche erfasst. Bei Berufsphasen innerhalb des Kfz-Werkes wurde außerdem nach der Lokalisation des Arbeitsplatzes (Werksstandort, Werkhalle und Feld) gefragt, um Expositionen besser einschätzen zu können. Am Ende jeder Berufsphase wurde die Nutzung von Arbeitsschutzeinrichtungen am Arbeitsplatz erfragt.
Zusätzlich zur hauptberuflichen Tätigkeit wurden Phasen bezogene Nebenerwerbe wie Saisonarbeit, Nebenerwerbslandwirtschaft oder eine Zweitbeschäftigung erfragt.

Am Ende der Berufsbiographie wurden gegebenenfalls Zusatzfragebögen eingesetzt, um die entsprechenden Tätigkeiten und Branchen in detaillierterer Form zu erfassen, als dies im biografischen Teil des Hauptfragebogens möglich war.

- **Medizinische Vorgeschichte und Medikamente:**
Die Fragen zur medizinischen Vorgeschichte bezogen sich auf Allergien, Hautkrankheiten, Stoffwechselkrankheiten, urologische Vorerkrankungen und auf die Fertilität. Bei der Medikamenteneinnahme wurde u. a. die Einnahme von Hormonpräparaten und Anabolika erfragt.

Die Fragen zur medizinischen Vorgeschichte waren so strukturiert, dass unterschieden werden konnte zwischen Eigendiagnosen der Indexperson bzw. des Angehörigen („Je gehabt“) und ärztlich bestätigten Diagnosen („ärztlich bestätigt oder behandelt“).

- **Pestizide:**
Im Abschnitt Pestizide wurden außer dem Pestizideinsatz in der Wohnung und im Garten Maßnahmen gegen Ektoparasiten bei Haustieren unter Berücksichtigung der Art der Anwendung sowie angewandter Schutzmaßnahmen erfragt.
- **Holzschutzmittel:**
Der Einsatz von Holzschutzmitteln im Innen- und Außenbereich wurde unter Berücksichtigung der Art der Anwendung sowie angewandter Schutzmaßnahmen erfragt.
- **Elektromagnetische Felder:**
Im Abschnitt „Elektromagnetische Felder“ wurden die Benutzung von elektrischen Geräten im Haushalt und bei der Arbeit sowie der Einsatz elektrischer Einrichtungen und Maschinen am Arbeitsplatz erfragt.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

- Familienanamnese:
In der Familienanamnese wurde die Anzahl der Geschwister der Indexperson, ihre Stellung in der Geschwisterfolge sowie die Krankengeschichte von Geschwistern und Eltern im Hinblick auf Erkrankungen der Leisteengegend und Krebserkrankungen erfragt.

Ernährung:
Ein kurzer Fragenteil zu diätetischen Faktoren erfasste den Verzehr von Fleisch, Fisch und Eiern, Milchprodukten, Gemüse und Salat.
- Rauchen:
In diesem Modul wurden Angaben zum Rauchverhalten erfragt (Menge und Zeitraum).
- Demographische Angaben:
Zum Abschluss des Interviews wurden weitere, für die soziale Charakterisierung der Indexperson wichtige Angaben wie Familienstand und Haushaltseinkommen erfragt.

Zusatzfragebögen:

Um die Zusatzfragebögen gut handhabbar zu machen, wurden diese nicht nach Stoffgruppen, sondern nach Berufsbereichen gegliedert. In einem zweistufigen Verfahren wurde entschieden, welcher Zusatzbogen einzusetzen war: zunächst wählte die Interviewerin anhand der Angaben des Studienteilnehmers Zusatzbögen aus. Am Ende der Berufsbiographie wurde den Studienteilnehmern die gesamte Liste der Zusatzbögen vorgelesen mit der Frage, ob er jemals in einem dieser Bereiche gearbeitet bzw. eine der Tätigkeiten ausgeübt hatte. Danach wurden die zutreffenden Zusatzbögen eingesetzt.

1. Gesundheitswesen: Krankenpfleger, Ärzte, anderes Klinikpersonal
2. Zahnärzte, Zahnarzthelferinnen, Zahntechniker
3. Kochen, Nahrungsmittelzubereitung
4. Chemische Reinigung
5. Landwirtschaft, Gärtnereien, Grünflächen, Floristik
6. Landwirtschaftliche Viehhaltung
7. Forstwirtschaft
8. Metallerzeugung, Eisen- und Stahlveredelung
9. Gießereien
10. Galvanotechnik
11. Holzbe- und verarbeitung
12. Zellstoff-, Papier- und Pappenherstellung
13. Textilbearbeitung
14. Gerbereien
15. Schlachten, Fleischverarbeitung
16. Schuhproduktion und Lederverarbeitung
17. Elektrotechnik
18. Löten, Schweißen, Flamspritzen, Brennschneiden
19. Glasindustrie
20. Keramische Industrie
21. Gummiindustrie, Reifenhandel
22. Herstellung und Bearbeitung von Kunststoffen, Kunstharzen und Fußbodenbelägen
23. Maler, Lackierer und Tapezierer
24. Farbenherstellung
25. Hoch-, Tiefbau (Maurer, Steinmetze, Stukkateure)
26. Gleisbau / Gleisunterhaltung
27. Chemische/Pharmazeutische Industrie
28. Flugzeugbau / Raumfahrttechnik

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

29. Kraftfahrzeugherstellung und –teileproduktion
30. Metallbearbeitung (Drehen, Fräsen, Schleifen, Polieren, Bohren)
31. Kfz-Reparatur
32. Tankwart / Tankwagenfahrer
33. Drucker
34. Innenausbau (Fußbodenleger, Fliesenleger, Teppichleger, Parkettleger)
35. Funker, Sende- und Radaranlagenbediener
36. Manuelle Verpackung von Waren in Kunststoff
37. Arbeiter an elektrischen Anlagen (Elektrizitätswerk, Leitungsmann, Störungssucher, Eisenbahnarbeiter)

Ein weiterer Arbeitsbereich wurde nicht in einem eigenen Fragebogen abgefragt, sondern in den Elektrotechnik-Zusatzbogen integriert:

38. Herstellung/Wartung von Transformatoren /Kondensatoren

Die Zusatzbögen waren nach folgendem Muster strukturiert: Eingangs wurden Betriebs- oder auch Industriebereiche eingegrenzt, in denen die Indexperson tätig war. Darauf folgend wurden Tätigkeiten und/oder der berufliche Umgang mit bestimmten Arbeitsstoffen erfragt. Die Dauer der Exposition wurde erfasst in:

- Jahren (von – bis)
- Stunden pro Tag, Woche, Monat oder Jahr

Aus zeitlichen Gründen konnten nicht mehr als sechs Zusatzfragebögen je Interview eingesetzt werden. Wurden mehr als sechs Zusatzbögen ausgewählt, musste eine Auswahl getroffen werden. Für die Entscheidung, welche Zusatzbögen bei einer großen Anzahl von in Frage kommenden Zusatzbögen auf jeden Fall zum Einsatz kommen mussten, wurde eine Prioritätenliste entwickelt, die vorgab, in welcher Reihenfolge die Zusatzfragebögen zum Einsatz kommen sollten (Abbildung 2-3). Wenn für eine lange Berufsphase ein Zusatzbogen niedriger Priorität zutraf, wurde dieser gegenüber einem Zusatzbogen höherer Priorität aber kurzer Berufsphasendauer bevorzugt.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

f_priority : Formular
ID Nr: 111111

■ nicht gefragt
■ Bearbeitung nötig
■ ZB erfolgreich beendet

PRIORITÄTENLISTE - EINSATZ VON ZUSATZBÖGEN

hohe Priorität			
ZB29 Kraftfahrzeuge (Herstellung und Teileproduktion)	0	ZB29	
ZB18 Schweißen und Löten (Schweißen, Schneiden, Spritzen, Löten)	0	ZB18	ZB19 Glasindustrie
ZB30 Metallbearbeitung (Drehen, Fräsen, Schleifen, Polieren, Bohren)	1	ZB30	ZB20 Keramische Industrie
ZB9 Gießereien	0	ZB09	ZB25 Hoch- und Tiefbau (Maurer, Steinmetze, Stukkateure)
ZB10 Galvanotechnik	0	ZB10	ZB26 Gleisunterhaltung
ZB21 Gummiindustrie / Reifenhandel	0	ZB21	ZB35 Funker (Funkler, Sende- oder Radaranlagenbediener)
ZB22 Herstellung und Bearbeitung von Kunststoffteilen, Kunstharzmassen und Fußbodenbelägen	0	ZB22	ZB15 Schlachten und Fleischverarbeitung
ZB23 Maler und Lackierer	0	ZB23	ZB2 Zahnärzte, Zahnarzthelfer, Zahntechniker
ZB24 Farbenherstellung	0	ZB24	ZB27 Chemische / Pharmazeutische Industrie
ZB31 Kfz-Mechaniker	1	ZB31	ZB32 Tankwart / Tankwagenfahrer
ZB5 Landwirtschaft, Gärtnereien, Grünflächen, Floristik, Gewächshäuser	0	ZB05	
ZB6 Landwirtschaftliche Viehhaltung	0	ZB06	niedrige Priorität
ZB7 Forstwirtschaft	0	ZB07	ZB1 Gesundheitswesen, Krankenschw., Pfleger, Ärzte u. a. Klinikperso.
ZB34 Innenausbau (Tapezierer, Fliesen-/ Fußbodenleger)	0	ZB34	ZB3 Kochen und Nahrungsmittelzubereitung
ZB8 Metallerzeugung, Eisen- und Stahlveredelung	0	ZB08	ZB4 Chemische Reinigung
ZB17 Elektrotechnik	0	ZB17	ZB12 Zellstoff-, Papier- und Pappenherstellung
			ZB13 Textilbearbeitung (Bleichen, Färben, Ausrüsten von Textilien)
			ZB14 Gerbereien, Leder- und Kunstlederherstellung
mittlere Priorität			ZB33 Drucker
ZB16 Schuhproduktion und Lederverarbeitung	0	ZB16	ZB36 Manuelle Verpackung von Waren in Kunststofffolien
ZB11 Holzbe- und -verarbeitung	0	ZB11	
ZB28 Flugzeugbau	0	ZB28	
ZB37 Elektrische Anlagen, Arbeiter an elektrischen Anlagen (Elektrizitätswerk, Leitungsmann, Störungssucher, Eisenbahnarbeiter); Herstellung und Wartung von Transformatoren und Kondensatoren	0	ZB37	

Abbildung 2-3: Prioritätenliste für den Einsatz von Zusatzfragebögen

2.2.1.3 Dateneingabe und Software

Der gesamte Ablauf der Rekrutierung von Tumorpatienten und Kontrollen, wie in Abschnitt 2.1.4.1 und 2.1.4.2 beschrieben, wurde durch elektronische Terminverwaltungen (TV) gesteuert und dokumentiert. Diese Dokumentation diente neben der Sicherstellung der Einhaltung des vorgegebenen Anspracheverfahrens auch der Dokumentation der Gründe für die Nicht-Teilnahme sowie der Berechnung der Teilnahme-Proportionen.

Die Dateneingabe der Interviews erfolgte während der Befragung direkt in die Interview-Datenbank.

Weitere Datenbanken dienten zur Verwaltung der histopathologischen Präparate (Anforderung und Rückgabe von Präparaten, Anzahl erhaltener Präparate), zur Dokumentation der Referenzbefundung, für die Codierung von Branchen und Berufen sowie für die Codierung von ausgewählten Medikamenten mit hormoneller Wirkung (Tabelle 2-4). Die Codierung der medizinischen Anamnese erfolgte direkt in der Interview-Datenbank durch Codiererinnen nach dem Interview.

Alle Datenbanken waren in Microsoft-Access® (Version 2000) programmiert.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 2-4: Einsatz von Datenbanken im Projekt

Datenbank	Einsatzort	Inhalt
Terminverwaltung Adress-Follow-up	Gewerbeärztlicher Dienst (Tumorpatienten) Kfz-Hersteller (Kontrollen)	Studienteilnehmernummer, Persönliche Identifikationsdaten, Daten und Ergebnis der Recherche, Gründe für negatives Rechercheergebnis
Terminverwaltung Probandenansprache	Gewerbeärztlicher Dienst (Tumorpatienten) Kfz-Hersteller (Kontrollen)	Studienteilnehmernummer, Persönliche Identifikationsdaten, Daten und Ergebnis der Kontaktaufnahme, Gründe der Nichtteilnahme
Terminvereinbarung für Erstinterview	BIPS	Studienteilnehmernummer, Persönliche Identifikationsdaten (nur nach Eingang der Einverständniserklärung!), Daten und Ergebnis der Kontaktaufnahme, Gründe der Nichtteilnahme
Terminverwaltung für Re- Interview	BIPS	Studienteilnehmernummer, Persönliche Identifikationsdaten (nur nach Eingang der Einverständniserklärung!), Daten und Ergebnis der Kontaktaufnahme, Gründe der Nichtteilnahme
Terminverwaltung Ansprache der Probanden für das Biomonitoring	BIPS	Studienteilnehmernummer, Persönliche Identifikationsdaten, Daten und Ergebnis der Kontaktaufnahme, Gründe der Nichtteilnahme
Interviewdaten	BIPS	Studienteilnehmernummer Alle Angaben des Fragebogens
Dokumentationsdatenbank histopathologischer Präparate	BIPS	Studienteilnehmernummer Datum der Anforderung und Rückgabe von Präparaten Anzahl erhaltener Präparate
Referenzbefundung	BIPS	Studienteilnehmernummer Ergebnis der Referenzbefundung Bewertung der Referenzbefunden
Berufs- und Branchencodierung	BIPS	Studienteilnehmernummer Berufsbiographie Branchencode Berufscode
Medikamente	BIPS	Studienteilnehmernummer Medikament ATC-Code

Alle deskriptiven und analytischen Auswertungen wurden mit Hilfe von SAS®, Version 8.2 durchgeführt.

2.2.1.4 Durchführung der Interviews

Die Vergabe der Interviewtermine für die Probanden erfolgte zentral durch das BIPS. Hierfür wurde die Terminverwaltung (TV) genutzt.

Diese enthielt zu jedem potentiellen Studienteilnehmer einen Datensatz in pseudonymisierter Form. Sobald ein potentieller Studienteilnehmer sein Einverständnis zur Teilnahme gegenüber dem Betrieb, dem Gewerbeärztlichen Dienst oder dem BIPS erklärte, wurde für diesen Datensatz in der TV im BIPS die Pseudonymisierung aufgehoben und der Eingang des Einverständnisses automatisch dokumentiert. Im Falle von Absagen erfolgte die Dokumentation im weiterhin pseudonymisierten Datensatz. Die Informationen über Teilnahme oder Absage wurden dann umgehend an die aufnehmenden Stellen des Betriebes und im gewerbeärztlichen Dienst zurückgemeldet und in den dort vorgehaltenen Terminverwaltungen entsprechend dokumentiert.

Bei Einverständnis zur Studienteilnahme wurden die Probanden durch das BIPS telefonisch oder schriftlich kontaktiert, um einen Interviewtermin zu vereinbaren. Nach erfolgreicher möglichst zeitnaher Terminvereinbarung erhielt der Studienteilnehmer eine schriftliche Terminbestätigung sowie einen Kurzfragebogen. Dieser enthielt Fragen zur Berufstätigkeit und diente ausschließlich der Vorbereitung des Probanden auf das Interview und damit der Verkürzung der Interviewdauer sowie der Validitätserhöhung der Angaben im Interview. Sofort nach Abschluss des Interviews wurde der Kurzfragebogen vernichtet.

Die Interviews wurden nach Möglichkeit Face-to-face am jeweiligen Werksstandort geführt. Auf Wunsch des Probanden war es jedoch auch möglich, das Interview an einem anderen Ort zu führen. Wenn kein Face-to-face-Interview möglich war, wurde ein telefonisches Interview geführt. Tabelle 2-5 zeigt eine Übersicht über die Art der durchgeführten Interviews:

Tabelle 2-5: Anzahl Interviews nach Art und Interviewpartner

Art des Interviews	Interview mit Tumorpatient-Indexperson	Interview mit Kontroll-Indexperson	Interview mit Tumorpatient-Ersatzperson	Interview mit Kontroll-Ersatzperson	Gesamt
Face-to-face-Interview	168	908	13	2	1091
Telefoninterview	20	173	4	8	205
Gesamt	188	1081	17	10	1296

2.3 Ermittlung beruflicher Expositionen

2.3.1 Konzept

Die Grundidee zur Ermittlung beruflicher Expositionen bestand darin, eine erste automatisierte Expositionsermittlung mit Hilfe einer im Rahmen dieser Studie neu erarbeiteten Job Exposure Matrix (JEM) durchzuführen. Zusätzlich erfolgte für definierte Studienteilnehmergruppen eine Überprüfung der durch die JEM erfolgten Expositionseinstufungen mit Hilfe einer individuellen Expositionsermittlung. Die Schritte des Konzepts zur Expositionsermittlung sind in Abbildung 2-4 dargestellt.

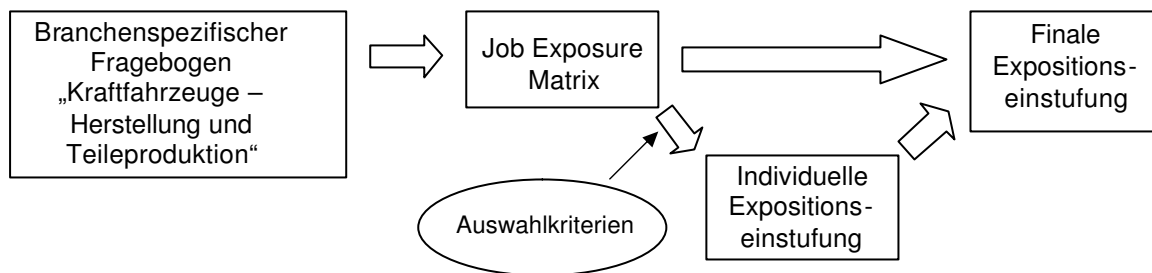


Abbildung 2-4: Fließdiagramm zum Konzept der Ermittlung beruflicher Expositionen

Auf Grundlage der im computergestützten Interview (CAPI) erhobenen Probandenangaben zur persönlichen Berufsbiographie und den in der Kraftfahrzeugherstellung ausgeübten Tätigkeiten erfolgte eine automatische Expositionseinstufung durch die Job Exposure Matrix. Hierbei wurde unterschieden in wahrscheinlich und wahrscheinlich nicht beruflich exponierte Probanden gegenüber den einzelnen untersuchten Einwirkungen. Diese Einstufung stellt einen Filter für die nachfolgenden Schritte dar. Um insgesamt die Spezifität der Expositionseinstufung zu erhöhen, wurde für exponierte Probanden mit nur geringer Exposition laut JEM-Einstufung eine zusätzliche Überprüfung der Expositionsphasen mittels einer individuellen Expositionseinstufung durch einen Expertenkreis durchgeführt. Die Definition der in die individuelle Expositionseinstufung einzubeziehenden Probandengruppen erfolgte anhand eines zuvor durchgeführten Vergleichs zwischen den Ergebnissen der automatischen Expositionseinstufung durch die Job Exposure Matrix und zusätzlicher individueller Expositionseinstufungen durch den Expertenkreis anhand einer Unterstichprobe von Probanden.

Um im Rahmen der Studie eine Expositionseinstufung entsprechend dem vorgestellten Konzept durchführen zu können, wurden folgende Vorarbeiten und Entwicklungsschritte durchgeführt:

1. Etablierung eines interdisziplinären Arbeitskreises zur Expositionsermittlung,
2. Auswahl der in das Konzept einzubeziehenden Einwirkungen,
3. Entwicklung eines Fragebogens,
4. Entwicklung einer branchenspezifischen Job Exposure Matrix,
5. Automatische Expositionseinstufung mittels Interviewangaben und Job Exposure Matrix,
6. Auswahl der in eine individuelle Expositionseinstufung einzubeziehenden Expositionsphasen und
7. Individuelle Expositionseinstufung für ausgewählte Expositionsphasen im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie.

Bereits während der Studienvorbereitung wurde beschlossen, zur Unterstützung bei der Expositionsermittlung einen interdisziplinären Arbeitskreis mit branchenspezifischen Expositionskenntnissen einzurichten. Für diesen wurden betriebliche und berufsgenossenschaftliche Experten ausgewählt, die die Expositionsermittlung im Rahmen der Studie unterstützten. Der Arbeitskreis Expositionsermittlung begleitete alle oben aufgeführten Schritte zur Expositionsermittlung. Dies erfolgte in insgesamt 23 ganztägigen Arbeitstreffen im BIPS und darüber hinaus in regelmäßigen telefonischen Kontakten. Die Mitglieder des Arbeitskreises trafen sich teils zu weiteren Arbeitstreffen einzelner Arbeitskreismitglieder an unterschiedlichen Orten zur Bearbeitung einzelner Aufgaben.

Zur Auswahl von Expositionen mit biologisch plausiblen Kausalzusammenhang zum Auftreten von männlichen Keimzelltumoren wurde zunächst eine Literaturrecherche durchgeführt. Aus der zusammengestellten Liste relevanter Expositionen wurden diejenigen ausgewählt, welche zu beruflichen Expositionen in der Metallindustrie führen und für die Expositionsinformationen

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

durch die Arbeitskreismitglieder beigebracht werden konnten. Die Auswahl der in die Expositionsermittlung einzubeziehenden Expositionen umfasst entsprechend die in der nachfolgenden Tabelle aufgeführten stofflichen Expositionen sowie Expositionen gegenüber elektromagnetischen Feldern (EMF).

Tabelle 2-6: Auswahl stofflicher Expositionen für die Expositionsermittlung

Exposition gegenüber	Mögliche berufliche Expositionsquellen in der Metallindustrie
Bisphenol A	Bestandteil von Plastikprodukten und Epoxydharzen
Phthalaten (DIDP, DINP, DOP, others)	Zusatzstoff in PVC sowie in Farben und Lacken
Glykolether (DEGDME , TEGME, EGEE, EGBE)	Zusatzstoff in Farben und Lacken, in Frostschutzmitteln, Bremsflüssigkeit, Reinigern, Verdünnern und Desinfektionsmitteln
Tributylzinn (TBT)	Antifoulingzusatz in Farben und Lacken, in Klebern und Stabilisator in PVC
Cadmium	Exposition in Gießereien, in der Galvanik und beim Schweißen von cadmium-haltigen Legierungen. Zusatzstoff in Farben und Stabilisator in PVC
Dimethylformamid	Lösungsmittel
Kobalt	Schweißen hochfester Stähle
Chrom (VI)	Schweißen hochfester Stähle und Galvanik
Nickel	Schweißen hochfester Stähle
Eisen	Schweißen
Mangan	Schweißen hochfester Stähle
Aluminum	Schweißen
Blei	Schweißen und Löten. Zusatzstoff in Farben und Lacken
Alkylphenol	Desinfektionsmittel
1-Methyl-2-pyrrolidon	Entfettungsmittel, Reinigungslösungsmittel, Farb- und Lackentferner
Trichloroethylen	Lösungsmittel, Entfettungsmittel, Reiniger
Dichloromethan	Entfettungsmittel, Reinigungslösungsmittel, Farb- und Lackentferner
Polyvinylchlorid (PVC)	Herstellung und Verarbeitung von PVC-Produkten (Kleber, Beschichtung, etc.)

2.3.2 Entwicklung der branchenspezifischen Job Exposure Matrix

Zur Entwicklung der branchenspezifischen Job Exposure Matrix wurden zunächst durch den Arbeitskreis Expositionsermittlung 232 Berufsbereiche (Job Codes) anhand der Expositionsverhältnisse unterschieden. Für diese erfolgte anschließend für alle in der Studie zu untersuchenden stofflichen Expositionen und EMF eine Einstufung in „berufliche Exposition unwahrscheinlich“ oder „berufliche Exposition möglich“. Für die Bereiche, in denen eine berufliche Exposition gegenüber mindestens einen der Arbeitsstoffe oder EMF als möglich angenommen wurde, erfolgte automatisch eine quantitative Expositionseinstufung mit zeitlich differenzierten Expositionszeiträumen, wenn sich im Zeitverlauf Änderungen der Expositionsverhältnisse zum Beispiel aufgrund von geänderten Arbeitsprozessen oder Arbeitsmaterialien ergeben haben. Bei der quantitativen Expositionseinstufung wurde die Expositionsintensität semiquantitativ in drei Kategorien (niedrig, mittel, hoch) klassifiziert. Die Einteilung der Kategorien erfolgte stoffspezifisch unter Berücksichtigung etwaiger Grenzwerte, vorhandener Messergebnisse und Angaben aus der Fachliteratur. Bei der dermalen Exposition wurden insbesondere der Zustand des verwendeten Arbeitsmaterials und der Arbeitsprozess bei der Expositionsbewertung berücksichtigt. Die Wahrscheinlichkeit der Exposition für Mitarbeiter innerhalb eines Berufsbereiches gegenüber einem Stoff oder EMF wurde ebenfalls entsprechend nachfolgender Tabelle eingestuft.

Tabelle 2-7: Einstufungskategorien für Expositionswahrscheinlichkeit

Wahrscheinlichkeit	Definition
„Typisch“	100% der Beschäftigten in einem Arbeitsbereich werden als exponiert angesehen, ein Beschäftigter in einem Arbeitsbereich gilt als mit 100%iger Wahrscheinlichkeit exponiert
„Wahrscheinlich“	Zwischen 50 und 99% der Beschäftigten in einem Arbeitsbereich werden als exponiert angesehen, ein Beschäftigter in einem Bereich gilt mit einer Wahrscheinlichkeit zwischen 50 und 99% als exponiert
„Möglich“	Weniger als 50% der Beschäftigten in einem Arbeitsbereich werden als exponiert angesehen, ein Beschäftigter in einem Bereich gilt mit einer Wahrscheinlichkeit unter 50% als exponiert
„Tätigkeitsspezifisch“	Exposition abhängig von der Ausübung einzelner Tätigkeiten wie z.B. der Verwendung von Schraubensicherungslack

Der zeitliche Umfang der Exposition in Relation zur täglichen/ wöchentlichen Arbeitszeit wurde in drei Kategorien unterschieden (Tabelle 2-8).

Tabelle 2-8: Einstufungskategorien für den zeitlichen Umfang der Exposition an der regelmäßigen Arbeitszeit

Anteil an der Arbeitszeit	Definition
„Ständig“	in mehr als 50% der Arbeitszeit lag eine Exposition vor
„Oft“	in 5 bis 50% der Arbeitszeit lag eine Exposition vor
„Selten“	in 1 bis 5% der Arbeitszeit lag eine Exposition vor

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Darüber hinaus wurden für jede der insgesamt 625 quantitativen Einstufungen innerhalb der Job Exposure Matrix die zugrunde liegende Informationsquelle (Tabelle 2-9) sowie die subjektive Qualität der Einstufung (Tabelle 2-10) durch die Arbeitskreismitglieder dokumentiert.

Tabelle 2-9: Zugrunde liegende Informationsquellen für quantitative Expositionseinstufungen innerhalb der Job Exposure Matrix

Informationsquelle	Anzahl der quantitativen Expositionseinstufungen innerhalb der JEM	%
Vorhandene Messwerte in MEGA-Datenbank oder in betrieblicher Expositionsdatenbank für ausgewählten Berufsbereich	34	5
Vorhandene Messwerte in MEGA-Datenbank oder in betrieblicher Expositionsdatenbank für ähnlichen Berufsbereich	18	3
Spezielle Arbeitsplatzkenntnisse (z.B. Datenbankinformation über die Zusammensetzung verwendeter Arbeitsmaterialien, Fachliteratur)	241	39
Subjektive Einschätzung durch Arbeitskreismitglieder	332	53
Gesamt	625	100

Tabelle 2-10: Subjektive Qualitätseinschätzung für quantitative Expositionseinstufungen innerhalb der JEM

Qualitätseinschätzung	Anzahl der quantitativen Expositionseinstufungen innerhalb der JEM	%
„Sehr gut“	52	8
„Gut“	346	56
„Mäßig“	179	28
„Gering“	48	8
Gesamt	625	100

2.3.3 Automatische Expositionseinstufung mittels Interviewangaben und Job Exposure Matrix

Durch den Einsatz des Zusatzfragebogens Nr. 29 „Kraftfahrzeugherstellung und – teileproduktion“, welcher ebenfalls mit Unterstützung durch den Arbeitskreis erarbeitet wurde, wurden im Rahmen des Interviews unter anderem Angaben darüber erhoben, ob und in welchem Zeitraum ein Studienteilnehmer in einem von 232 definierten Berufsbereichen tätig

war. Mit Hilfe dieser Angaben und der quantitativen Expositionseinstufungen innerhalb der JEM konnte anschließend für alle Studienteilnehmer eine automatische Expositionseinstufung für jede der zu untersuchenden stofflichen Expositionen und EMF erfolgen. Jeder probandenbezogene Expositionsdatensatz enthält dabei unter anderem Angaben über die einwirkende Substanzen bzw. EMF, die Intensität der Exposition, den Aufnahmeweg (inhalativ/dermal), den zeitlichen Umfang, die Wahrscheinlichkeit der Exposition sowie über die subjektive Qualitätseinschätzung zu der Expositionseinstufung innerhalb der JEM. Eine Übersicht über die Expositionsprävalenzen entsprechend der automatischen Expositionseinstufung mithilfe der JEM für das gesamte Kollektiv der Studienteilnehmer zeigt Tabelle 7 des Publikationsmanuskripts „Development and evaluation of a tool for retrospective exposure assessment of selected endocrine disrupting chemicals and EMF in the metal working industry“ im Anhang.

2.3.4 Auswahl der in eine individuelle Expositionseinstufung einzubeziehenden Expositionsphasen

Zur Überprüfung der Qualität der automatischen Expositionseinstufungen durch die JEM und zur Auswahl der grundsätzlich in eine individuelle Expositionseinstufung einzubeziehenden Expositionsphasen erfolgte eine Überprüfung von Expositionseinstufungen der JEM durch ein individuelles Verfahren der Expositionseinstufung (IEEA) für eine Stichprobe. Die Auswahl umfasste insgesamt 78 Studienteilnehmer mit positiven Expositionseinstufungen laut JEM, von denen 21 Studienteilnehmer Tätigkeiten überwiegend außerhalb der Produktionslinie und 57 Studienteilnehmer überwiegend in der Produktionslinie angegeben hatten. Für die 78 Studienteilnehmer der Auswahl wurden 1580 Expositionsphasen im individuellen Expositionseinstufungsverfahren überprüft. Im Rahmen des individuellen Verfahrens wurden alle im Interview gewonnenen Informationen zu den zu beurteilenden Berufsphasen berücksichtigt. Neben dem quantitativen Einstufungsergebnis durch das IEEA wurde für jede überprüfte Expositionsphase die Übereinstimmung zwischen JEM-Einstufung und IEEA dokumentiert. Hierbei wurde zwischen „Übereinstimmung in allen Aspekten“, „Modifikation der Expositionseinstufung in Intensität, zeitlichem Umfang und/oder Wahrscheinlichkeit der Exposition“ und „Exposition nicht bestätigt“ unterschieden.

Anschließend wurde in statistischen Analysen untersucht, welche Expositionseinstufungen durch die JEM besonders häufig im individuellen Verfahren nicht bestätigt werden konnten. Als mögliche Einflussvariablen wurden dabei der Berufsbereich (Produktionslinie/ Nicht-Produktionslinie), die Intensität der Exposition laut JEM, die Wahrscheinlichkeit der Exposition laut JEM, die Qualität der Expositionseinstufung (Selbsteinschätzung laut JEM), die Dauer seit Beendigung der Berufsphase und das einwirkende Agens / EMF untersucht. Es zeigte sich, dass insbesondere Tätigkeitsphasen außerhalb der Produktionslinie wie z.B. in der Forschung und Entwicklung, in der Instandhaltung oder anderen Serviceeinrichtungen besonders häufig zu Expositionseinstufungen durch die JEM führten, die anschließend im individuellen Einstufungsverfahren nicht bestätigt werden konnten. Für Tätigkeiten in der Produktionslinie wurden darüber hinaus JEM-Expositionseinstufungen mit geringer Expositionswahrscheinlichkeit und tätigkeitsspezifische Expositionseinstufungen besonders häufig nicht bestätigt.

Für die Einbeziehung von Studienteilnehmern bzw. Expositionsphasen in das individuelle Expositionseinstufungsverfahren wurde das Kriterium von weniger als 80% Übereinstimmung zwischen JEM und IEEA festgelegt. Dies bedeutet, dass für das gesamte Kollektiv der Studienteilnehmer all jene Expositionsphasen laut JEM einem individuellen Expositionseinstufungsverfahren zugeführt wurden, für die anhand der Ergebnisse aus der Teilprobe angenommen werden musste, dass sie in einer Wahrscheinlichkeit von mehr als 20% nicht bestätigt würden. Die entsprechenden Auswahlkriterien lauteten: Tätigkeit außerhalb der

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Produktionslinie, Expositionswahrscheinlichkeit „möglich“ laut JEM und tätigkeitsspezifische Expositionseinstufung. Dies betraf im Rahmen der Studie insgesamt 15094 JEM-Expositionsphasen, welche durch ein individuelles Expositionseinstufungsverfahren überprüft wurden.

Weitere Informationen zu den Ergebnissen der Expositionsermittlung finden sich im Publikationsmanuskript „Development and evaluation of a tool for retrospective exposure assessment of selected endocrine disrupting chemicals and EMF in the metal working industry“ im Anhang.

2.3.5 Auswahl von Probanden für die Untersuchung von biologischem Material

Zu Beginn der Studie wurde in der Lenungskreissitzung vom 14.05.2005 folgende Stoffauswahl getroffen:

Nichtmetalle:

- Bisphenol A
- Phthalate
- Glykolether
- Dimethylformamid
- Hydroxybiphenyl

Metalle:

- Cadmium
- Blei
- Mangan
- Eisen
- Cobalt
- Nickel
- Chrom
- Aluminium

In einer gemeinsamen Arbeitsgruppe aus BIPS, BGFA und Vertretern der BG Metall Nord Süd im März 2008 wurde die in der Lenungskreissitzung vom 14.05.2005 getroffene Stoffauswahl für das Biomonitoring folgendermaßen modifiziert:

Nichtmetalle:

- Bisphenol A
- Phthalate
- Glykolether
- N-Methyl-Pyrrolidon

Metalle:

- Blei
- Mangan
- Eisen

Diese Parameter werden aus den gewonnenen Urinproben analysiert.

Die Probennahme erfolgte, anders als ursprünglich vorgesehen, zeitlich getrennt vom Interview nur in einer Stichprobe, die anhand der JEM-Einstufung bestimmt wurde.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Die Ausprägung des Kriteriums Qualität ist eine Einschätzung der Experten des Arbeitskreises Expositionsermittlung über die Zuverlässigkeit ihrer Angabe. Mit der Intensität und der Wahrscheinlichkeit wird die vermutete Exposition bewertet. Der Wahrscheinlichkeit liegt die vermutete Häufigkeit des Umgangs zugrunde, der Intensität die Höhe der Exposition. Diese Kriterien wurden für die Aufnahme über die Atemwege und die Aufnahme über die Haut getrennt betrachtet (Tabelle 2-11).

Tabelle 2-11: Für die Auswahl der Biomonitoring-Probanden relevanten Merkmale und ihre Ausprägungen

Bewertungskriterium der Expositionseinstufung durch die JEM*	Kategorie			
	1	2	3	4
Qualität	Gering	Mäßig	Gut	Sehr gut
Wahrscheinlichkeit	Möglich	Wahrscheinlich	Sicher	-
Intensität	Niedrig	Mittel	Hoch	-

* JEM = Job Exposure Matrix

Für die Einbeziehung eines Probanden in das Biomonitoring mussten für mindestens eine der beiden Expositionsrouten (Haut oder Atemwege) alle drei Kriterien mindestens den Wert 2 annehmen:

$$S = (I_d=2 \wedge W_d=2 \wedge Q_d=2) \vee (I_a=2 \wedge W_a=2 \wedge Q_a=2)$$

S = Schwellenkriterium

I = Intensität

W = Wahrscheinlichkeit

Q = Qualität

d = dermal,

a = inhalativ

Die Auswahl der in das Biomonitoring einzubeziehenden Probanden fand auf der Basis des Datenstandes vom 04. März 2008 statt. Für die Auswahl wurden nur Probanden, die zum Zeitpunkt des Interviews aktuell im Kfz-Betrieb arbeiteten, berücksichtigt. 9 der ausgewählten Probanden waren zum Zeitpunkt der Probennahme nicht mehr aktiv beschäftigt, 12 Probanden stimmten einer Teilnahme am Biomonitoring nicht zu. Daher wurden 14 Probanden nachträglich ausgewählt. Da nur 4 der nachgezogenen Probanden das Schwellenkriterium erfüllten, wurde das Schwellenkriterium für 10 Probanden ausgesetzt und ein randomisiertes Verfahren angewandt. So wurden insgesamt 284 Probanden für das Biomonitoring identifiziert (Tabelle 2-12). Die Verteilung der Probanden nach Werksstandort und die Exposition gegenüber den für das Biomonitoring ausgewählten Stoffen sind in den nachfolgenden Tabellen dargestellt (Tabelle 2-12, Tabelle 2-13:).

Neben der Überlassung einer Urin- und Blutprobe wurden die Probanden gebeten, eine Hausstaubprobe (Staubsaugerbeutel, mindestens 4 Wochen in Benutzung) zur Verfügung zu

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

stellen, um später auch Expositionen aus dem häuslichen Umfeld mit berücksichtigen zu können.

Die gemeinsame Verteilung der das Schwellenkriterium erfüllenden Probanden sind für Nichtmetalle in

Abbildung 2-5: und für Metalle in Abbildung 2-6: in Venndiagrammen dargestellt. Es wurde für 233¹ (239) Probanden eine Exposition gegenüber Nichtmetallen und für 165 (169) Probanden eine Exposition gegenüber Metallen festgestellt. Für 107 (109) Probanden liegt nach JEM eine Exposition nur für Nichtmetalle vor, für 34 (37) eine Exposition nur gegenüber Metallen. Für 124 (132) Probanden lag eine Exposition sowohl gegenüber Metallen als auch gegenüber Nichtmetallen vor. Zehn (8) Probanden sind nach JEM nicht exponiert gegenüber einen der Selektionskriterien bestimmenden Stoffe.

Tabelle 2-12: Anzahl der zum Interviewzeitpunkt aktuell in der Kfz-Herstellung beschäftigten Probanden nach Werksstandort

Werk	Interviewt und am Stichtag noch beim Kfz-Hersteller arbeitend	Ausgewählt für das Biomonitoring	Anteil (%)
C	55	16	29.1
E	97	49	50.5
B	130	51	39.2
D	127	47	37.0
F	59	29	49.2
A	406	92	22.7
Gesamt	874	284	32.6

¹ Zahlen beziehen sich auf die Expositionseinstufungen, die anhand der Selektionskriterien erfüllt sind. Zahlen in Klammern zeigen die Anzahlen aller ausgewählten Probanden, inklusive derer, die nicht das Schwellenkriterium erfüllen.

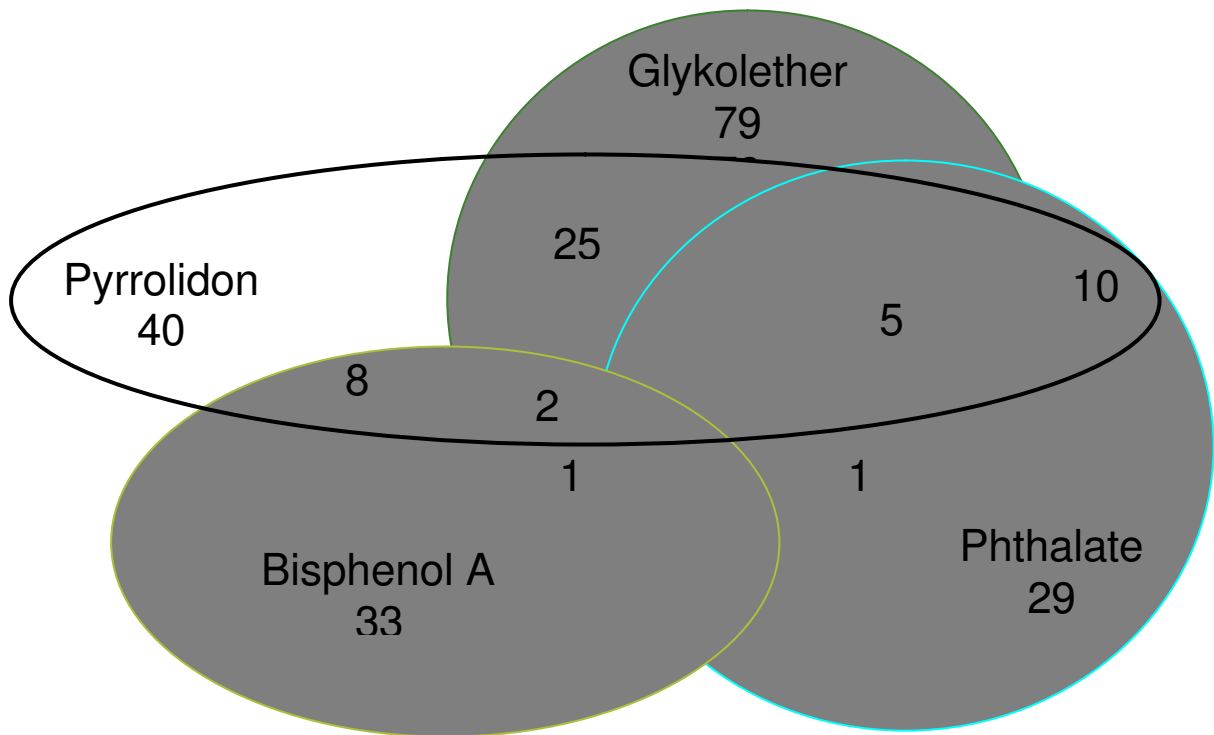


Abbildung 2-5: Anzahl der das Schwellenkriterium erfüllenden Probanden mit Expositionen gegenüber Nichtmetallen.

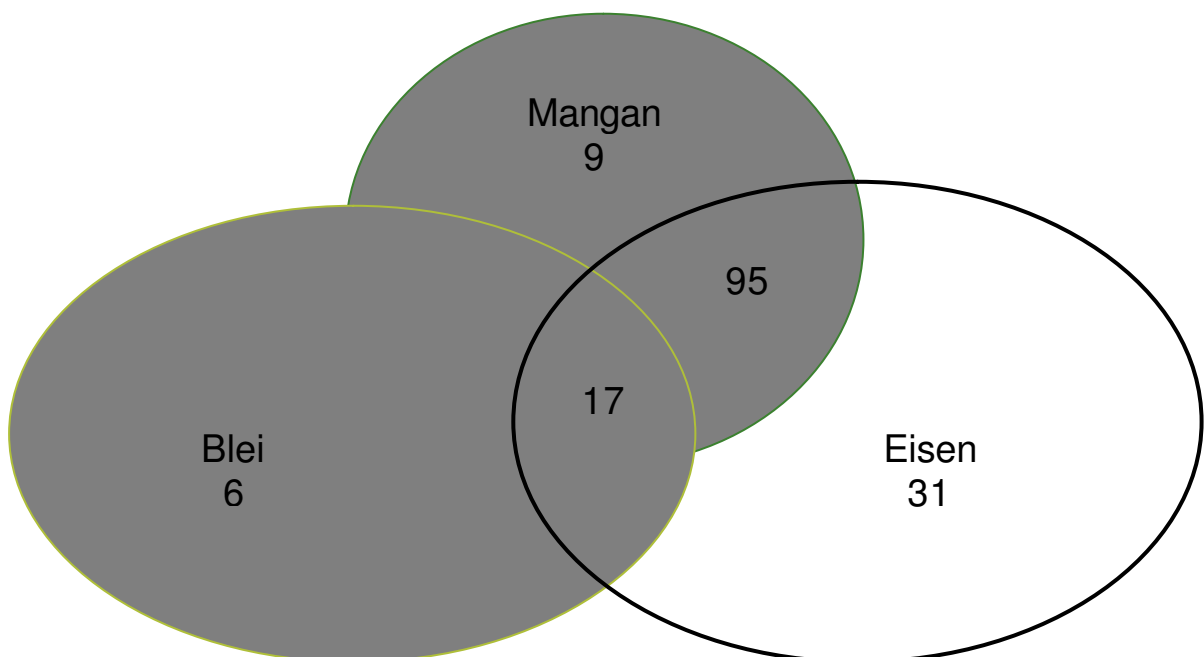


Abbildung 2-6: Anzahl der das Schwellenkriterium erfüllenden Probanden mit Expositionen gegenüber Metallen

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 2-13: Exposition gegenüber relevanten Stoffen der für das Biomonitoring ausgewählten Probanden

Bisphenol A	Phthalate	Glykol-ether	N-Methyl-Pyrrolidon	Eisen	Blei	Mangan	N [†]	%
0	0	0	0	0	0	0	8	2.82
0	0	0	0	0	1	0	2	0.70
0	0	0	0	1	0	0	14	4.93
0	0	0	0	1	0	1	21	7.39
0	0	0	1	0	0	0	2	0.70
0	0	0	1	1	0	1	25	8.80
0	0	1	0	0	0	0	68	23.94
0	0	1	0	1	0	0	1	0.35
0	0	1	0	1	0	1	2	0.70
0	0	1	0	1	1	1	1	0.35
0	0	1	1	1	0	1	16	5.63
0	1	0	0	0	0	0	21	7.39
0	1	0	0	0	1	0	4	1.41
0	1	0	1	0	0	0	4	1.41
0	1	0	1	0	1	0	2	0.70
0	1	1	1	1	0	1	3	1.06
1	0	0	0	1	0	0	18	6.34
1	0	0	0	1	0	1	2	0.70
1	0	0	0	1	1	1	14	4.93
1	0	0	1	0	0	0	5	1.76
1	0	0	1	1	0	1	11	3.87
1	0	0	1	1	1	1	1	0.35
1	0	1	0	0	0	0	5	1.76
1	0	1	0	0	0	1	6	2.11
1	0	1	0	1	0	1	1	0.35
1	0	1	0	1	1	1	1	0.35
1	0	1	1	0	0	0	1	0.35
1	0	1	1	1	0	1	4	1.41
1	0	1	1	1	1	1	1	0.35
1	1	0	0	0	0	0	4	1.41
1	1	0	1	0	0	0	2	0.70
1	1	1	0	0	0	0	1	0.35
1	1	1	1	0	0	0	1	0.35
1	1	1	1	0	0	1	3	1.06
1	1	1	1	1	0	1	9	3.17
1=Exposition liegt vor; 0=Exposition liegt nicht vor; [†] N=Anzahl Studienteilnehmer gemäß JEM.							284	100

2.3.5.1 Ansprache der Probanden für das Biomonitoring

Die Probandenansprache erfolgte schriftlich durch das BIPS. Wie generell in der Probandenansprache gab es auch hier ein abgestuftes Verfahren:

- **1. Anschreiben:** erläuterte den Sinn der Untersuchung und den zeitlichen Umfang für den Probanden
- **telefonische Kontaktaufnahme** zur Terminvereinbarung bzw. **bei Probanden ohne Telefon 2. Anschreiben (Erinnerung):** mehrere Versuche an unterschiedlichen Wochentagen zu unterschiedlichen Zeiten.
- **2. Anschreiben (Erinnerung)** an Probanden mit Telefon
- **telefonische Kontaktaufnahme** zur Terminvereinbarung: mehrere Versuche an unterschiedlichen Wochentagen zu unterschiedlichen Zeiten

In Absprache mit den Werken wurden mittwochs bis freitags jeweils 2 bis 5 Termine vergeben. Die Probanden erhielten eine schriftliche Terminbestätigung, die noch einmal die Rahmenbedingungen für die Bioprobenentnahme zusammenfasste. Gleichzeitig wurde die Zusendung eines frankierten Postkartons für die Hausstaubprobensammlung angekündigt.

Eine Stoffinformation über zu analysierende Parameter wurde erstellt und auf der BIPS-Homepage allen interessierten Probanden zugänglich gemacht.

Die Probensammlung für das Biomonitoring wurde zum 31.10.08 abgeschlossen: Alle Probanden wurden kontaktiert. Die Ergebnisse der Kontaktaufnahme zeigt Tabelle 2-14, während Tabelle 2-15 einen Überblick über die Ausfallgründe gibt.

Tabelle 2-14: Ergebnisse der Kontaktaufnahme für das Biomonitoring

	Probanden N	Probanden %
Identifiziert (brutto)	284	
Nachträglicher Ausschluss:		
Nicht mehr aktiv beschäftigt	9	
Bereinigtes N	275	100
Biomonitoring durchgeführt	244	88,7
Ausfälle:		
Im Erhebungszeitraum nicht untersuchbar	14	5,1
Zur Teilnahme nicht bereit	12	4,4
Nie erreicht	5	1,8

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 2-15: Ausfallgründe

	Probanden N	Probanden %
ZP im Erhebungszeitraum nicht untersuchbar, weil:		
210: Verreist bis...		
220: Aus berufl. Gründen nicht am Wohnort		
230: Zur Kur bis...		
240: Andere Gründe		
250: Terminvereinbarung im Erhebungszeitraum nicht möglich	14	45,2
Summe:	14	45,2
ZP zur Teilnahme nicht bereit weil:		
310: Keine Zeit	1	3,2
320: Auf „ärztliches Anraten“		
330: Gesundheitliche Gründe (eigene Angabe)		
340: v. Sinn u. Zweck d. Befragung nicht überzeugt		
350: Aus Datenschutzgründen		
360: Andere Gründe	1	3,2
370: Ohne Angabe von Gründen	10	32,2
Summe:	12	38,7
ZP nie persönlich oder telefonisch erreicht, keine Information über Gründe	5	
Gesamt	31	100

*ZP= Zielperson

2.4 Codierungen

2.4.1 Berufe und Branchen

Die Codierung von Angaben zur Beruf und Branche erfolgte grundsätzlich ohne Kenntnis des Fall-Kontroll-Status einer Person.

Die Codierung der Branche erfolgt auf Basis der europäischen Systematik NACE (Nomenclature générale des activités dans les Communautés Européennes), Revision 1. Die deutschsprachige Fassung der Systematik hat den Titel „Klassifikation der Wirtschaftszweige mit Erläuterungen“, herausgegeben vom Statistischen Bundesamt, Ausgabe 1993, 4. Auflage 1996.

Die Codierung des Berufes erfolgt auf Basis der „Internationalen Standardklassifikation der Berufe“, Deutsche Ausgabe 1968, herausgegeben vom Statistischen Bundesamt, Wiesbaden (1971). Die Klassifikation ist eine deutsche Übersetzung des ISCO-Codes „International Standard Classification of Occupations (ISCO)“, Revised Edition 1968, International Labor Office (ILO).

Die Codierung erfolgte mit dem vollständigen fünfstelligen Branchen- und Berufscode, Punkte zwischen den Ziffern entfielen.

Für Phasen der Nicht-Erwerbstätigkeit sowie für Militärdienst wurden die in Tabelle 2-16 aufgeführten Sondercodes vergeben.

Tabelle 2-16: Von NACE und ISCO abweichende Sondercodes für Phasen der Nicht-Erwerbstätigkeit und für Soldaten

Art der Tätigkeit	Branche NACE	Beruf ISCO
Militärdienst	75220	00001*
Arbeitslosigkeit	00002	00002
Berentung / Pensionierung	00003	00003
Studium (Fachhochschule bzw. Universität)	00004	00004*
Hausmann	00005	00005
Krankheit	00006	00006
Gefängnisaufenthalt	00007	00007*
Verstorben	00008	00008
Angaben nicht codierbar	00000	99999

* Falls eine Person während der entsprechenden Phase eine berufstypische Tätigkeit wie z.B. Koch, Fahrer, Maurer etc. ausgeübt hat, wurde als ISCO-Code der entsprechende Beruf statt des Sonderschlüssels codiert.

Für die Codierung wurden alle für die betreffende Berufsphase verfügbaren Informationen aus den Klartextangaben der Berufsbiographie zugrunde gelegt. Ergänzend hierzu konnten jeweils

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

sowohl die Schulbildung als auch die gesamte Berufsbiographie des Probanden eingesehen werden.

Der Branchen-Code wurde bezogen auf die Hauptaktivität des Betriebes, in dem der Beschäftigte arbeitete, vergeben und nicht bezogen auf die spezifische Abteilung. So war z.B. für den Koch in der Kantine eines Metall verarbeitenden Betriebes als Branche der Metall verarbeitende Betrieb zu codieren. Bei Beschäftigung durch eine Zeitarbeitsfirma wurde die Branche, in der der Beschäftigte tatsächlich eingesetzt wurde, codiert.

Für den Branchen-Code sollten möglichst die ersten drei Ziffern vergeben werden. War eine weitere Spezifikation nicht möglich, wurden fehlende Ziffern durch 0 bzw. 00 ergänzt. War die Information nicht ausreichend für eine Vergabe der ersten drei Ziffern, wurden zumindest die erste bzw. die ersten beiden Ziffern vergeben, die folgenden wurden mit 000 bzw. 0000 ergänzt. Nicht codierbare Branchenangaben wie z.B. „weiß nicht“ wurden mit 00000 codiert.

Die Codierung der Haupttätigkeit war zwingend vorgeschrieben. Zusätzlich konnte ein zweiter Code vergeben werden, wenn die Berufstätigkeit so heterogen war, dass ein einzelner Code dies nicht ausreichend abbilden konnte. Die Verwendung eines zusätzlichen Berufscodes sollte sparsam eingesetzt werden und beschränkte sich primär auf die Fälle, in denen die weitere Tätigkeit sich deutlich von der Haupttätigkeit unterschied. So wurde bei einem Kraftfahrer, der gleichzeitig auch die Fahrzeuge reparierte, als Haupttätigkeit „Lkw-Fahrer“ und als weitere Tätigkeit „Kfz-Mechaniker“ codiert. Nebentätigkeiten wurden als eine Unterphase der Haupttätigkeit erfasst und codiert. Hier wurden Branche und Tätigkeit einfach codiert, die Vergabe mehrerer Codes erfolgte nicht für Nebentätigkeiten.

Die Ausbildung in einem Lehrberuf, bei dem die Ausbildungsinhalte überwiegend praktische Arbeiten beinhalteten, wurde wie der entsprechende Beruf codiert.

Für die Berufscodes sollten möglichst alle 5 Ziffern des Codes vergeben werden, mindestens aber die ersten drei Ziffern. Die fehlenden Ziffern wurden dann mit 99 bzw. 9 ersetzt. Nicht codierbare Angaben wurden mit 99999 gekennzeichnet.

Für unsichere Zuordnungen wurden jeweils Einzelfallentscheidungen getroffen und die Entscheidungsgründe dokumentiert, die im Verlaufe der Codierung zu einem verbindlichen Entscheidungskatalog zusammengestellt wurden.

2.4.2 Diagnosen

Die Codierung der Erkrankungen erfolgte auf Basis der Internationalen statistischen Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme ICD-10, 10. Revision. Hrsg. vom Deutschen Institut für medizinische Dokumentation und Information. 2. Auflage Version 1.3, Stand Juli 1999. Alle dort aufgestellten Regeln zur „Benutzung der ICD“ finden hier Anwendung.

Im Rahmen der Krankheitsanamnese wurden Allergien und Krebserkrankungen der Indexperson im Klartext erhoben.

Die Angaben im Fragebogen lassen, insbesondere im Falle von Krebserkrankungen, nicht immer die Vergabe eines eindeutigen Codes zu. Für entsprechende Problemfälle wurden daher zusätzlich allgemeine Festlegungen getroffen, die sicherstellen, dass in diesen Fällen jeweils identisch codiert wurde. Tabelle 2-17 listet die Festlegungen zur Diagnosecodierung auf.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 2-17: Allgemeine Festlegungen zur Codierung der Diagnosen

Problem/ Angabe im Fragebogen	Codierung
Bei Allergie: Weiß nicht / Keine Angabe, „unbekannt“ o. ä.	T78.4
Bei Krebserkrankung: w.n./k.A., „unbekannt“ o.ä.	C80
Mehrere Allergien oder Krebserkrankungen, Indexperson selbst	Alle codieren. Wenn mehr als 3, nur die ersten 3
Mehrere Krebserkrankungen, Angehöriger der Indexperson	C97
Verschiedene Krebserkrankungen, mit oder : z.B.: Magen oder Darm	Individuell abklären und aufführen: Magen oder Darm: C26.9 Gebärmutter oder Gebärmutterhals: C55 Bauch oder Magen: C16.9 Bauchspeicheldrüse oder Magen: C26.9
Krebserkrankung, darauf folgend im Klartext z.B.: Leberzirrhose	Es erfolgt keine Codierung, da es sich nicht um eine Krebserkrankung handelt und die Angabe „Krebserkrankung ja“ wird in „nein“ geändert!

Da es sich um Selbstangaben der Probanden handelte und selten korrekte medizinische Bezeichnungen der Erkrankungen genannt wurden, wurden darüber hinaus bei Bedarf Einzelfallentscheidungen getroffen und in einem verbindlichen Entscheidungskatalog zusammengestellt.

2.4.3 Medikamente

Die Codierung der im Interview erfragten ausgewählten Medikamente erfolgte auf Basis der Anatomisch-Therapeutisch-Chemischen (ATC) Klassifikation (Hrsg. vom Deutschen Institut für medizinische Dokumentation und Information, 1. Auflage 2005).

2.4.4 Nationalität

Im Interview wurden bei den Angaben zur Person das Geburtsland sowie die Herkunftsländer der Eltern und Großeltern erfragt. Zur Codierung wurde der Nationencode der Einwohnermeldeämter verwendet. (s. OPH, Kap. 7).

2.5 Analytische Methoden

2.5.1 Matching

In einer definierten Population (männliche Beschäftigte oder ehemalige Beschäftigte in einem von sechs deutschen Betriebs-Standorten zwischen 1.1.1989 und 31.12.2002) wurden unter Berücksichtigung zuvor festgelegter Einschlusskriterien alle Personen mit der gesuchten Erkrankung identifiziert (siehe Kapitel 2.1.2). Kontrollpersonen für einen Tumorpatienten wurden aus einer Stichprobe nicht erkrankter Personen der gleichen Bezugspopulation zufällig ausgewählt und nach Geburtsjahr gematcht (siehe Kapitel 2.1.3). Um dem Design einer eingebetteten Fall-Kontrollstudie gerecht zu werden, wurde für die Auswertungen das Incidence-Density Sampling angewandt, das jedem Fall 1-n Kontrollen aus dem sog. Riskset zuweist. Als Zeitraum unter Risiko wird für die Analyse der Zeitraum angesehen, der vor der Diagnose des Falls bzw. vor dem Indexdatum (siehe Abschnitt 2.1.3) der Kontrolle liegt. Durch dieses Verfahren können Tumorpatienten bis zum Diagnosedatum ihrer eigenen Erkrankung für andere Fälle als Kontrollen fungieren.

Als Matchingkriterium wurde in dieser Studie das Geburtsjahr (± 2 Jahre) angewendet. Das Alter ist bei der Untersuchung beruflicher Risikofaktoren als potentieller Confounder anzusehen. Der Werksstandort wurde nicht als mögliches Matchingkriterium einbezogen, um eine Überadjustierung zu vermeiden.

2.5.2 Quantitative Maße für die Exposition

Es wurden verschiedene berufliche und außerberufliche Einflussfaktoren (Expositionen) hinsichtlich ihrer Wirkung auf das Erkrankungsrisikos analysiert. Die prinzipielle Methodik der verwendeten Maße für die Quantifizierung der Exposition wird im folgenden kurz dargestellt. Die genaue Spezifikation der Quantifizierung richtete sich zusätzlich nach der betrachteten Expositionsform (stoffspezifisch, Berufe, Tätigkeiten) und wird in den Methodenteilen der Publikationsmanuskripte erläutert.

Grundlage für die Expositionseinstufungen sind bei den Tumorpatienten immer nur die Berufsphasen bis zum Datum der Diagnose bzw. bei den Kontrollpersonen nur die bis zum Diagnosedatum des zugehörigen Falles.

Datenbasis bildeten dabei zum einen die im Interview festgehaltenen Angaben der Studienteilnehmer (siehe Kapitel 2.2) oder die durch Codierung der Berufe und Branchen (siehe Kapitel 2.4) und Einsatz der Expositionsermittlung (siehe Kapitel 2.3) zusätzlich erstellten Variablen.

Die Bestimmung der Maße erfolgte je Beruf bzw. Berufsgruppe, je Branche bzw. Branchengruppe (Kategorisierung siehe Publikationsmanuskript in Anhang b), je Stoff (siehe Kapitel 2.3) bzw. Stoffgruppe. Eine Person galt dann im Sinne einer Gruppe als exponiert, wenn auf sie mindestens eine der einbezogenen Expositionen zutraf. Auf Basis der Angaben zu Einzelstoffen wurden folgende Stoffgruppen gebildet: „Phthalate“ (PVC, DIDP, DINP, DOP, Phthalate o.n.A.), „Glykolether“ (DEGDME (111-96-6), TEGME (112-35-6), EGEE (110-80-5), EGBE (111-76-2)), „Metalle mit endokriner Wirkung“ (Kobalt, Chrom), „Metalle ohne endokrine Wirkung“ (Nickel, Eisen, Mangan, Aluminium, Blei), „Epoxidharz oder Bisphenol A“ (Epoxidharz, Bisphenol A)

Bei den Maßen für die stoffspezifischen Quantifizierungen wurde zusätzlich nach dem Aufnahmepfad (inhalativ, dermal oder beides) differenziert.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Jemals/niemals:

Dieses Maß differenziert, ob eine einzelne Person jemals exponiert war. Unberücksichtigt bleiben hierbei Dauer und Intensität der Exposition.

Spitzen-Intensität (nur stoffspezifische Analysen):

Mittels JEM erfolgte eine Einstufung der Expositionsintensität für einzelne Tätigkeitsphasen (siehe Kapitel 2.3.3 und 2.3.4). Das Maß für die einzelne Person ergab sich aus der maximal erreichten Intensität während der relevanten Berufsphasen. Unberücksichtigt blieb hierbei die Dauer der Exposition.

Dauer:

Hier wurden die Zeiten (Kalenderjahre) der Berufsphasen mit relevanten Expositionen aufaddiert. Zeitlich parallele Phasen gingen nur einfach ein. Dieses kumulative Maß wurde dann mittels Tertilen klassiert (nicht exponiert, kurz, mittel, lang). Die Tertile wurden auf Basis der Werte für Dauer bei jemals-Exponierten (Fälle und Kontrollen) bestimmt. Je nach Exposition fiel die Verteilung der Dauer sehr unterschiedlich aus: die jeweiligen Klassengrenzen sind in den Ergebnistabellen aufgeführt. Die Intensität der Exposition bleibt bei diesem Maß unberücksichtigt.

Personenarbeitsjahre (nur Analyse der Berufe):

Für die einzelnen Berufsphasen lagen Angaben zur Wochenarbeitszeit in Stunden vor. Diese wurde mit der Dauer der jeweiligen Phase multipliziert. Die Produkte wurden aufsummiert und das Ergebnis auf Arbeitsjahre mit einer 40-Stunden-Woche umgerechnet. Dieses kumulative Maß wurde in Klassen eingeteilt (nicht exponiert, kurz mittel, lang). (Details siehe Publikationsmanuskript im Anhang b).

Expositions-Index (nur stoffspezifische Analysen):

Aus den Angaben zu Intensität (inhalativ 3 Kategorien, dermal 2 Kategorien), Wahrscheinlichkeit (2 Kategorien: 0,5; 1), anteiliger Arbeitszeit (3 Kategorien: 0,02; 0,15; 0,66) und der Dauer wurde für jede Tätigkeitsphase mit Exposition multiplikativ ein gewichteter Index berechnet. Bei der durch Experten erstellten JEM waren für einen Teil der stoffbezogenen Intensitätskategorien Konzentrationsintervalle für die Exposition am Arbeitsplatz aufgenommen worden (siehe Abschnitt 2.3.2 und Tabelle 3.17). Sofern diese Intervalle für einen Stoff vorhanden waren (für inhalative Exposition von Bisphenol A, Dimethylformamid, EGEE, DEGDME, EGBE, Kobalt, Chrom, Nickel, Eisen, Mangan, Aluminium, Blei, DOP, Dichlormethan, 1-Methyl-2-Pyrrolidon, Trichlorethylen), wurden die Klassenmitten dieser Intervalle bei der Indexberechnung für die Wichtung der Intensitätskategorien verwendet. Andernfalls wurden die Ränge der ordinalen Intensitätskategorien eingesetzt. Die Indexwerte wurden für die einzelne Person kumuliert. Dabei wurden alle relevanten Phasen in voller Länge berücksichtigt. Der kumulierte Index wurde wiederum nach Tertilen in Klassen eingeteilt. Die Tertile wurden auf Basis der Indexwerte bei jemals-Exponierten (Fälle und Kontrollen) bestimmt.

Sozioökonomischer Status

Als Maße des Sozioökonomischen Status werden in dieser Studie die höchste erreichte Schulausbildung, die höchste abgeschlossene berufliche Ausbildung, sowie die Variable ISEI (*International Socio-Economic Index of Occupational Status*) genutzt. Diese Variable weist den Berufen, die nach ISCO codiert wurden, einen Wert zwischen 10 bis 90, entsprechend dem benötigten Bildungsabschluss und dem Einkommen zu. Richter, Anwälte und Ärzte haben einen Wert von 90, und ungelernte Arbeiter in der Landwirtschaft einen Wert von 10. In dem vorliegenden Bericht wird das jemals während der Berufslaufbahn erreichte Maximum des ISEI anhand der ersten drei Ziffern des ISCO dargestellt und ausgewertet.

2.5.3 Statistische Analysen

Deskriptive Analysen zur Verteilung von Tumorpatienten und Kontrollpersonen wurden für Alter, Schul- und Berufsabschluss, sozioökonomischer Status, Werkstandort der letzten Beschäftigung, Anzahl und Dauer der Berufsphasen, anthropometrische Kenngrößen und für die medizinische Vorgeschichte erstellt.

Zur qualitativen Bewertung der Befragungsqualität wurden Interviewdauer und Interviewqualität deskriptiv ausgewertet.

Tumorpatienten und Kontrollpersonen waren 1:n nach Geburtsjahr (± 2 Jahre) individuell gematcht. Das Matchingverfahren (siehe Kapitel 2.1.3) ordnete den Fällen zwischen 2 und 10 Kontrollen zu. Fünf der zufällig im Matchingverfahren ausgewählten Kontrollen stellten sich als Tumorpatienten heraus, deren Hodentumordiagnose zeitlich auf die Diagnose des zugehörigen Falles folgte, dem sie als Kontrolle zugeordnet wurden. Entsprechend dem Prinzip des Incidence-Density Sampling verblieben diese Tumorpatienten auch als Kontrollen in der Analyse. Dem Studiendesign entsprechend wurde das Erkrankungsrisiko mittels multifaktorieller bedingter logistischer Regression geschätzt. Dieses Verfahren berücksichtigt das Matching von Tumorpatienten und Kontrollpersonen durch Stratifizierung und schließt damit eine Verzerrung der Ergebnisse durch die im Matching berücksichtigten Faktoren aus. Die bedingte logistische Regression wurde mittels der Prozedur PROC PHREG mittels SAS 8.2 durchgeführt. Die in diesen Regressionsanalysen bestimmten Odds Ratios werden gemeinsam mit ihrem 95%-Konfidenzintervall angegeben. Untersucht wurde der außerberufliche (anthropometrische Kenngrößen und medizinische Vorgeschichte, Pestizide im Haushalt, sozioökonomischer Status) und berufliche (Tätigkeiten und Branchen, stoffbezogene Exposition) Einfluss auf das Risiko, an einem Keimzelltumor zu erkranken. Die Regressionsmodelle adjustierten für ärztlich bestätigten Kryptorchismus. In den Regressionsanalysen für die jemals/niemals-Quantifizierung wurden einzelne (Stoffe, Berufe, Tätigkeiten) oder mehrere (Berufe) Expositionen berücksichtigt. Die Spitzen-Intensität und die kumulativen Maße gingen kategorisiert in das jeweilige Regressionsmodell ein.

Alle Analysen erfolgten mit SAS 8.2 Software (SAS Institute, Cary, NC).

(Für weitere Details siehe Publikationsmanuskripte im Anhang).

2.6 Qualitätssicherung

2.6.1 Probandenansprache

Im Rahmen der Qualitätssicherung und -kontrolle fanden regelmäßig im Gesundheitsschutz des Kfz-Herstellers Termine vor Ort statt, die durch eine Mitarbeiterin des BIPS wahrgenommen wurden. Dabei wurde das von der Firma mit der Probandenansprache betraute Personal in Fragen der Personenansprache und im Umgang mit den Terminverwaltungen geschult. Zu diesen Besuchsterminen wurden von der BIPS-Mitarbeiterin ebenfalls Abfragen in der Terminverwaltung zum aktuellen Stand der Probandenansprache durchgeführt. Diese Termine wurden etwa in jeder zweiten Woche durchgeführt. Ergänzend fand im Mai 2007 eine eintägige Nachschulung der Betriebsmitarbeiterinnen für die telefonische Probanden-Ansprache durch eine Mitarbeiterin des BIPS statt.

Zwischen dem Kfz-Hersteller und dem BIPS wurden zudem regelmäßig in einem Turnus von ca. vier Wochen Telefonkonferenzen abgehalten. Inhalt dieser Konferenzen war vornehmlich der Verlauf der Interviews im Werk, der Ablauf der bisherigen Arbeitsschritte sowie die Erörterung und Beseitigung von Problemen, die einem reibungslosen Ablauf der im

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Operationshandbuch festgehaltenen notwendigen Prozeduren im Wege standen. Weiterer Inhalt dieser Konferenzen war die Diskussion von bei der Qualitätssicherung gefundener Auffälligkeiten.

Folgende Qualitätsprüfungen wurden durchgeführt und vor Ort bzw. in den Telefonkonferenzen besprochen:

- Einhaltung der festgelegten Zeitintervalle zwischen den einzelnen Schritten der Kontaktaufnahme (*jeweils 14 Tage*)
- Einhaltung der festgelegten Reihenfolge der Kontaktaufnahme (*1. Anschreiben, 2. Anschreiben, telefonischer Kontakt bzw. 3. Anschreiben, 4. Anschreiben*)
- Einhaltung der festgelegten Intervalle und Zeiten bei der telefonischen Kontaktaufnahme (*mindestens 10 Versuche zu unterschiedlichen Tageszeiten bis 20.00 Uhr, auch am Wochenende*)
- Bearbeitungsstand der Adressrecherche (*Wie viele Anfragen ohne Endstatus? Erinnerungen an Meldeämter notwendig?*)
- Ausfallgründe (*Gründe richtig klassifiziert?*)
- Erfolg bei der telefonischen Kontaktaufnahme (*Verhältnis Zusagen/Absagen; ggfs. Nachschulung*)

2.6.2 Plausibilitätskontrollen

Bereits während des computergestützten Interviews erfolgten automatisch eine Vielzahl von Prüfungen auf Vollständigkeit und Plausibilität. So wurde geprüft, ob alle auszufüllenden Felder ausgefüllt wurden. Für numerische Angaben wurden Wertebereiche vorgegeben. Sobald Unplausibilitäten oder nicht ausgefüllte Felder ermittelt wurden, wurde die Interviewerin durch eine Messagebox darauf hingewiesen, dass und wo etwas zu korrigieren war. Das Interview konnte erst fortgesetzt werden, wenn die entsprechenden Felder plausibel ausgefüllt worden waren oder eine nicht plausible Angabe verifiziert wurde. Tabelle 2-18 zeigt eine Übersicht über die wichtigsten Plausibilitätskontrollen:

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 2-18: Plausibilitätskontrollen während der Durchführung des Interviews

Variable	Plausibilitätsprüfung	Konsequenz der Plausibilitätsprüfung
Studienteilnehmernummer (ID)	Doppelte Eingabe: Prüfung ob identisch eingegeben	Korrekte ID muss erneut zweimal eingegeben werden
alle	Vollständigkeitskontrolle bei Schließen jedes Formulars	Hinweis auf fehlende Werte, Formular wird erst geschlossen, wenn Werte ergänzt wurden
alle	Prüfung bei Abschluss eines Themenkomplexes (Moduls): sind die vorigen Module ausgefüllt?	Vorige Module ausfüllen
Alter bei Beginn/bei Ende eines Ereignisses/einer Phase	Alter Beginn < Alter Ende	Unplausibler Wert muss korrigiert werden
Alter bei einem Ereignis	Automatische Berechnung des Alters bei Angabe des Jahres, in dem ein Ereignis stattfand mit Hilfe des Geburtsdatums	-
Alter bei einem Ereignis	eingegebenes Alter > berechnetes Alter	Korrektur des eingegebenen Alters
Alter bei Berufsbiographie	Wenn <=10 Jahre Hinweis auf Unplausibilität	Korrektur des Alters
Arbeitsstunden/Woche	Bei Werten >50h Hinweis auf Unplausibilität	Die unplausiblen Werte können nach Überprüfung eingegeben werden
Größe des Probanden	Bei Werten <100 oder >215cm Hinweis auf Unplausibilität	Die unplausiblen Werte können nach Überprüfung eingegeben werden
Gewicht des Probanden	Bei Werten <40 oder >200 kg Hinweis auf Unplausibilität	Die unplausiblen Werte können nach Überprüfung eingegeben werden

Bei Import der durchgeführten Interviews in eine gemeinsame Datenbank wurde außerdem geprüft, ob Studienteilnehmer-Nummern mehrfach vergeben wurden. In diesem Fall wurde der Import nicht zugelassen.

2.6.3 Interviewerinnenschulung und -betreuung

Die sorgfältig ausgewählten Interviewerinnen wurden in einer ersten mehrtägigen Schulung mit den Studieninhalten, der Befragungstechnik und den Erhebungsinstrumenten vertraut gemacht. Das Team setzte sich aus erfahrenen im BIPS angestellten Mitarbeiterinnen sowie aus externen freiberuflichen Interviewerinnen zusammen. Im Anschluss an die erste Schulung führten alle Teilnehmerinnen 3-5 Übungsinterviews mit Personen aus dem Bekanntenkreis durch. Um die

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Qualität des Interviews beurteilen und konkrete Rückmeldung geben zu können, wurden Tonaufnahmen angefertigt. Alle Interviewerinnen führten darüber hinaus 5 Probeinterviews mit Studienteilnehmern durch. Anhand dieser Probeinterviews wurde die endgültige Entscheidung über den Einsatz der Interviewerinnen getroffen.

Im Rahmen der Supervision und Qualitätssicherung fanden regelmäßige Interviewerinnentreffen vor Ort an den jeweiligen Interviewstandorten statt, die von der Erhebungsordination des BIPS durchgeführt wurden. Die Interviewerinnenbesprechungen dienten dazu, allgemeine und inhaltliche Fragen zur Interviewdurchführung zu klären. Die Interviewerinnen erhielten zudem regelmäßige schriftliche Rückmeldungen zu offenen Fragen und weitere Informationen in Form so genannter „Interviewerinnen-Infos“.

Ein weiteres wesentliches Qualitätsmerkmal ist die Vermeidung von Interviewerinneneffekten. Deshalb sollten Fall- und Kontrollinterviews von den Interviewerinnen proportional zum Matchingverhältnis von 1:5 durchgeführt werden, so dass jeweils etwa 20% Fallinterviews und 80% Kontrollinterviews durchgeführt werden sollten. Dies wurde regelmäßig geprüft und in der Interviewerinnenbetreuung besprochen. Eine deutliche Abweichung von diesem Standard war nur bei Interviewerin H zu beobachten (Tabelle 2-19). Da Interviewerin H erst in späteren Verlauf der Studie Interviews durchführte und zu diesem Zeitpunkt kaum noch Tumorpatienten zu interviewen waren, ließ sich diese Verteilung nicht beeinflussen. In geringerem Maße trifft die Abweichung auch auf Interviewerin D zu. Sie war nur zu Beginn der Studie in Einsatz. In dieser Zeit hatten überproportional viele Tumorpatienten bereits ihr Einverständnis gegeben hatten und waren deshalb auch frühzeitig interviewt worden.

Tabelle 2-19: Interviews je Interviewerin nach Fall-Kontrollstatus

Interviewerin	Interview mit Tumorpatienten		Interview mit Kontrollpersonen		Gesamt	
	N	%	N	%	N	%
A	74	24,3	230	75,7	304	100
B	45	15,0	254	85,0	299	100
C	18	23,4	59	76,6	77	100
D	15	32,6	31	67,4	46	100
E	0	-	1	100	1	100
F	5	20	20	80	25	100
G	0	-	5	100	5	100
H	48	8,9	491	91,1	539	100
Gesamt	205	15,8	1091	84,2	1296	100

2.6.4 Diagnosesicherung durch Referenzbefundung

Zur Verminderung des Anteils von Fehlklassifikationen von Tumorpatienten wurden die histopathologischen Berichte und histologischen Schnitte bzw. Gewebepblöcke der

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

erstbefundenden Pathologen durch den Referenzpathologen Prof. Dr. med. C. Wittekind, Universitätsklinikum Leipzig, begutachtet

Von den in die Analyse eingeschlossenen 205 Tumorpatienten bzw. deren Angehörigen haben 204 ihr Einverständnis zur Einholung und Untersuchung der Gewebeproben erklärt. Die Gewebeproben wurden von den jeweiligen pathologischen Instituten angefordert und an den Referenzpathologen weitergeleitet.

Nach Möglichkeit sollten alle Fälle anhand der schriftlichen Befunde der erstbefundenden Pathologen und von repräsentativen Gewebeschnitten (ggfs. Gewebeblöcken) beurteilt werden. Die Begutachtung von Fällen ohne histologische Präparate erfolgte auf Basis der schriftlichen histopathologischen Befunde. In einigen Fällen konnte keine sinnvolle Beurteilung durch den Referenzpathologen erfolgen, weil kein histopathologischer Befund (mehr) vorlag.

Da die Präparate 10 Jahre aufbewahrt werden müssen, d.h. ältere Präparate nur mit niedrigerer Wahrscheinlichkeit noch verfügbar waren, ist der Stand aufgeschlüsselt nach Diagnosen vor bzw. ab 1997 (Tabelle 2-20).

Tabelle 2-20: Referenzbefundung

	Diagnose vor 1997	Diagnose ab 1997	Diagnosen gesamt
Befundung von Schnittpräparaten	39	89	128
Befundung von schriftlichen pathologischen Befunden, weil :			
Gewebeproben nicht mehr vorhanden	30	1	31
Gewebeproben trotz mehrfacher Erinnerung nicht erhalten	6	22	28
Summe Referenzbefundungen	75	112	187
Keine Referenzbefundung möglich, weil:			
Befundender Pathologe nicht mehr ermittelbar	3	0	3
Kein histopath. Befund vorliegend	11	4	15
Gesamt	89	116	205

Aufgrund fehlenden Materials konnten nicht alle Tumorpatienten Referenz befundet werden. Die Einstufung, ob es sich um einen „geeigneten“ oder „nicht geeigneten“ Fall handelte, basierte deshalb allein auf den in der Inzidenzstudie erhobenen Klinikbefunden. Die Referenzbefundung diente somit der Beurteilung der Validität des Klinikbefundes.

Für die Beurteilung, ob es sich bei den Referenz befundeten Tumorpatienten tatsächlich um geeignete Fälle handelte oder ob eine aufgrund des Klinikbefundes angenommene Verdachtsdiagnose nicht bestätigt werden konnte, wurde ein Entscheidungsschema zugrunde gelegt (Abbildung 2-7). Waren sich erstbefundender- und Referenzpathologe in ihrer Diagnose einig, war der Fallstatus bestätigt. Kam der Referenzpathologe zu einem anderen Ergebnis als

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

der Hauspathologe, wurde im nächsten Schritt geprüft, wie sicher die Diagnose des Referenzpathologen war: je unsicherer die Diagnose desto wahrscheinlicher die Entscheidung „nicht geeigneter Fall“. Kam der Referenzpathologe zu dem Ergebnis, dass es sich nicht um einen Keimzelltumor handelte, wurde der Tumorpatient als nicht geeigneter Fall eingestuft.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

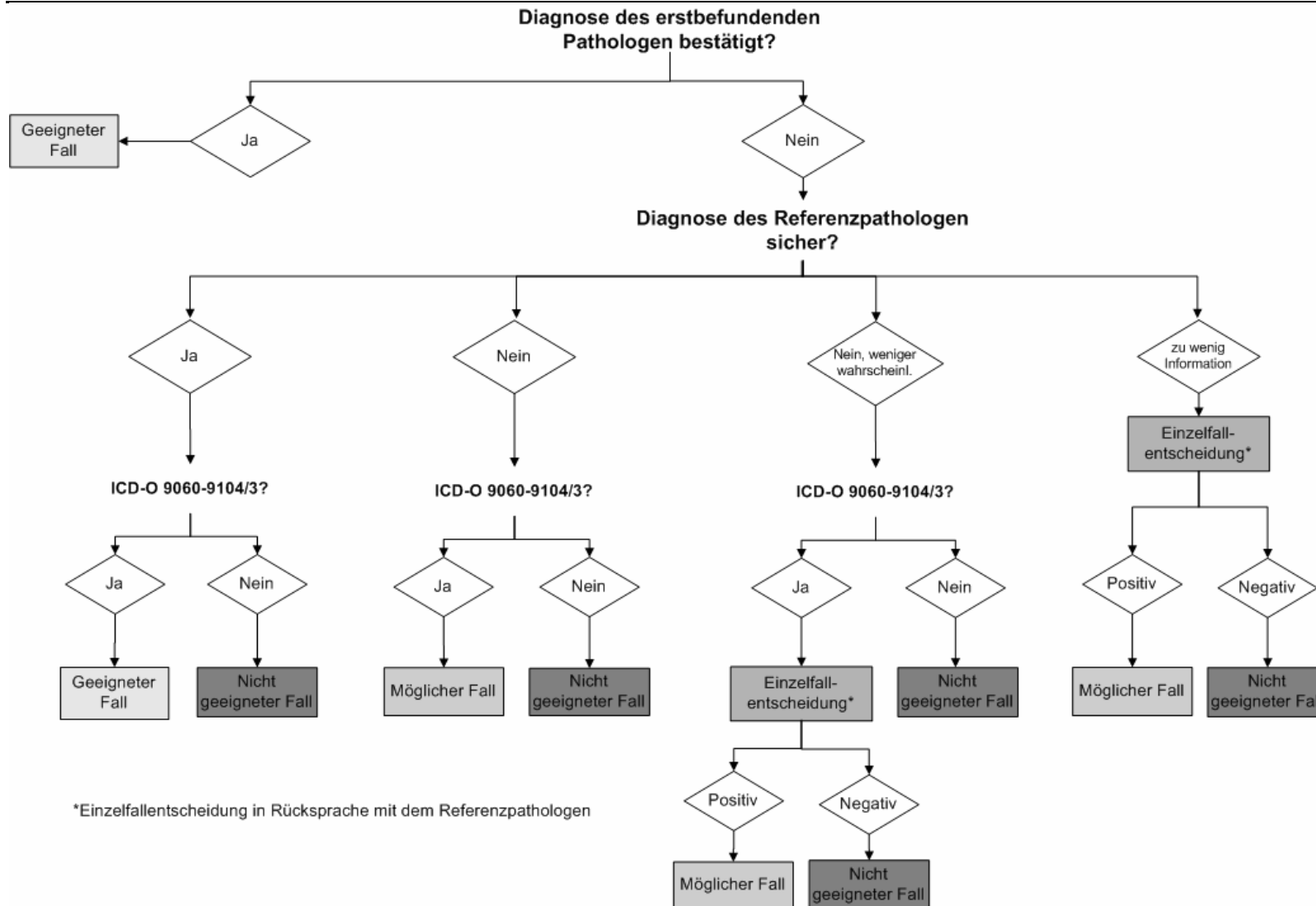


Abbildung 2-7: Entscheidungsschema für die Einstufung oder den Ausschluss als Tumorpatient für diejenigen Tumorpatienten, deren Gewebeproben beurteilt wurden

2.6.5 Re-Interviews

Um die Reliabilität der Fragebogenangaben zu überprüfen wurde mit einer zufällig gewählten Stichprobe von 5% der Studienteilnehmer (N= 71) nach einigen Monaten eine telefonische Nachbefragung für ausgewählte Fragebogen-Abschnitte durchgeführt. Folgende Abschnitte wurden hierbei gefragt:

- Angaben zur Person
- Berufsbiographie
- Gegebenenfalls Einsatz der Zusatzbögen (ZB)
 - Kraftfahrzeugherstellung und -teileproduktion (ZB29)
 - Schweißen und Löten (ZB18)
 - Metallbearbeitung (ZB30)
- Medizinische Anamnese

2.6.6 Recodierungen (Beruf und Branche)

Nach Abschluss der Erstcodierung wurden Berufe und Branchen ohne Kenntnis der Erstcodierung ein zweites Mal codiert. Zur Überprüfung der Reliabilität wurde sichergestellt, dass keine Codiererin denselben Datensatz zweimal verschlüsselte. Bei der Zweitcodierung waren die ursprünglich vergebenen Codes nicht sichtbar. In einem dritten Prüfschritt wurden alle Datensätze, die in den ersten drei Stellen des fünfstelligen Codes in der Erst- und Zweitcodierung nicht übereinstimmen, nochmals überprüft und mit einem endgültigen Schlüssel versehen. Hierbei waren für die Codiererin Erst- und Zweitcodierung sichtbar. Abbildung 2-8 und Abbildung 2-9 zeigen den Aufbau der Codiermasken für Zweit- und Konsenscodierung.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Bitte die Eingabe mit "nächster Satz" verlassen.

HTS

fertige Nachcodierung Berufe und Branchen

Geb.-datum:

ID:

Haupttätigkeit
 von bis von (Alter) bis (Alter)

Phase:
 Codierer:

Firma:
 Standort:
 Wirtschaftszweig / Branche:

Branche: Codevergabe ist:

ausgeübter Beruf:
 Tätigkeit:
 andere Tätigkeit:

Beruf:
 (Ziffern oder xxxxx)

Nebentätigkeit:

Bemerkungen ☐

Nachcodierer: Nachcodier-Datum:
 Nachcodierstatus:

Schulausbildung
 Biographie anzeigen

vorheriger Satz
 nächster Satz
 erster Satz
 letzter Satz

Abbildung 2-8: Aufbau der Maske für die Zweitcodierung der Berufs- und Branchenangaben

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Bitte die Eingabe mit "nächster Satz" verlassen.

HTS

Drittcodierung

Geb.-datum:

ID

Phase

Haupttätigkeit
 von bis von (Alter) bis (Alter)

Firma:
 Standort:
 Wirtschaftszweig / Branche:

Erst-	Zweit	korr. Code	
ap	kw		
85301	80301	80301	sicher
NACE			
01210	01210		
xxxxx	xxxxx		

(Ziffern oder xxxxxx)

ausgeübter Beruf:
 Tätigkeit:
 andere Tätigkeit:

Bemerkung:

Drittcodierer
 Drittcodierung-Datum
 Drittcodierung-Status:

vorheriger Satz

nächster Satz

erster Satz

letzter Satz

Schulausbildung

Biographie anzeigen

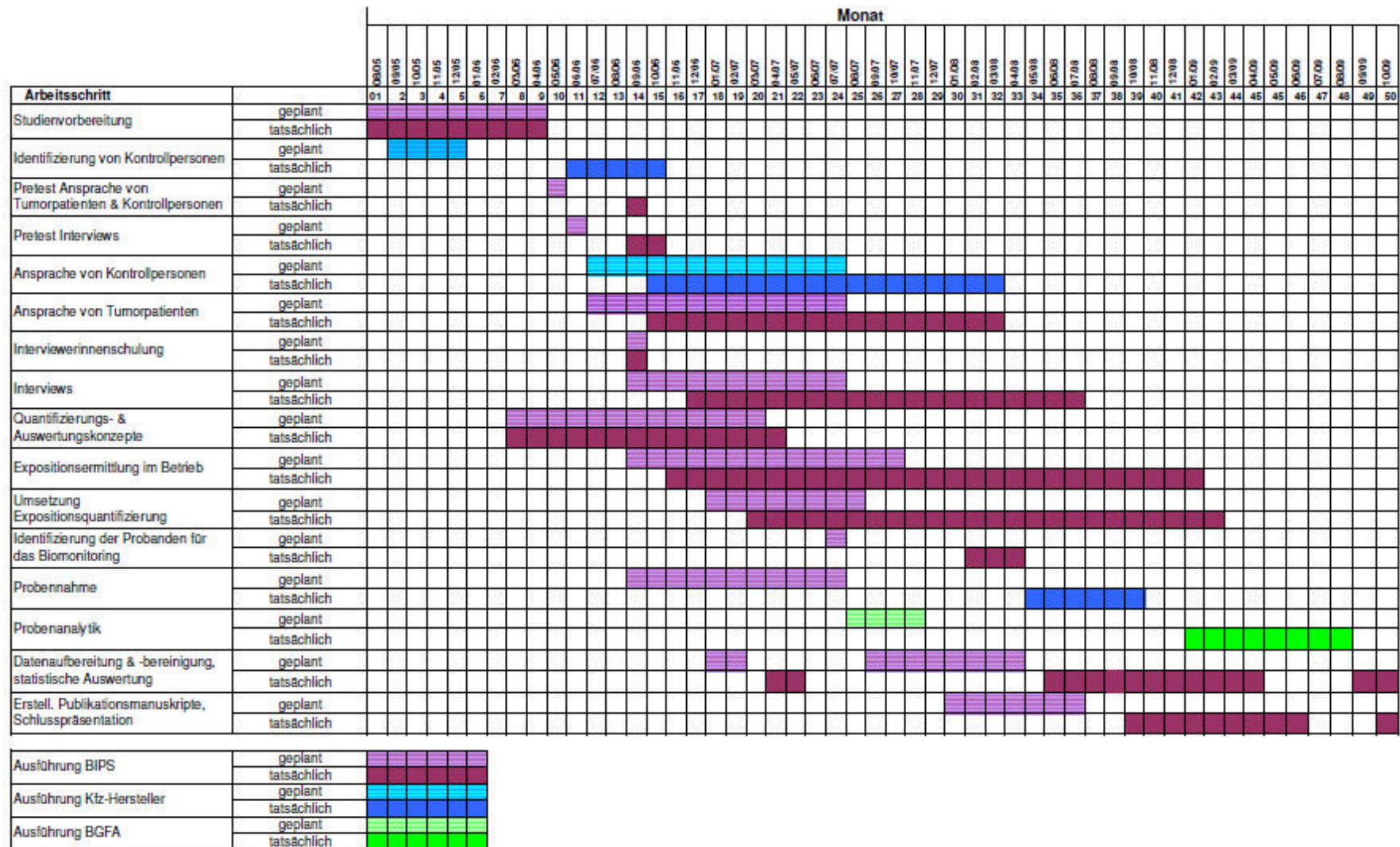
Abbildung 2-9: Aufbau der Maske für die Drittcodierung der Berufs- und Branchenangaben

2.7 Arbeits- und Zeitabläufe des Gesamtprojekts

Die nachfolgende Abbildung stellt die geplanten und tatsächlichen Arbeits- und Zeitabläufe schematisch dar.

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Abbildung 2-10: Schematische Darstellung der geplanten und tatsächlichen Arbeits- und Zeitabläufe



3 Ergebnisse

3.1 Allgemeine Beschreibung der Studienpopulation

In die Studie gehen 205 Tumorpatienten und 1091 Kontrollen ein. Von den 1091 Kontrollen tauchen acht Kontrollen zwei Matched-sets auf. 5 Tumorpatienten wurden als Kontrolle für einen Tumorpatienten mit früherem Diagnosedatum ausgewählt. Die Gesamtanzahl der Kontrollen beträgt somit 1105, das Analysesample 1310 Personen. Es wurden entsprechend der Anzahl der Tumorpatienten 205 Risksets gebildet (Tabelle 3-1). Die Studie wird im 1:n-Matching Verfahren analysiert, wobei das Alter durch das Diagnosedatum des Tumorpatienten im jeweiligen Riskset festgelegt wird.

Tabelle 3-1: Anzahl der Risksets mit jeweiliger Anzahl der Kontrollen pro Tumorpatient

Anzahl Kontrollen pro Tumorpatient	Anzahl Risksets	Anzahl Kontrollen	Anzahl Tumorpatienten und Kontrollen für Analyse
2	1	2	3
3	-	-	-
4	21	84	105
5	107	535	642
6	55	330	385
7	16	112	128
8	4	32	36
10	1	10	11
	205	1105	1310

3.1.1 Alter

Das mittlere Alter bei Diagnose betrug für die Tumorpatienten 35 $\pm$ 8,6 Jahre, das mittlere Alter der Kontrollpersonen zum Diagnosezeitpunkt des gematchten Tumorpatienten betrug ebenfalls 35 $\pm$ 8,6 Jahre. Die Altersverteilung bei Erstdiagnose findet sich in Tabelle 3-2.

Das maximale Alter (66 Jahre Tumorpatienten, 68 Jahre Kontrollen), und das minimale Alter (19 Jahre Tumorpatienten, 18 Jahre Kontrollen) weichen nur wenig voneinander ab.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-2: Altersverteilung bei Erstdiagnose (für Kontrollpersonen: Alter zum Diagnosezeitpunkt des gematchten Tumorpatienten)

Alter [Jahre]	Tumorpatienten (N=205)		Kontrollpersonen (N=1105)	
	N	%	N	%
<20	1	0,49	2	0,18
20 - <30	54	26,34	287	25,97
30 - <40	104	50,73	567	51,31
40 - <50	29	14,15	166	15,02
50 - <60	12	5,85	61	5,52
60 - <70	5	2,44	22	1,99

3.1.2 Diagnosejahr

Für die in die Analysen einbezogenen Tumorpatienten verteilen sich die Erstdiagnosen wie in Abbildung 3-1 angegeben über den Studienzeitraum.

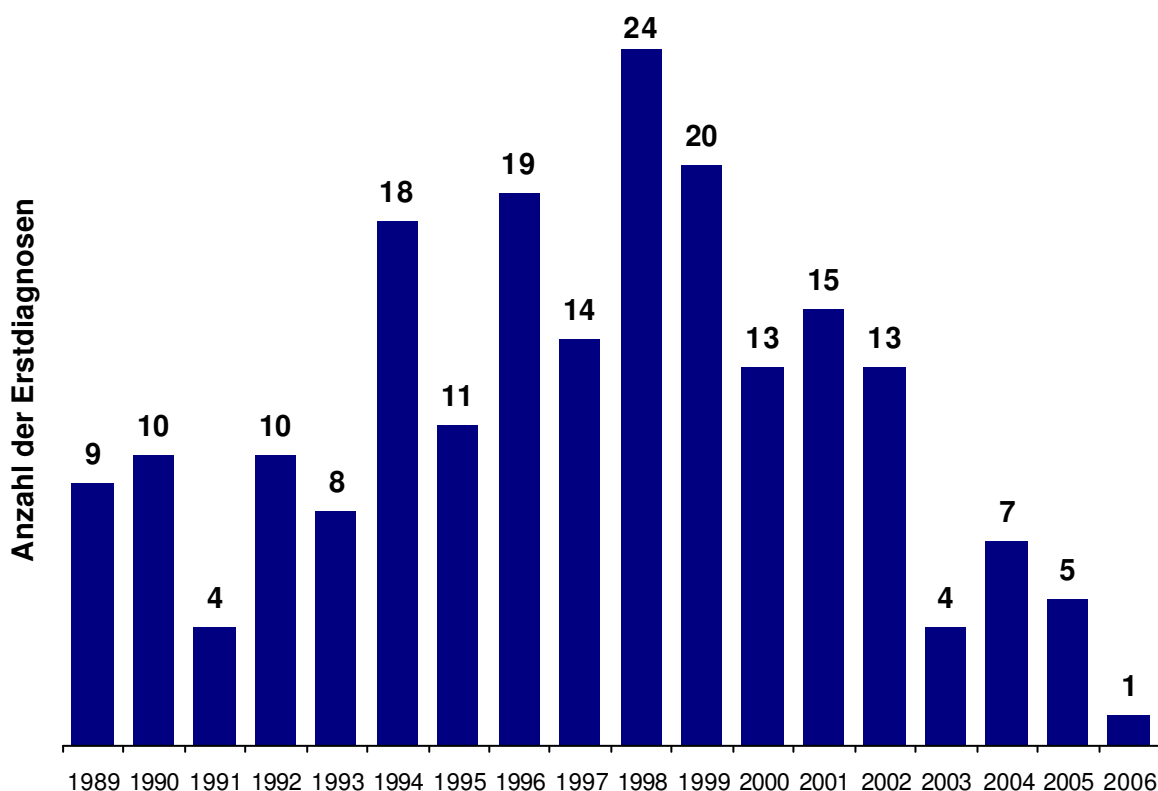


Abbildung 3-1: Verteilung der Erstdiagnosen der in der Studie analysierten Tumorpatienten nach Kalenderjahren

Zwischen Diagnosezeitpunkt und der Durchführung des Interviews lagen für Tumorpatienten maximal 17 Jahre. Im Durchschnitt betrug der Zeitraum zwischen Diagnose und

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Durchführung des Interviews 9,9 Jahre. Bei den Kontrollpersonen lagen maximal 18 Jahre zwischen dem Diagnosezeitpunkt des gematchten Tumorpatienten und der Durchführung des Interviews. Durchschnittlich betrug der Zeitraum hier 10,2 Jahre.

3.1.3 Ergebnis der Referenzbefundung

Für die begutachteten histopathologischen Schnitte/Blöcke von 128 Tumorpatienten ergab sich grundsätzlich eine Diagnosebestätigung entsprechend der Studienkriterien in 126 Fällen (98%). Die Beurteilung von 59 histopathologischen Befunden, zu denen keine Schnitte/Blöcke vorhanden waren, lag zum Zeitpunkt der Berichtserstellung noch nicht vollständig vor. Tabelle 3-3 zeigt die Ergebnisse in der Übersicht.

Tabelle 3-3: Ergebnisse der Referenzbefundung von Schnittpräparaten und histopathologischen Befunden

	Befundung von Gewebeproben	Befundung von histopathologischen Berichten	Gesamt
Bestätigung der Diagnose des erstbefundenden Pathologen	107		
Bestätigung der Diagnose Keimzelltumor, andere feingewebliche Klassifizierung als erstbefundender Pathologe	19		
lt. Referenzbefundung kein Keimzelltumor	2		
Gesamt	128	59	187

3.1.4 Schul- und Berufsausbildung

Die Häufigkeiten des jeweils erreichten höchsten Schulabschlusses und der Berufsausbildung unterscheiden sich nur wenig zwischen Kontrollpersonen und Tumorpatienten (Tabelle 3-4).

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-4: Verteilung von höchster Schul- und Berufsausbildung bei Tumorpatienten und Kontrollpersonen

	Tumorpatienten (N=205)		Kontrollpersonen (N=1105)	
	N	%	N	%
Höchster Schulabschluss				
Hauptschulabschluss / kein Schulabschluss	107	52,20	533	48,24
Realschulabschluss	57	27,80	300	27,15
Allgemeine Hochschulreife / Fachhochschulreife	41	20,00	272	24,62
Höchster Berufsausbildung				
Keine Ausbildung	15	7.32	72	6.52
Handwerkliche /landwirtschaftliche Lehre	121	59.02	647	58.55
Kaufmännische Lehre	12	5.85	67	6.06
Berufsfachschule (Techniker, Handwerksmeister)	24	11.71	129	11.67
Fachhochschule	15	7.32	107	9.68
Universität	18	8.78	83	7.51

3.1.5 Werksstandort

Für eine Berufsphase konnten mehrere Werksstandorte, in denen eine Beschäftigung ausgeführt wurde, benannt werden. Die Verteilungen der Fälle und Kontrollen nach Werkstandorten, sowie die Beschäftigungen, denen außerhalb der Werkskohorte nachgegangen wurde, sind in Tabelle 3-5 aufgeführt. Der größte Unterschied ergab sich für den Standort E, in dem 19,0% der Fälle und 9,1% der Kontrollen jemals gearbeitet haben.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-5: Verteilung der Fälle und Kontrollen nach Werksstandorten in denen jemals einer Beschäftigung nachgegangen wurde.

	Fälle		Kontrollen	
Standort	N	%	N	%
A	79	38,5	498	45,1
B	26	12,7	165	14,9
C	16	7,8	71	6,4
D	21	10,2	163	14,8
E	39	19,0	101	9,1
F	22	10,7	82	7,4
X	5	2,4	18	1,6

X=Firmenstandorte die nicht in der Kohorte aufgeführt sind.

3.1.6 Anzahl der Berufsphasen

Von den Fällen wurden 941 Berufsphasen, von den Kontrollen 5135 Berufsphasen angegeben. Die zentralen Lagewerte der Anzahl der Berufsphasen unterschieden sich für Fälle und Kontrollen nicht. Mittelwert und Median lagen für Fälle und Kontrollen bei 3 Berufsphasen. 75% der Fälle und Kontrollen geben 4 oder weniger Berufe an. Das Maximum für die Anzahl der Berufsphasen lag bei den Fällen bei 11, bei den Kontrollen bei 16 Berufsphasen.

3.1.7 Dauer der Berufsphasen

Die Dauer einer Berufsphase wurde aus der Differenz Jahr (Ende der Beschäftigung) – Jahr (Anfang der Beschäftigung) +0,5 gebildet. Der Summand 0,5 wurde notwendig, da nur das Kalenderjahr des Beginns bzw. des Endes einer Beschäftigung erhoben wurde. Die Dauer einer Berufsphase lag zwischen 0,5 Jahren und 36,5, respektive 41,5 Jahren für Fälle und Kontrollen. Die Lagewerte für die Dauer der Berufsphase (Median 3,5 Jahre für Fälle und Kontrollen, sowie Mittelwert 5,04 für Fälle und 5,24 für Kontrolle) unterschieden sich nicht wesentlich voneinander (t-Test: $p=0,29$).

3.1.8 Interviewdauer

Die Dauer der in die Analyse einbezogenen Interviews lag zwischen 25 und 380 Minuten (Abbildung 3-2). Die zentralen Lagewerte der Verteilung waren bei den Tumorpatienten um 5 Minuten höher als bei den Kontrollen (Median 75,1 vs. 70,2 Minuten; Mittelwert 71,2 vs. 66,1 Minuten). Es bestand ein signifikanter Unterschied der Verteilungen hinsichtlich der Interviewdauer von Tumorpatienten und Kontrollen (t -Wert=-2,48 $p=0,01$).

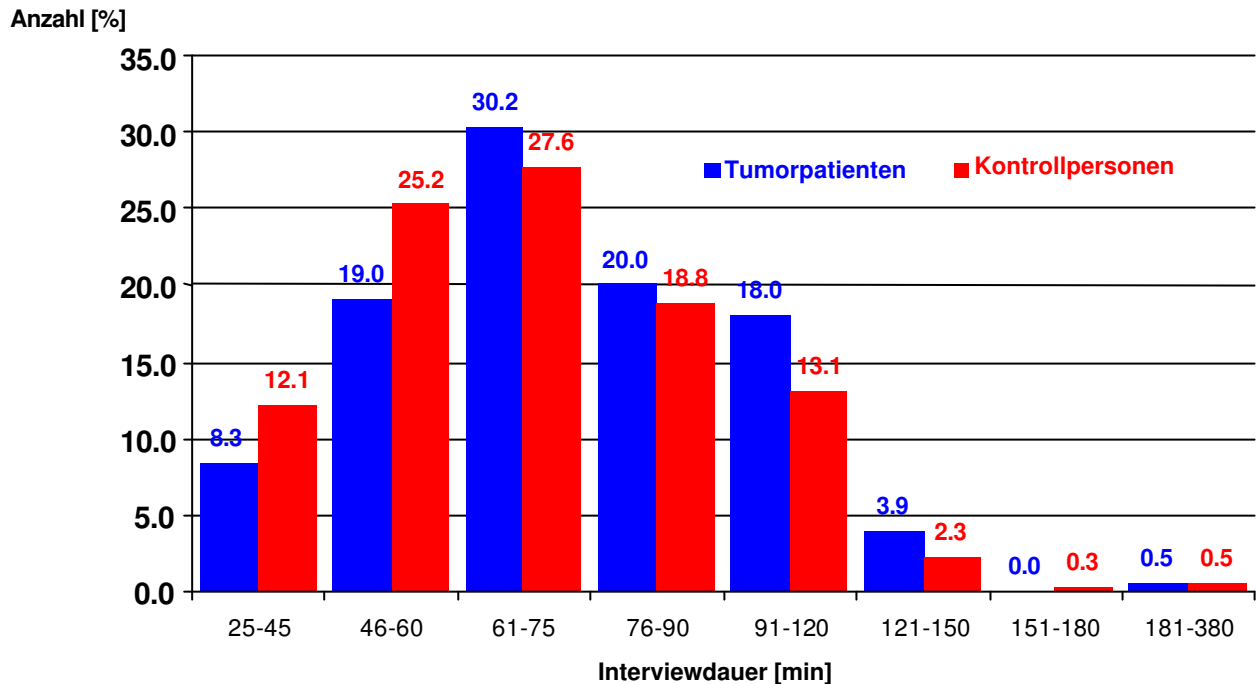


Abbildung 3-2: Verteilung der Interviewdauer für Tumorpatienten und Kontrollpersonen

3.1.9 Interviewqualität

Die wesentlichen Elemente zur Beurteilung der Qualität der Interviews wurden durch die Interviewerinnen in einem Interviewprotokoll festgehalten. Dieses Protokoll wurde nach Ende des Interviews von den Interviewerinnen ausgefüllt. Es enthielt folgende Angaben über das durchgeführte Interview: Datum, Beginn und Ende (Dauer), Art des Interviews (Face to face, telefonisch), Interviewpartner (Indexperson, Ehefrau, Sohn, Tochter etc.), Vollständigkeit, Einschätzung der Zusammenarbeit mit dem/der Befragten, Einschätzung der Qualität des Interviews (inkl. Begründung bei Interviews mit niedriger Qualität, Interviewunterbrechungen (inkl. Grund und Dauer), weitere Bemerkungen der Interviewerinnen.

In Tabelle 3-6 bis Tabelle 3-12 sind einige Kennzahlen für die Qualität der durchgeführten Interviews aufgrund der Angaben im Interviewprotokoll zusammengestellt.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-6: Vollständigkeit des Interviews

Wurde das Interview vollständig durchgeführt?	Anzahl Interviews	%
Ja	1292	99,7
Nein	4	0,3
Gesamt	1296	100

Tabelle 3-7: Zusammenarbeit mit interviewter Person

Die Zusammenarbeit mit der interviewten Person war:	Anzahl Interviews	%
Sehr gut	942	72,6
Gut	272	21,1
Befriedigend	70	5,4
Schlecht	7	0,5
Fehlende Angabe	5	0,4
Gesamt	1296	100

Tabelle 3-8: Subjektive Qualitätseinschätzung durch Interviewerin

Die Qualität des Interviews scheint mir	Anzahl Interviews	%
Zuverlässig	1198	92,4
Nicht/wenig zuverlässig	9	0,7
Teilweise zuverlässig	85	6,6
Fehlende Angabe	4	0,3
Gesamt	1296	100

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-9: Gründe für eingeschränkte Zuverlässigkeit

Der Hauptgrund für wenig bzw. nur teilweise zuverlässige Angaben ist:	Anzahl Interviews	%
Krankheit	2	0,2
Desinteresse	2	0,2
Alter	4	0,3
Verständlichkeit der Fragen	44	3,4
Andere Gründe	42	3,2
Fehlende Angabe des Grundes	4	0,3
Zuverlässige Angaben	1198	92,8
Gesamt	1296	100

Tabelle 3-10: Interview-Unterbrechungen

Verlief das Interview mit Unterbrechungen?	Anzahl Interviews	%
Ja	172	13,3
Nein	1121	86,5
Fehlende Angabe	3	0,2
Gesamt	1296	100

Tabelle 3-11: Dauer der Interviewunterbrechung

Wie lang dauerte die Unterbrechung?	Anzahl Interviews	%
< 1 Stunde	164	12,6
< 24 Stunden	4	0,3
> 24 Stunden	2	0,2
Fehlende Zeitangabe	2	0,2
Keine Unterbrechung bzw. fehlende Angabe zur Frage der Unterbrechung	1124	86,8
Gesamt	1296	100

Tabelle 3-12: Einverständnis mit Audioaufnahme

War der Interviewpartner mit einer Audioaufnahme einverstanden?	Anzahl Interviews	%
Ja	1043	80,5
Nein	253	19,5
Gesamt	1296	100

Die Qualität der Interviews wurde subjektiv von den Interviewerinnen als überwiegend sehr gut eingestuft: 99% der Interviews wurden vollständig geführt. Bei jeweils über 90% der Interviews war die Zusammenarbeit sehr gut bis gut und die Qualität wurde als zuverlässig eingestuft. Gründe für eingeschränkte Zuverlässigkeit waren überwiegend die Verständlichkeit der Fragen. „Andere Gründe“ als Kategorisierung bei eingeschränkter Zuverlässigkeit waren i.d.R. Schwierigkeiten, sich an lange zurückliegende Ereignisse zu erinnern. Eine Unterbrechung des Interviews war bei 13% notwendig, die Unterbrechungen dauerten bis auf sechs Ausnahmen nur wenige Minuten und sind damit als unproblematisch einzustufen.

Für 996 der 1043 mit einer Audioaufnahme einverständenen Probanden liegen Audioaufnahmen vor. Sie wurden aus Qualitätssicherungsgründen (insbesondere in der Anfangsphase der Befragung) stichprobenartig angehört. (Stichprobe: N=54 Interviews). Die Interviewerinnen erhielten schriftliche Rückmeldungen über die Qualität der angehörten Interviews (Fragetechnik, Probing, Stimmlage). Die Audioaufnahmen dienten zudem in der Auswertungsphase dazu, bei unklaren oder unplausiblen Angaben nachträglich Korrekturen in der Interviewdatenbank durchführen zu können.

3.2 Außerberufliche Einflussfaktoren

3.2.1 Anthropometrische Kenngrößen und medizinische Vorgeschichte

Untersuchungen zu Assoziationen zwischen anthropometrischen Kenngrößen bzw. Informationen aus der medizinischen Vorgeschichte und dem Auftreten von Hodentumoren zeigten erhöhte Risikoschätzer für Studienteilnehmer mit Hodentumorerkrankungen bei männlichen Familienangehörigen ersten und zweiten Grads (OR 2,1; 95%-Konfidenzintervall 1,1 – 3,8). Erkrankungen mit positiver Assoziation für Hodentumoren waren Infertilität (OR 1,85, 95%-Konfidenzintervall 1,06 – 3,23), Kryptorchismus (OR 2,53, 95%-Konfidenzintervall 1,53 – 4,20) und die Vorgeschichte eines Pendelhodens (OR 2,17, 95%-Konfidenzintervall 1,21 – 3,91). Die Ergebnisse zur Körpergröße sind in der Quartilsauswertung statistisch auffällig und deuten auf ein erhöhtes Risiko bei groß gewachsenen Studienteilnehmern hin. Der Zeitpunkt des Beginns der Pubertät war nicht mit dem Auftreten eines Hodentumors assoziiert. Als bisher nicht beschriebener möglicher Risikofaktor war das Auftreten von Ekzemen mit einer erhöhten Erkrankungswahrscheinlichkeit für Hodentumoren verbunden.

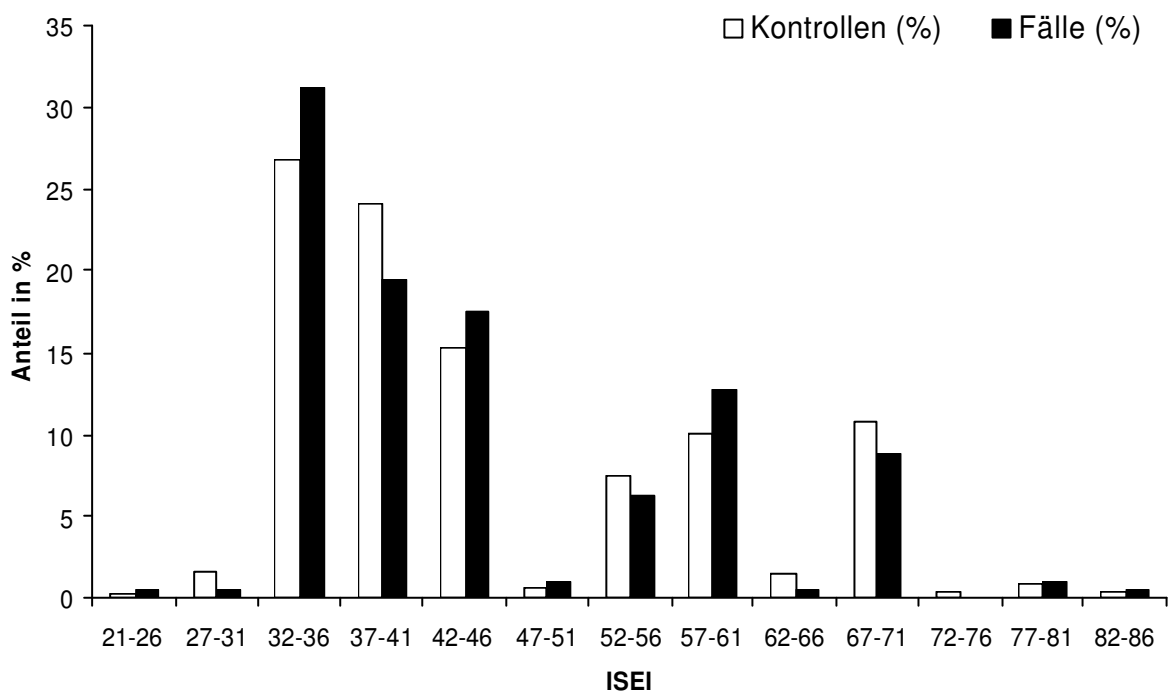
Ein Publikationsmanuskript mit dem Arbeitstitel „Anthropometric measures, medical conditions, onset of puberty and risk of germ cell cancer in a nested case-control study of

male automotive workers“, in dem die Ergebnisse zusammengefasst beschrieben werden, befindet sich in Vorbereitung.

3.2.2 Sozioökonomischer Status

Der sozioökonomische Status (SES) wird in dieser Studie anhand der Berufsbiographie mittels International Socio-Economic Index (ISEI) gemessen. In Abbildung 3-3 ist die Verteilung des während der Berufslaufbahn maximal erreichten ISEI für Fälle und Kontrollen aufgetragen. Der Schwerpunkt der Verteilung konzentriert sich auf den unteren Wertebereich der Skala. 68,3% der Fälle und 66,2% der Kontrollen lagen im Wertebereich zwischen 32 bis 46 Punkten. Die Verteilung zeigte auf nur marginale Unterschiede zwischen Fällen und Kontrollen. Die größte Differenz zwischen Fällen und Kontrollen beträgt 4,6% in der Kategorie 37-41 Punkte.

Abbildung 3-3: Histogramm der Häufigkeit des maximal erreichten ISEI für Fälle und Kontrollen



In Tabelle 3-13 ist die Verteilung der Fälle und Kontrollen auf 5 Kategorien dargestellt. Die Analyse mittels χ^2 -test zeigt keinen statistischen Unterschied ($p=0,5$).

Tabelle 3-13: Verteilung von höchstem erreichten ISEI bei Tumorpatienten und Kontrollpersonen.

	Fälle		Kontrollen	
ISEI	N	%	N	%
21-36	66	32,2	317	28,7
37-41	40	19,5	266	24,1
42-46	36	17,6	169	15,3
47-66	42	20,5	217	19,6
67-86	21	10,2	136	12,3
	205		1105	

3.2.3 Pestizide im Haushalt

Im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie wurden Expositionen gegenüber Pestiziden sowohl im privaten als auch im beruflichen Kontext untersucht. 48,8% der Tumorpatienten und 45,9% der Kontrollpersonen haben jemals im privaten Bereich Pestizide eigenhändig angewendet. Die Untersuchung nach jemals stattgefundener Exposition (Jemals-Niemals-Exposition) zeigte keine Risikoerhöhung für die Pestizidanwendung in Haus oder Garten. In der Haustierhaltung wurde eine Risikoerhöhung (OR=1,4; 95%-Konfidenzintervall 0,98-1,98) beobachtet. Wurde die Exposition gegenüber Pestiziden quantifiziert, zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Pestizidanwendung und dem Auftreten von männlichen Keimzelltumoren. Die Ergebnisse dieser Untersuchung wurden auf der 49. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin 2009 als Poster mit dem Titel „Einsatz von Insektiziden in häuslicher Umgebung und Hodentumorrisiko“ vorgestellt.

3.3 Berufliche Expositionen

3.3.1 Tätigkeiten und Branchen

Die Interviewangaben zur Berufsbiographie im Hauptfragebogen bilden die Grundlage für Untersuchungen zur Frage, inwieweit ausgeübte Tätigkeiten in verschiedenen Berufen und Branchen eine Erkrankungshäufung für Keimzelltumoren innerhalb des Studienkollektivs erklären. Für die Untersuchung wurden die von den Studienteilnehmern berichteten Berufstätigkeiten von mindestens 6 Monaten Länge und die jeweiligen Branchen, in denen diese Tätigkeiten ausgeübt wurden, nach den international gebräuchlichen Klassifikationen „International Standard Classification of Occupations (kurz: ISCO) und „Industrial classification of economic activities“ (kurz: NACE) codiert. Für die Analysen wurden die Codes in 33 Berufsgruppierungen und 35 Branchengruppen zusammengefasst. Die multivariaten logistischen Regressionsanalysen erfolgten für Jemals-Niemals-Expositionen und kumulative Beschäftigungsdauern in den Berufsgruppierungen und Branchengruppen.

Statistisch signifikant erhöhte Odds Ratios ergaben sich für die Berufsgruppierung der Maschinenschlosser, Maschinenmonteure und Präzisionsinstrumentenmacher (OR 1,8, 95%-Konfidenzintervall 1,25 – 2,53) und für „nicht anders klassifizierte Arbeiter“ (OR 2,1, 95%-Konfidenzintervall 1,27 – 3,54). Eine Differenzierung der ersten Berufsgruppierung in Tätigkeiten mit und ohne spanende Metallbearbeitung akzentuierte die Erhöhung der Odds Ratio für Tätigkeiten mit spanender Metallbearbeitung. Für die Berufsgruppierung der Rohrinstallateure, Schweißer und Blech- und Baumetallverformer zeigte sich eine statistisch nicht signifikant erhöhte Odds Ratio (OR 1,4, 95%-Konfidenzintervall 0,99 – 1,95). Subanalysen innerhalb dieser Gruppierung ergaben eine statistisch signifikante Risikoerhöhung für Baumetallverformer und Metallbaumonteure (OR 2,3, 95%-Konfidenzintervall 1,27 – 4,27). Diese Ergebnisse bestätigen frühere Studienergebnisse, die eine Risikoerhöhung für Metallarbeiter beschrieben.

Ausführliche Beschreibungen zur Methode, weiteren Ergebnissen und eine Diskussion der Ergebnisse finden sich im Publikationsmanuskript mit dem Arbeitstitel: „Case-control study of male germ cell tumours nested in a cohort of car manufacturing workers: findings from the occupational history“ im Anhang.

3.3.2 Stoffbezogene Expositionen in der Kfz-Produktion

Die Analyse der stoffspezifischen Exposition wurde mit 186 Tumorpatienten und 988 Kontrollpersonen durchgeführt. Für eine jemals stattgefundene Exposition gegenüber einem der in die JEM aufgenommenen Stoffe konnten keine signifikanten Risikoerhöhungen festgestellt werden. Ein marginal erhöhtes Risiko wurde für eine Exposition gegenüber Epoxidharzen (OR=1,41; 95%-KI 0,95-2,09) und Bisphenol A (OR=1,39 95%-KI 0,93-2,06) festgestellt werden. Eine Exposition gegenüber einem der beiden Stoffe, verknüpft durch eine ODER-Bedingung ergab ein ähnliches Risiko (OR=1,35 95%-KI 0,91-1,99). Die Analyse der gruppierten Expositionen gegenüber Glykolether ergab ein nur moderat erhöhtes Risiko (OR=1,26; 95%-KI 0,90-1,76). Dieses beobachtete moderat erhöhte Risiko für Glykolether wurde durch die Exposition gegenüber dem häufigsten Stoff in dieser Gruppe (EGBE: OR=1,30; 95%-KI 0,93-1,83) bestimmt. Die Analyse der Metalle ergab keine erhöhten Risikoschätzer. Auch die Gruppierung in endokrin bzw. nicht endokrin wirksame Metalle konnte kein erhöhtes Risiko aufdecken (Tabelle 3-14).

Die gefundenen Risiken unterschieden sich bei nach Aufnahmepfad getrennter Analyse nicht wesentlich (Tabelle 3-15). Lediglich das Risiko für die dermale Exposition gegenüber Bisphenol A wurde auffällig (OR=1,47 95%-KI 0,99-2,19) (Tabelle 3-16).

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-14: Verteilungen der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) die jemals gegenüber einer in der JEM erfassten Substanz exponiert waren sowie zugehörige Odds Ratios und 95% Konfidenz-Intervalle (95%-KI).

Substanz	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
	Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Epoxidharze	22.04	16.70	1.41	0.95	2.09
Bisphenol A	21.51	16.50	1.39	0.93	2.06
Epoxidharze und Bisphenol A	22.04	17.41	1.35	0.91	1.99
Dimethylformamid	3.76	2.53	1.41	0.59	3.41
Tributylzinn	0.54	0.30	1.72	0.18	16.59
DEGDME (111-96-6)	1.08	2.43	0.44	0.10	1.88
TEGME (112-35-6)	0.54	0.81	0.76	0.10	6.10
EGEE (110-80-5)	5.38	4.76	1.08	0.52	2.21
EGBE (111-76-2)	34.95	28.04	1.30	0.93	1.83
Glykolether (Gesamt)	35.48	29.35	1.26	0.90	1.76
PVC	25.81	22.67	1.15	0.80	1.65
Phthalate: DIDP	8.06	7.79	1.00	0.56	1.79
Phthalate: DINP	9.14	9.92	0.88	0.51	1.51
Phthalate: DOP	11.29	8.70	1.28	0.77	2.12
Phthalate nicht näher bezeichnet	0.0	0.51			
Phthalate (Gesamt)	25.81	23.58	1.10	0.77	1.57
o-Phenylphenol	0.0	0.30			
Dichlormethan	19.35	15.69	1.28	0.85	1.93
1-Methyl-2-Pyrrolidon	13.44	14.78	0.92	0.58	1.46
Trichlorethylen	1.61	1.52	1.24	0.36	4.31

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
	Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Kobalt	10.75	9.31	1.26	0.75	2.13
Chrom (VI)	16.67	14.88	1.17	0.76	1.80
Nickel	16.67	14.78	1.17	0.76	1.80
Eisen	30.65	28.14	1.16	0.82	1.64
Mangan	14.52	14.27	1.04	0.66	1.64
Aluminium	12.90	12.04	1.12	0.69	1.81
Blei	21.51	17.81	1.28	0.87	1.91
Metalle ohne EDC-Eigenschaften	42.47	37.55	1.24	0.90	1.71
Metalle mit EDC-Eigenschaften	16.67	15.08	1.15	0.75	1.77

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-15: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen), die jemals gegenüber einer bestimmten Substanz inhalativ exponiert waren, und entsprechende Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).

Substanz	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
	Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Epoxidharz	8.20	6.33	1.28	0.70	2.35
Bisphenol A	19.46	15.45	1.30	0.86	1.96
Epoxidharz und Bisphenol A	19.35	15.63	1.27	0.84	1.92
Dimethylformamid	3.76	2.53	1.41	0.59	3.41
DEGDME (111-96-6)	1.08	2.43	0.44	0.10	1.88
TEGME (112-35-6)	0.54	0.51	1.32	0.15	11.32
EGEE (110-80-5)	4.84	3.96	1.20	0.56	2.60
EGBE (111-76-2)	13.41	9.85	1.38	0.82	2.32
Glykolether (Gesamt)	12.90	10.83	1.12	0.69	1.81
PVC	4.88	4.64	1.02	0.46	2.26
Phthalate: DIDP	5.95	6.12	0.95	0.49	1.86
Phthalate: DINP	8.11	9.62	0.79	0.45	1.41
Phthalate: DOP	10.27	8.41	1.19	0.70	2.02
Phthalate: o.n.A.	0	0.51			
Phthalate (Gesamt)	12.37	10.53	1.14	0.70	1.86
o-Phenylphenol	0	0.30			
Dichlormethan	19.35	15.69	1.28	0.85	1.93
1-Methyl-2-Pyrrolidon	13.44	14.78	0.92	0.58	1.46
Trichlorethylen	1.61	1.52	1.24	0.36	4.31

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
	Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Kobalt	10.75	9.31	1.26	0.75	2.13
Chrom (VI)	16.67	14.88	1.17	0.76	1.80
Nickel	16.67	14.78	1.17	0.76	1.80
Eisen	30.65	28.14	1.16	0.82	1.64
Mangan	14.52	14.27	1.04	0.66	1.64
Aluminium	12.90	12.04	1.12	0.69	1.81
Blei	17.49	14.69	1.25	0.82	1.92
Metalle ohne EDC-Eigenschaften	40.32	36.64	1.18	0.86	1.64
Metalle mit EDC-Eigenschaften	16.67	15.08	1.15	0.75	1.77

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-16: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen), die jemals gegenüber einer bestimmten Substanz dermal exponiert waren, Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).

Substanz	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
	Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Epoxidharz	20.65	16.13	1.36	0.91	2.03
Bisphenol A	21.51	15.70	1.47	0.99	2.19
Epoxidharz und Bisphenol A	22.04	17.21	1.37	0.92	2.02
Dimethylformamid	3.76	2.53	1.41	0.59	3.41
Tributylzinn	0.54	0.30	1.72	0.18	16.59
DEGDME (111-96-6)	1.08	2.43	0.44	0.10	1.88
TEGME (112-35-6)	0.54	0.71	0.84	0.10	6.83
EGEE (110-80-5)	5.38	4.76	1.08	0.52	2.21
EGBE (111-76-2)	34.95	27.83	1.31	0.94	1.84
Glykolether (Gesamt)	35.48	29.15	1.27	0.91	1.78
PVC	25.81	22.57	1.16	0.81	1.66
Phthalate: DIDP	7.03	7.61	0.87	0.47	1.62
Phthalate: DINP	9.14	9.21	0.95	0.55	1.63
Phthalate: DOP	11.29	8.60	1.29	0.78	2.14
Phthalate: o.n.A.	0	0.40			
Phthalate (Gesamt)	25.81	23.48	1.10	0.77	1.58
o-Phenylphenol	0	0.30			
Dichlormethan	19.35	15.59	1.30	0.86	1.95
1-Methyl-2-Pyrrolidon	13.44	14.68	0.93	0.58	1.48
Trichlorethylen	1.61	1.52	1.24	0.36	4.31
Blei	19.67	15.20	1.37	0.91	2.08
Metalle ohne EDC-Eigenschaften	19.35	14.98	1.36	0.90	2.05

Die Analyseergebnisse der Spitzen-Intensität sind für den inhalativen (Tabelle 3-17) und den dermalen (Tabelle 3-18) Aufnahmeweg getrennt dargestellt. Es sind die Risikoschätzungen der Spitzen-Intensität der inhalativen sowie dermalen Expositionen für die Substanzen aufgeführt, bei denen für die Gruppe der Tumorpatienten neben der Kategorie 'nicht exponiert' mindestens 2 weitere Expositionsstufen besetzt waren. Für keinen der Stoffe bzw. keine Stoffgruppe war bei inhalativem Aufnahmepfad ein positiver Trend der Risikoschätzer mit ansteigender Spitzen-Intensität zu verzeichnen. Auffällig sind allenfalls die Metalle ohne EDC Eigenschaften, die für die höchste Expositionskategorie ein OR von 1,45 (95%KI 0,93-2,27) erreichten.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-17: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach Spitzen-Intensität bei inhalativer Exposition und entsprechende Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).

Substanz *	Intensität	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Bisphenol A	nicht exponiert	80.65	84.62	1.00	.	.
	niedrig (< 2,5 mg/m³)	13.44	10.32	1.35	0.83	2.18
	mittel (2,5 - 5 mg/m³)	5.91	5.06	1.19	0.59	2.36
	hoch (> 5 mg/m³)	0	0	.	.	.
Epoxidharz und Bisphenol A	nicht exponiert	80.65	84.41	1.00	.	.
	niedrig	13.44	10.43	1.33	0.82	2.16
	mittel	5.91	5.16	1.16	0.58	2.30
	hoch	0	0	.	.	.
Dimethyl- formamid	nicht exponiert	96.24	97.47	1.00	.	.
	niedrig (< 11,5 mg/m³)	3.23	1.82	1.74	0.65	4.63
	mittel (11,5 - 23,88 mg/m³)	0.54	0.71	0.68	0.08	5.60
	hoch (> 23,88 mg/m³)	0	0	.	.	.
EGEE (110-80-5)	nicht exponiert	95.16	96.05	1.00	.	.
	niedrig (< 10 mg/m³)	3.76	2.73	1.32	0.55	3.13
	mittel (10 - 19 mg/m³)	0.54	0	-	0.00	.
	hoch (> 19 mg/m³)	0.54	1.21	0.42	0.05	3.26
Glykolether (Gesamt)	nicht exponiert	87.10	89.17	1.00	.	.
	niedrig	11.83	9.41	1.16	0.70	1.92
	mittel	0.54	0.20	2.92	0.26	32.74
	hoch	0.54	1.21	0.43	0.06	3.31

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Intensität	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Dichlormethan	nicht exponiert	80.65	84.31	1.00	.	.
	niedrig (< 26 mg/m ³)	12.37	7.79	1.56	0.94	2.58
	mittel (26 - 260 mg/m ³)	6.99	7.89	0.98	0.53	1.83
	hoch (> 260 mg/m ³)	0	0	.	.	.
1-Methyl-2-Pyrrolidon	nicht exponiert	86.56	85.22	1.00	.	.
	niedrig (< 8 mg/m ³)	1.08	2.63	0.35	0.08	1.51
	mittel (8 - 80 mg/m ³)	12.37	12.15	1.07	0.66	1.75
	hoch (> 80 mg/m ³)	0	0	.	.	.
Kobalt	nicht exponiert	89.25	90.69	1.00	.	.
	niedrig (< 0,01 mg/m ³)	3.76	3.64	1.23	0.53	2.84
	mittel (0,01 - 0,1 mg/m ³)	6.99	5.67	1.28	0.67	2.45
	hoch (> 0,1 mg/m ³)	0	0	.	.	.
Chrom (VI)	nicht exponiert	83.33	85.12	1.00	.	.
	niedrig (< 0,005 mg/m ³)	5.38	3.85	1.36	0.65	2.84
	mittel (0,005 - 0,05 mg/m ³)	10.22	9.62	1.13	0.67	1.92
	hoch (> 0,05 mg/m ³)	1.08	1.42	0.85	0.19	3.85
Nickel	nicht exponiert	83.33	85.22	1.00	.	.
	niedrig (< 0,005 mg/m ³)	5.38	4.35	1.23	0.59	2.57
	mittel (0,005 - 0,05 mg/m ³)	10.22	9.01	1.19	0.70	2.03
	hoch (> 0,05 mg/m ³)	1.08	1.42	0.87	0.19	3.96
Eisen	nicht exponiert	69.35	71.86	1.00	.	.
	niedrig (< 0,15 mg/m ³)	3.23	2.33	1.54	0.61	3.86
	mittel (0,15 - 1,5 mg/m ³)	9.68	12.45	0.82	0.49	1.40
	hoch (> 1,5 mg/m ³)	17.74	13.36	1.43	0.92	2.22

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Intensität	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Mangan	nicht exponiert	85.48	85.73	1.00	.	.
	niedrig (< 0,05 mg/m³)	2.69	3.34	0.76	0.29	2.00
	mittel (0,05 - 0,5 mg/m³)	11.83	10.93	1.13	0.69	1.87
	hoch (> 0,5 mg/m³)	0	0	.	.	.
Aluminium	nicht exponiert	87.10	87.96	1.00	.	.
	niedrig (< 0,15 mg/m³)	4.30	6.58	0.72	0.34	1.54
	mittel (0,15 - 1,5 mg/m³)	2.15	0.71	2.90	0.83	10.08
	hoch (> 1,5 mg/m³)	6.45	4.76	1.40	0.71	2.76
Metalle ohne EDC-Eigenschaften	nicht exponiert	59.68	63.36	1.00	.	.
	niedrig	12.90	10.63	1.28	0.78	2.08
	mittel	9.68	12.65	0.83	0.49	1.42
	hoch	17.74	13.36	1.45	0.93	2.27
Metalle mit EDC-Eigenschaften	nicht exponiert	83.33	84.92	1.00	.	.
	niedrig	5.38	3.85	1.36	0.65	2.84
	mittel	10.22	9.82	1.11	0.66	1.88
	hoch	1.08	1.42	0.85	0.19	3.84

* Es sind nur die Substanzen aufgeführt, bei denen für die Gruppe der Tumorpatienten neben der Kategorie 'nicht exponiert' mindestens 2 weitere Expositionsstufen besetzt waren.

Für den dermalen Aufnahmeweg gibt es für keinen Stoff bzw. keine Stoffgruppe einen deutlichen positiven Trend mit steigender Spitzen-Intensität. Bisphenol A bleibt zwar hier in der höchsten Expositions-kategorie auffällig (OR=1,43; 95%KI 0,96-2,15), aber da die mittlere Expositions-kategorie nur gering besetzt ist, unterscheidet sich dies Ergebnis praktisch nicht vom Ergebnis der jemals/niemals Analyse. Der Begriff „dermal-aktiv“ steht hier für eine höhere Exposition aufgrund des Umgangs mit Substanzen in unverarbeiteten Arbeitsstoffen im Vergleich zum Begriff „dermal-passiv“, bei dem der Kontakt mit bereits verarbeiteten Arbeitsstoffen der Exposition zugrunde liegt.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-18: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach Spitzen-Intensität bei dermalen Exposition und Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).

Substanz *	Intensität	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Bisphenol A	nicht exponiert	78.49	84.31	1.00	.	.
	dermal-passiv	1.08	0.30	3.43	0.54	21.62
	dermal-aktiv	20.43	15.38	1.43	0.96	2.15
Epoxidharz und Bisphenol A	nicht exponiert	77.96	82.79	1.00	.	.
	dermal-passiv	1.08	0.30	3.36	0.53	21.11
	dermal-aktiv	20.97	16.90	1.33	0.89	1.98
EGBE (111-76-2)	nicht exponiert	65.05	72.17	1.00	.	.
	dermal-passiv	18.82	14.68	1.38	0.91	2.10
	dermal-aktiv	16.13	13.16	1.24	0.78	1.956
Glykolether (Gesamt)	nicht exponiert	64.52	70.85	1.00	.	.
	dermal-passiv	18.82	14.57	1.38	0.91	2.10
	dermal-aktiv	16.67	14.57	1.16	0.74	1.82
PVC	nicht exponiert	74.19	77.43	1.00	.	.
	dermal-passiv	0.54	0.61	0.80	0.09	7.03
	dermal-aktiv	25.27	21.96	1.17	0.81	1.68
Phthalate: DIDP	nicht exponiert	93.01	92.41	1.00	.	.
	dermal-passiv	1.08	0.71	1.41	0.28	7.08
	dermal-aktiv	5.91	6.88	0.81	0.42	1.59
Phthalate: DINP	nicht exponiert	90.86	90.79	1.00	.	.
	dermal-passiv	1.08	0.71	1.46	0.29	7.34
	dermal-aktiv	8.06	8.50	0.90	0.50	1.61

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Intensität	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
1-Methyl-2-Pyrrolidon	nicht exponiert	86.56	85.32	1.00	.	.
	dermal-passiv	1.08	2.23	0.40	0.09	1.73
	dermal-aktiv	12.37	12.45	1.05	0.64	1.70
Blei	nicht exponiert	80.65	85.02	1.00	.	.
	dermal-passiv	1.61	0.91	2.09	0.56	7.77
	dermal-aktiv	17.74	14.07	1.32	0.86	2.02
Metalle ohne EDC-Eigenschaften	nicht exponiert	80.65	85.02	1.00	.	.
	dermal-passiv	1.61	0.91	2.09	0.56	7.77
	dermal-aktiv	17.74	14.07	1.32	0.86	2.02

* Es sind nur die Substanzen aufgeführt, bei denen für die Gruppe der Tumorpatienten neben der Kategorie 'nicht exponiert' mindestens 2 weitere Expositionsstufen besetzt waren.

Bei der Analyse der Dauer (Tabelle 3-19) der stofflichen Exposition zeigte sich für Epoxidharz zunächst ein ansteigendes Risiko mit steigender Dauer und erreichte bei der mittleren Expositions-kategorie (3- 9 Jahre) einen statistisch signifikanten Wert (OR=1,76; 95%KI 1,02-3,05). Dieser Trend setzte sich allerdings nicht für die Dauer 9 Jahre und mehr fort OR=1,23; 95%KI 0,65-2,32). Bei Bisphenol A trat bei der Analyse der Expositionsdauer in keiner Kategorie ein signifikant erhöhtes Risiko auf. Allerdings war mit steigender Expositionsdauer eine marginal positive Assoziation zu verzeichnen. Dimethylformamid war bei der Analyse der Expositionsdauer positiv mit Keimzelltumoren assoziiert. Zwar war die höchste Expositions-kategorie mit einer Dauer von 8.5 Jahren und mehr nicht auswertbar, da in dieser Kategorie keine Tumorpatienten beobachtet wurden, aber in der mittleren Expositions-kategorie (3,5 bis unter 8,5 Jahre) wurde ein OR von 3,48 beobachtet (95%KI 0,98-12,34). Für DOP (Phthalate) trat für die niedrigste Expositions-kategorie (>0 bis unter 1,5 Jahre) ein signifikant erhöhtes Odds Ratio auf (OR=2,39; 95%KI 1,03-5,56). Oberhalb von 1,5 Jahren fielen die Risikoschätzer mit steigender Dauer ab und waren nicht mehr statistisch signifikant. Für Kobalt zeigte sich bei der Dauer ein ähnliches Muster: die niedrigste Kategorie mit einer Expositionsdauer von >0 bis unter 6 Jahren wies ein signifikant erhöhtes Risiko auf (OR=2,52; 95%KI 1,20-5,32) während für 6 Jahre und mehr die Risikoschätzer unauffällig blieben.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-19: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach Dauer der Exposition gegenüber einer bestimmten Substanz und Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).

Substanz *	Dauer [Jahre]	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		Unten	Oben
Epoxidharz	0	77.96	83.30	1.00	.	.
	>0 - <3,0	4.30	3.95	1.15	0.52	2.53
	3,0 - <9,0	10.75	6.68	1.76	1.02	3.05
	>=9.0	6.99	6.07	1.23	0.65	2.32
Bisphenol A	0	78.49	83.50	1.00	.	.
	>0 - <3.5	5.91	5.57	1.09	0.55	2.18
	3.5 - <9.0	8.06	5.36	1.59	0.87	2.93
	>=9.0	7.53	5.57	1.49	0.79	2.83
Epoxidharz und Bisphenol A	0	77.96	82.59	1.00	.	.
	>0 - <4.0	5.91	5.97	1.02	0.52	2.03
	4.0 - <9.0	7.53	5.16	1.57	0.84	2.94
	>=9.0	8.60	6.28	1.49	0.82	2.69
Dimethylformamid	0	96.24	97.47	1.00	.	.
	>0 - <3.5	1.08	0.81	1.51	0.31	7.42
	3.5 - <8.5	2.69	0.61	3.48	0.98	12.34
	>=8.5	.	1.11	0.00	0.00	.
DEGDME (111-96-6)	0	98.92	97.57	1.00	.	.
	>0 - <4.0	.	0.81	0.00	0.00	.
	4.0 - <12.0	0.54	0.71	0.81	0.10	6.69
	>=12.0	0.54	0.91	0.62	0.08	4.94

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Dauer [Jahre]	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		Unten	Oben
EGEE (110-80-5)	0	94.62	95.24	1.00	.	.
	>0 - <2.0	0.54	1.72	0.30	0.04	2.26
	2.0 - <6.0	2.69	1.52	1.67	0.56	4.99
	>=6.0	2.15	1.52	1.45	0.47	4.46
EGBE (111-76-2)	0	65.05	71.96	1.00	.	.
	>0 - <4.0	10.75	8.60	1.35	0.80	2.30
	4.0 - <12.0	12.90	9.51	1.39	0.84	2.30
	>=12.0	11.29	9.92	1.18	0.70	1.99
Glykolether (Gesamt)	0	64.52	70.65	1.00	.	.
	>0 - <4.0	10.75	9.21	1.27	0.75	2.15
	4.0 - <12.0	13.44	9.72	1.41	0.86	2.32
	>=12.0	11.29	10.43	1.12	0.67	1.88
PVC	0	74.19	77.33	1.00	.	.
	>0 - <3.0	8.06	5.77	1.41	0.76	2.61
	3.0 - <9.0	9.14	9.31	0.97	0.56	1.68
	>=9.0	8.60	7.59	1.19	0.67	2.12
Phthalate: DIDP	0	91.94	92.21	1.00	.	.
	>0 - <2.5	4.30	2.13	1.94	0.84	4.47
	2.5 - <5.5	0.54	3.14	0.16	0.02	1.19
	>=5.5	3.23	2.53	1.25	0.49	3.17
Phthalate: DINP	0	91.40	90.08	1.00	.	.
	>0 - <2.5	3.76	2.83	1.25	0.53	2.92
	2.5 - <6.0	1.08	3.95	0.26	0.06	1.11
	>=6.0	3.76	3.14	1.11	0.47	2.59

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Dauer [Jahre]	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		Unten	Oben
Phthalate: DOP	0	88.71	91.30	1.00	.	.
	>0 - <1.5	4.84	2.02	2.39	1.03	5.56
	1.5 - <4.5	3.76	3.24	1.21	0.52	2.78
	>=4.5	2.69	3.44	0.72	0.27	1.91
Phthalate (Gesamt)	0	74.19	76.42	1.00	.	.
	>0 - <3.5	9.14	7.59	1.18	0.67	2.10
	3.5 - <8.5	9.68	7.89	1.24	0.72	2.12
	>=8.5	6.99	8.10	0.87	0.47	1.62
Dichlormethan	0	80.65	84.31	1.00	.	.
	>0 - <3.0	7.53	4.76	1.54	0.82	2.91
	3.0 - <5.5	6.45	4.55	1.48	0.76	2.89
	>=5.5	5.38	6.38	0.91	0.45	1.85
1-Methyl-2-Pyrrolidon	0	86.56	85.22	1.00	.	.
	>0 - <4.0	4.30	3.74	1.16	0.52	2.58
	4.0 - <12.0	6.45	5.67	1.18	0.61	2.28
	>=12.0	2.69	5.36	0.50	0.20	1.29
Trichlorethylen	0	98.39	98.48	1.00	.	.
	>0 - <2.0	0.54	0.40	1.46	0.16	13.15
	2.0 - <10.5	.	0.61	0.00	0.00	.
	>=10.5	1.08	0.51	2.56	0.49	13.25

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Dauer [Jahre]	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		Unten	Oben
Kobalt	0	89.25	90.69	1.00	.	.
	>0 - <6.0	5.91	2.53	2.52	1.20	5.32
	6.0 - <16.0	2.69	3.14	1.00	0.39	2.62
	>=16.0	2.15	3.64	0.59	0.20	1.75
Chrom (VI)	0	83.33	85.12	1.00	.	.
	>0 - <5.0	6.99	4.15	1.75	0.89	3.41
	5.0 - <14.5	5.38	5.57	1.05	0.53	2.11
	>=14.5	4.30	5.16	0.84	0.38	1.85
Nickel	0	83.33	85.22	1.00	.	.
	>0 - <5.0	6.99	4.15	1.76	0.90	3.42
	5.0 - <14.5	5.38	5.47	1.07	0.53	2.15
	>=14.5	4.30	5.16	0.82	0.37	1.81
Eisen	0	69.35	71.86	1.00	.	.
	>0 - <4.0	9.14	8.30	1.17	0.67	2.06
	4.0 - <13.0	14.52	9.72	1.60	1.00	2.56
	>=13.0	6.99	10.12	0.70	0.38	1.32
Mangan	0	85.48	85.73	1.00	.	.
	>0 - <5.0	5.91	4.25	1.39	0.70	2.77
	5.0 - <14.5	4.84	5.06	1.04	0.50	2.15
	>=14.5	3.76	4.96	0.73	0.31	1.68
Aluminium	0	87.10	87.96	1.00	.	.
	>0 - <5.0	5.38	3.54	1.52	0.74	3.14
	5.0 - <13.5	4.30	4.15	1.14	0.52	2.50
	>=13.5	3.23	4.35	0.76	0.31	1.87

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Dauer [Jahre]	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		Unten	Oben
Blei	0	78.49	82.19	1.00	.	.
	>0 - <3.5	6.99	5.67	1.34	0.70	2.57
	3.5 - <8.0	6.45	6.17	1.11	0.58	2.12
	>=8.0	8.06	5.97	1.41	0.78	2.58
Metalle ohne EDC-Eigenschaften	0	57.53	62.45	1.00	.	.
	>0 - <4.0	11.83	10.93	1.18	0.71	1.96
	4.0 - <11.0	16.67	14.07	1.28	0.82	1.99
	>=11.0	13.98	12.55	1.25	0.76	2.05
Metalle mit EDC-Eigenschaften	0	83.33	84.92	1.00	.	.
	>0 - <5.0	6.99	4.25	1.70	0.87	3.31
	5.0 - <14.5	5.38	5.57	1.05	0.52	2.10
	>=14.5	4.30	5.26	0.83	0.38	1.82

* Es sind nur die Substanzen aufgeführt, bei denen für die Gruppe der Tumorpatienten neben der Kategorie '0' mindestens 2 weitere Expositionsstufen besetzt waren.

Der als weiteres Expositionsmaß berechnete kumulative Expositionsindex für inhalative Einwirkungen bezog neben der Dauer auch die Intensität, die anteilige Arbeitszeit und die Wahrscheinlichkeit der stofflichen Exposition als Gewichte mit ein (siehe Abschnitt 2.5.2). Die Analyse dieses Index für Dimethylformamid (Tabelle 3-20) zeigte für die oberste auswertbare Kategorie ein deutlich erhöhtes Risiko (OR=5,07; 95%KI 1,32-19,47). Allerdings war die Gruppe der Exponierten insgesamt nur klein (Tumorpatienten 3,76%, Kontrollpersonen 2,53%). Für Kobalt zeigte sich bei der Analyse des Expositionsindex für die mittlere Expositions-kategorie ein erhöhtes Risiko (OR=2,40; 95%KI 1,19-4,87), wobei die niedrigere und die höhere Expositions-kategorie jeweils unauffällig blieben. Ein ähnliches Bild ergab sich bei der Analyse des Expositionsindex für Aluminium: hier wurde der Risikoschätzer für die mittlere Expositions-kategorie allerdings nicht signifikant (OR=1.97; 95%KI 0,99-3,94).

Für die übrigen Stoffe ergaben die Analysen der Expositionsdauer und des Expositionsindex keine statistisch signifikanten Auffälligkeiten.

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-20: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach stoffspezifischem kumulativem Expositionsindex für inhalative Einwirkung und Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).

Substanz *	Kategorien für kumulativen Index	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Epoxidharz	nicht exponiert	91.94	93.93	1.00	.	.
	niedrig	2.69	1.82	1.44	0.52	4.00
	mittel	3.23	2.13	1.73	0.68	4.44
	hoch	2.15	2.13	0.98	0.33	2.93
Bisphenol A	nicht exponiert	81.72	84.92	1.00	.	.
	niedrig	6.45	4.45	1.42	0.72	2.79
	mittel	6.99	5.36	1.42	0.74	2.71
	hoch	4.84	5.26	0.89	0.42	1.89
Epoxy and Bisphenol A	nicht exponiert	81.18	84.72	1.00	.	.
	niedrig	6.45	4.96	1.28	0.66	2.49
	mittel	5.91	5.26	1.19	0.59	2.36
	hoch	6.45	5.06	1.31	0.67	2.55
Dimethylformamid	nicht exponiert	96.24	97.57	1.00	.	.
	niedrig	1.08	0.81	1.14	0.23	5.81
	mittel	2.69	0.51	5.07	1.32	19.47
	hoch	.	1.11	0.00	0.00	.
DEGDME (111-96-6)	nicht exponiert	98.92	97.57	1.00	.	.
	niedrig	.	0.71	0.00	0.00	.
	mittel	0.54	0.81	0.61	0.07	5.06
	hoch	0.54	0.91	0.60	0.08	4.72

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Kategorien für kumulativen Index	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
EGEE (110-80-5)	nicht exponiert	95.16	96.46	1.00	.	.
	niedrig	1.61	1.11	1.51	0.41	5.54
	mittel	1.61	1.21	1.23	0.33	4.52
	hoch	1.61	1.21	1.32	0.37	4.73
EGBE (111-76-2)	nicht exponiert	88.71	91.60	1.00	.	.
	niedrig	4.30	2.63	1.60	0.70	3.64
	mittel	3.76	2.83	1.07	0.45	2.53
	hoch	3.23	2.94	1.11	0.45	2.76
Glykolether (Gesamt)	nicht exponiert	87.63	89.98	1.00	.	.
	niedrig	3.76	3.34	1.09	0.46	2.57
	mittel	4.84	3.24	1.31	0.60	2.86
	hoch	3.76	3.44	1.07	0.46	2.47
PVC	nicht exponiert	95.70	95.85	1.00	.	.
	niedrig	1.61	0.71	2.52	0.61	10.39
	mittel	1.61	1.42	0.97	0.27	3.50
	hoch	1.08	2.02	0.47	0.11	2.05
Phthalate: DIDP	nicht exponiert	96.24	94.43	1.00	.	.
	niedrig	0.54	1.92	0.28	0.04	2.11
	mittel	1.08	1.92	0.48	0.11	2.12
	hoch	2.15	1.72	1.25	0.42	3.72
Phthalate: DINP	nicht exponiert	94.62	90.89	1.00	.	.
	niedrig	0.54	2.83	0.17	0.02	1.27
	mittel	2.69	2.63	0.93	0.35	2.51
	hoch	2.15	3.64	0.54	0.19	1.54

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Kategorien für kumulativen Index	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Phthalate: DOP	nicht exponiert	91.94	92.11	1.00	.	.
	niedrig	2.69	2.33	1.03	0.38	2.80
	mittel	3.76	2.63	1.34	0.57	3.19
	hoch	1.61	2.94	0.53	0.16	1.80
Phthalate (Gesamt)	nicht exponiert	89.78	90.08	1.00	.	.
	niedrig	5.38	2.53	1.98	0.92	4.23
	mittel	2.69	3.85	0.67	0.26	1.74
	hoch	2.15	3.54	0.56	0.19	1.61
Dichlormethan	nicht exponiert	81.72	84.62	1.00	.	.
	niedrig	7.53	4.55	1.61	0.85	3.04
	mittel	6.45	5.36	1.19	0.61	2.31
	hoch	4.30	5.47	0.88	0.41	1.91
1-Methyl-2-Pyrrolidon	nicht exponiert	86.56	85.22	1.00	.	.
	niedrig	4.30	4.86	0.81	0.38	1.75
	mittel	2.15	5.06	0.44	0.16	1.27
	hoch	6.99	4.86	1.49	0.79	2.81
Trichlorethylen	nicht exponiert	98.92	98.68	1.00	.	.
	niedrig	0.54	0.30	1.87	0.19	18.08
	mittel	.	0.61	0.00	0.00	.
	hoch	0.54	0.40	1.54	0.17	13.84

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Kategorien für kumulativen Index	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Kobalt	nicht exponiert	89.25	90.69	1.00	.	.
	niedrig	2.69	3.14	1.00	0.38	2.62
	mittel	6.45	2.73	2.40	1.19	4.87
	hoch	1.61	3.44	0.50	0.15	1.68
Chrom (VI)	nicht exponiert	83.33	85.12	1.00	.	.
	niedrig	6.45	4.66	1.41	0.71	2.78
	mittel	5.38	5.26	1.08	0.53	2.19
	hoch	4.84	4.96	1.04	0.49	2.20
Nickel	nicht exponiert	83.33	85.22	1.00	.	.
	niedrig	6.99	4.55	1.58	0.81	3.07
	mittel	4.30	5.36	0.83	0.39	1.79
	hoch	5.38	4.86	1.18	0.57	2.42
Eisen	nicht exponiert	69.35	71.86	1.00	.	.
	niedrig	9.68	9.41	1.09	0.64	1.87
	mittel	9.68	9.72	1.05	0.60	1.84
	hoch	11.29	9.01	1.34	0.79	2.26
Mangan	nicht exponiert	85.48	85.73	1.00	.	.
	niedrig	3.23	4.86	0.67	0.28	1.61
	mittel	6.45	4.45	1.46	0.75	2.86
	hoch	4.84	4.96	1.03	0.49	2.16
Aluminium	nicht exponiert	87.10	87.96	1.00	.	.
	niedrig	1.61	4.45	0.37	0.11	1.23
	mittel	6.45	3.54	1.97	0.99	3.94
	hoch	4.84	4.05	1.26	0.60	2.68

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Substanz *	Kategorien für kumulativen Index	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
		Fälle N=186	Kontrollen N=988		unten	oben
Blei	nicht exponiert	83.33	85.63	1.00	.	.
	niedrig	4.30	4.96	0.89	0.41	1.94
	mittel	5.38	4.86	1.20	0.58	2.52
	hoch	6.99	4.55	1.56	0.82	2.96
Metalle ohne EDC-Eigenschaften	nicht exponiert	60.22	63.56	1.00	.	.
	niedrig	12.90	12.04	1.14	0.70	1.85
	mittel	12.90	12.45	1.08	0.66	1.75
	hoch	13.98	11.94	1.30	0.80	2.12
Metalle mit EDC-Eigenschaften	nicht exponiert	83.33	84.92	1.00	.	.
	niedrig	5.91	4.86	1.22	0.61	2.46
	mittel	5.38	5.16	1.12	0.56	2.27
	hoch	5.38	5.06	1.11	0.54	2.30

* Es sind nur die Substanzen aufgeführt, bei denen für die Gruppe der Tumorpatienten neben der Kategorie 'nicht exponiert' mindestens 2 weitere Expositionsstufen besetzt waren.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

In Tabelle 3-21 sind die Ergebnisse zur EMF-Exposition zusammengestellt. Für keines der eingesetzten Expositionsmaße ergab sich eine auffällige Risikoerhöhung für EMF-exponierte Personen.

Tabelle 3-21: Verteilung der Tumorpatienten (Fälle) und Kontrollpersonen (Kontrollen) nach EMF Exposition und entsprechende Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervallen (95%-KI).

EMF	Exponierte [%]		Odds Ratio	95%-KI	
	Fälle N=186	Kontrollen N=988		Unten	Oben
nicht exponiert	87.10	89.17	1.00	.	.
jemals exponiert	12.90	10.83	1.20	0.75	1.94
Spitzen-Intensität					
niedrig	1.08	0.71	1.40	0.28	7.04
mittel	2.15	2.83	0.81	0.28	2.34
hoch	9.68	7.29	1.33	0.77	2.29
Dauer der Exposition					
>0 - <3 Jahre	4.30	3.14	1.27	0.57	2.83
3 - <8 Jahre	4.30	3.54	1.31	0.59	2.89
8 und mehr Jahre	4.30	4.15	1.06	0.48	2.33
Kategorien für kumulativen Expositionsindex					
niedrig	5.38	3.34	1.60	0.77	3.34
mittel	2.69	3.95	0.66	0.25	1.71
hoch	4.84	3.44	1.48	0.69	3.17

3.3.3 Stoffbezogene Expositionen außerhalb der Kfz-Produktion

Insbesondere der Werksstandort mit der höchsten Erkrankungshäufigkeit in der vorausgehenden Inzidenzstudie liegt in einer landwirtschaftlich geprägten Region. In weiteren Analysen wurde daher untersucht, ob frühere oder begleitende berufliche Tätigkeiten in Landwirtschaft und Forstwirtschaft und damit verbundene mögliche Expositionen z.B. gegenüber Pflanzenschutzmitteln, Holzschutzmitteln, Desinfektionsmitteln und Düngemitteln die erhöhte Erkrankungshäufigkeit innerhalb der Studienkohorte erklären können. Für die Analysen wurden die Angaben aus den Zusatzfragebögen „Landwirtschaft, Gärtnereien, Grünflächen, Floristik“, „Landwirtschaftliche Viehhaltung“, „Forstwirtschaft“, Holzbe- und -verarbeitung“, „Gerbereien“ und „Schlachten, Fleischverarbeitung“ herangezogen. Bei möglichen Expositionen gegenüber Pflanzenschutzmitteln wurde unterschieden zwischen Expositionen aufgrund der eigenhändigen Anwendung und Expositionen als so genannter „Bystander“, also durch die Anwesenheit während der Anwendung von Pflanzenschutzmitteln durch andere Personen. Berücksichtigung fanden alle Expositionen bzw. Beschäftigungen während des gesamten Erwerbslebens.

Die Prävalenz landwirtschaftlicher und forstwirtschaftlicher Tätigkeiten war mit 5,7 % deutlich niedriger als ursprünglich erwartet, so dass die statistische Power zur Aufdeckung von Risiken in diesem Bereich stark eingeschränkt war.

Statistisch nicht signifikant erhöhte Odds Ratios fanden sich für Beschäftigungen in der Forstwirtschaft (OR 1,74, 95%-Konfidenzintervall 0,47 – 6,38), Umgang mit Sperrholz (OR 1,43, 95%-Konfidenzintervall 0,64 – 3,20), Umgang mit beschichtetem Holz (OR 1,37, 95%-Konfidenzintervall 0,49 – 3,85) und für Expositionen gegenüber wasserlöslichen Holzschutzmitteln auf Salzbasis (OR 2,30, 95%-Konfidenzintervall 0,58 – 9,11). Für Expositionen gegenüber Pflanzenschutzmitteln, Düngemitteln und Desinfektionsmitteln ergaben sich keine erhöhten Odds Ratios. Die erhöhte Erkrankungsinzidenz im Studienkollektiv ist somit nicht auf frühere oder begleitende Tätigkeiten in Landwirtschaft oder Forstwirtschaft zurückzuführen.

Weitere Informationen zu den Analysen und die detaillierten Ergebnisse werden im Publikationsmanuskript mit dem Arbeitstitel „No association of germ cell cancer with activities and exposures in farming and forestry in a nested case-control study of male car workers in Germany“ im Anhang präsentiert.

4 Schlussfolgerungen

In der Fall-Kontrollstudie wurde kein erhöhtes Risiko für das Auftreten von männlichen Keimzelltumoren bei beruflichen Expositionen gegenüber elektromagnetischen Feldern festgestellt. Dagegen deutete sich ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für verschiedene Gruppen von Metallarbeitern an, insbesondere wenn diese in der spanenden Metallbearbeitung tätig waren. Auch für Expositionen gegenüber Bisphenol A, Epoxydharzen, dem Glykolether (EGBE) und Dimethylformamid, welche mit einer östrogenen Aktivität in Verbindung gebracht werden, bestehen Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang, ohne jedoch statistische Signifikanz zu erreichen.

Da die Expositionsprävalenz für eine Pestizidexposition bzw. frühere oder berufsbegleitende landwirtschaftliche Tätigkeiten niedrig war, konnte die Erkrankungshäufung in der Kohorte nicht auf diese Expositionen zurückgeführt werden.

5 Publikationen und Vorträge

Schmeißer N, Mester B, Behrens T, Langner I, Gottlieb A, Ahrens W. Association of germ cell cancer with activities and exposures in farming and forestry in a nested case-control study of male metalworkers in Germany. 4. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Epidemiologie, 16.-19. September 2009, Münster

Langner I; Schmeißer N; Mester B; Gottlieb A; Behrens T; Ahrens W (2009). Nested case control study on male germ cell tumours in metal workers: analysis of occupational history. 4. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Epidemiologie (DGEpi), 16.-19. September 2009, Münster,

Ahrens W; Mester B; Schmeißer N; Langner I; Behrens T (2009). Männliche Keimzelltumoren in der Kfz-Produktion - Eine eingebettete Fall-Kontrollstudie. 54. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie (GMDS), 7.-10. September 2009, Essen

Schmeißer N, Mester B, Ahrens W (2009): Einsatz von Insektiziden in häuslicher Umgebung und Hodentumorrisiko. 49. Wissenschaftliche Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. (DGAUM), 11. – 14. März 2009, Aachen.

Ahrens W, Mester B, Schmeißer N, Langner I, Behrens T (2009): Männliche Keimzelltumoren in der Metallindustrie – erste Ergebnisse einer eingebetteten Fall-Kontroll-Studie. 49. Wissenschaftliche Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. (DGAUM), 11. – 14. März 2009, Aachen.

Mester B, Schmeißer N, Lünzmann H, Ahrens W (2008): Übereinstimmung von Expositionseinschätzung durch automatische JEM-Abfrage und individuelle Experteneinstufung und Konsequenzen für die Methodenwahl in einem abgestuften Einstufungskonzept. 3. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Epidemiologie (DGEpi), 24. – 27. September 2008, Bielefeld.

Mester B, Schmeißer N, Ahrens (2007): Endocrine disruptors in the metalworking industry – exposue assessment and –quantification for epidemiological studies. The 19th International Conference on Epidemiology in Occupational Health (EPICOH), 9. – 12. Oktober 2007, Banff, Kanada (Abstract publiziert in Occup Environ Med 64: e16.)

Mester B, Schmeißer N, Ahrens W (2007): Endokrine Disruptoren in der Metallindustrie – Expositionsermittlung und –quantifizierung für epidemiologische Studien. Kongress „Medizin und Gesellschaft“. Prävention und Versorgung innovativ-qualitätsgesichert-sozial. Gemeinsame Jahrestagung der DGEpi, DGSM, GMDS, DGMS, MDK Bayern, bayer. Landesgesundheitsamt, 17. – 21. September 2007, Augsburg.

Gottlieb A (2006): Eingebettete Fall-Kontroll-Studie zu Risikofaktoren von Hodentumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion: Organisation der Datenerhebung. Treffen des Ausschusses für Arbeitssicherheit, Gesundheit und Umwelt eines Kfz-Betriebes, 21. April 2006.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Gottlieb A (2006): Eingebettete Fall-Kontroll-Studie zu Risikofaktoren von Hodentumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion: Organisation der Datenerhebung. Treffen der leitenden Werksärzte eines Kfz-Betriebes, 7. März 2006.

Ahrens W (2006): Übersicht über die Hodentumor-Studie. Treffen des Ausschusses für Arbeitssicherheit, Gesundheit und Umwelt eines Kfz-Betriebes, 21. April 2006.

Ahrens W (2006): Eingebettete Fall-Kontrollstudie Hodentumoren. Vorstandssitzung der Arbeitsgemeinschaft „Urologische Onkologie“, 24. März 2006.

Ahrens W (2006): Übersicht über die Hodentumor-Studie. Treffen der leitenden Werksärzte eines Kfz-Betriebes, 7. März 2006.

Behrens T, Pesch B, Peplies J, Taeger D, Gottlieb A, Brüning T, Ahrens W (2006): Epidemiologie der Keimzelltumoren des Hodens. Umweltmed Forsch Prax. 11 (3): 142 – 156.

6 Anhang

- a. Publikationsmanuskript “Development and evaluation of a tool for retrospective exposure assessment of selected endocrine disrupting chemicals and EMF in the metal working industry”
- b. Publikationsmanuskript “Case-control study of male germ cell tumours nested in a cohort of car manufacturing workers: findings from the occupational history”
- c. Publikationsmanuskript “No association of germ cell cancer with activities and exposures in farming and forestry in a nested case-control study of male car workers in Germany”

Type of manuscript: Original research article

Title :

Development and evaluation of a tool for retrospective exposure assessment of selected endocrine disrupting chemicals and EMF in the metal working industry

Running title: Exposure assessment in the metalworking industry

Authors and affiliation:

First author: Birte Mester

Co-authors: Nils Schmeißer,
Hauke Lünzmann,
Hermann Pohlabein,
Ingo Langner,
Thomas Behrens,
Wolfgang Ahrens

Affiliation: Bremen Institute for Prevention Research and Social Medicine (BIPS),
Bremen University, Bremen, Germany

Address for correspondence:

: Wolfgang Ahrens
Bremen Institute for Prevention and Social Medicine (BIPS)
University of Bremen
Linzer Strasse 10
28359 Bremen
Germany
Tel: 0421/5959639
Fax: 0421/5959665
E-mail: schulte@bips.uni-bremen.de

Keywords: occupational exposure, job-exposure matrix, individual expert exposure assessment, endocrine disrupting chemicals

ABSTRACT

A concept for retrospective occupational exposure assessment of endocrine disrupting chemicals was developed by an interdisciplinary expert panel in a case-control study on testicular cancer nested in the metal working industries. This concept combines an automatic exposure estimation by a newly developed industry-specific job exposure matrix (JEM) with a subsequent individual expert exposure assessment (IEEA). The JEM was evaluated by comparing exposure estimations by the JEM with the IEEA for a sub-sample of study-participants. Most important determinants of disagreement between JEM-estimation and IEEA are working outside the production line, such as maintenance, research and development (disagreement 80%), low probability in automatic exposure estimation for jobs inside production line (disagreement 25%) and automatic exposure estimations depending on specific activities for jobs inside production line (disagreement 32%). These determinants defined selection criteria for all job periods, which were included into the subsequent IEEA. The prevalence of the most frequent exposures phthalates, bisphenol A and cadmium were 19%, 33% and 0% according to the JEM-estimation after IEEA. The concept of automatic exposure assessment by JEM allowed for a substantial reduction of workload for the individual expert assessment by sorting out non-exposed job periods and job periods with high probability of exposure which do not need expert assessment.

INTRODUCTION

In the late 1990ies we observed a cluster of testicular cancer among workers in the car industry. An excess risk in workers above the age of 50 years as compared to data from cancer registries suggested an influence of exposures at the workplace or other risk factors acting later in life. Epidemiological studies support the hypothesis of an elevated testicular cancer risk for employees in the metalworking industries (Rhomborg et al., 1995, Hobbesland et al., 1999, Pollan et al., 2001, Walschaerts et al., 2007). The spectrum of exposures in the metal working industry is broad. It covers metal dusts and fumes, various solvents used as cleaning agents, as well as glues, resins, paints, lacquers and coatings. Many agents that metal workers are exposed to nowadays have endocrine disrupting properties. These are, among others, bisphenol A, phthalates and alkylphenols, which are found in coatings, glues, disinfectants, cleaners, and plastic products. Also, some metals like cadmium and cobalt are discussed to act as endocrine disruptors.

Endocrine disrupting chemicals (EDC) are exogenous substances or mixtures that may alter functions of the endocrine system and consequently may cause adverse health effects in an intact organism or its progeny. Concerns about possible health effects of EDC have been growing over the last two decades. The list of human health effects discussed to be associated with exposure to EDC is long and contains, among others, a decline in human sperm quality, a decline in sex ratio with fewer males, the development of abnormalities of the reproductive tract, endometriosis and precocious puberty. In this context, an increased risk for different cancer types is also discussed: breast cancer, endometrial cancer, thyroid cancer, prostate cancer, and testicular cancer (Damstra et al., 2002, Sikka and Wang, 2008).

Knowledge on magnitude and relevance of occupational human exposure to EDC is very limited. No standard tools for the retrospective assessment of occupational exposure to endocrine disruptors are available to date. Study participants will hardly recall specific chemical names of products or single chemical components of complex mixtures. EDC are often present in complex working materials such that employees are unaware of these exposures. Nearly ubiquitously present at low, but

possibly relevant levels with manifold routes of exposure, assessment and quantification of exposure to EDC is a very difficult task.

Classic ways to retrospectively assess exposure include job title and industry as exposure proxies, job-exposure matrices (JEM), and individual expert assessment of exposure. All of these have advantages and weaknesses. Occupation and/ or industry data are usually reported accurately, but specific agents often cannot be clearly identified. JEMs, especially non-specific JEMs, do not account for within job variation, and many of them exhibit a low validity (Teschke, 2003). Frequently, expert exposure assessment is seen as a gold-standard in retrospective exposure assessment, but quality of exposure estimation depends on the experts' underlying information and familiarity with the field of interest (Teschke, 2003). Moreover, individual expert exposure assessment is expensive, but may reduce the required sample size due to lower misclassification rates (Siemiatycki et al., 1989).

To reduce the impact of these weaknesses and to retrospectively assess occupational exposures to some selected EDC and other working agents in a nested case-control-study with about 1300 participants, we developed a concept that combined different techniques of exposure assessment. The following requirements had to be met:

- ability of (semi-)quantitative exposure estimation for single or combined exposures on an individual level and
- feasibility within the German occupational safety and health system where no defined profession for occupational hygienists exists.

The concept was applied to a case-control study of testicular cancer nested in a cohort of employees in the car industry. This study offered possibilities to optimize exposure assessment procedures by restriction to an industry-specific research field and by access to industry-specific data. A group of safety and health experts acquainted with production processes and chemicals used in this industry worked together to support the entire process of exposure assessment.

In this article we describe a novel industry-specific concept of retrospective occupational exposure assessment for electromagnetic fields (EMF), selected EDC

and other workplace exposures possibly related to testicular cancer. We evaluate the performance of a JEM in comparison to an individual exposure assessment (IEEA) by industrial hygiene experts and present the exposure prevalence for various EDC. Finally, the overall workload of this process is assessed.

METHODS

The case-control study was nested in a cohort of German car manufacturing workers. The case-control study covers 205 testicular cancer cases and 1092 control subjects matched by age, who were employed in the industry at January 1st 1989, or who entered the cohort between January 1st 1989 and December 31st 2002 and were employed for at least six months. Eligible cases were cohort members with newly diagnosed testicular cancer in the period between 1989 and 2006. Control subjects were male cohort members without a diagnosis of testicular cancer until the date of diagnosis of the matched case.

We restricted the individual expert exposure assessment (IEEA) to selected study participants and job periods where exposure to the agents of interest could not be ruled out a priori. The first screening of job periods for possible exposures was performed by a JEM which was developed for this purpose.

The single steps of the exposure assessment concept are depicted in Fig. 1. Information obtained by a computer-based questionnaire provided the input for the industry-specific JEM to differentiate between (*probably*) non-exposed and (*possibly*) exposed study participants. To improve the specificity of the final exposure assessment, an IEEA was performed for selected and, according to the JEM-estimation, possibly exposed study participants and job periods with low probability of exposure. Selection criteria for job periods to be assessed by the IEEA were derived from a subset of 1580 job periods by comparing JEM-estimation with the IEEA.

Development of the individual tools of this exposure assessment concept included the following steps which are described in detail below:

1. Establishment of an expert panel for the exposure assessment (EA-panel),

2. Selection of relevant exposures,
3. Development of the questionnaire,
4. Development of the JEM,
5. Linkage of interview data with the JEM,
6. Derivation of selection criteria for the IEEA,
7. Selection of job periods for IEEA, and
8. IEEA for selected job periods in the case-control study.

Establishment of an expert panel for the exposure assessment (EA-panel)

We established an interdisciplinary working group with occupational safety and health professionals from the car manufacturing industry, from the institutions for statutory accident insurance and prevention (*Berufsgenossenschaft, BG*) and from university. The EA-panel included four members from a company of the car manufacturing industry. These were one chemist engaged in industrial hygiene (IH), one safety engineer and two industrial engineers. The EA-panel was complemented by company-employees with exposure- or process-specific knowledge who had access to different company-databases with information of working materials used and IH data. On part of the *Berufsgenossenschaft from the metal working sector of industry*, two engineers working as technical inspectors supported the EA-panel and provided access to a huge industrial hygiene measurement database of hazardous substances called MEGA (Stamm, 2000). From the university of Bremen two members, one occupational physician and one epidemiologist and biologist, coordinated the work and contributed expertise in epidemiology and occupational health. A computer scientist programmed the JEM and developed the databases for the IEEA in close collaboration with the panel. The EA-panel contributed to all steps from the development of the exposure assessment concept to development of the JEM and questionnaires and the IEEA.

Selection of relevant exposures

As a first step, we identified EDC and other working agents by a literature review that were of interest with respect to the development of testicular cancer (Behrens et al., 2006). From this list of substances we selected those agents

- that are present in the metalworking industry and
- for which exposure information was available to the members of the EA-panel.

Table 1 lists all agents that were entered in the exposure assessment process.

Exposure assessment for EMF was done in the same way. Relevant EMF-exposures in the studied plants occurred during welding and in induction-hardening.

Development of the JEM

First, dimensions defining the cells of the JEM were determined. On the job axis the EA-panel created 232 job codes with comparable exposure conditions. The time axis was divided into intervals that were in agreement with the years with major changes of production processes and/ or used materials. On average, two to three substance-specific exposure periods were defined between 1945 and 2007. Exposure intensity (three categories – low, medium, high) was categorized semi-quantitatively. We used substance-specific criteria depending on existing threshold values, if existent, for the classification. Probability was a qualitative dimension with four categories: “typical” meaning 100% of workers in a particular job are exposed, “likely”= more than 50%, but not 100% of workers in a job category are exposed and “possible”= up to 50% of workers are exposed. The fourth category “depending on specific activity within job code” was used for exposures arising from specific activities, such as usage of a single lacquer. In addition, the JEM included the route of exposure to distinguish between dermal and respiratory exposure. To allow for future updates of the JEM, the source of information on which a given entry was based (IH data, personal judgement, company data on formulations) was recorded as an additional dimension.

Because the confidence that the experts had in their judgements varied and the available data on which judgement was based differed in both quantity and quality, we introduced an indicator for the quality of the JEM-rating as an additional qualitative variable. Finally, exposure to EMF and the 24 substances listed in Table 1 was rated and entered into the JEM for the 232 job codes. Hereby we created 625 positive exposure ratings in our JEM (Table 2).

Table 3 lists the source of information on which the exposure rating of the JEM was based.

Development of questionnaires

Personal information in our case-control study was obtained by a standardized computer-aided face-to-face interview. The main questionnaire was structured into five sections: (1) occupational biography for all jobs held for at least six months, with a detailed description of each job task (free text), (2) occupational use of pesticides and wood preservatives, (3) information about private and (4) occupational exposure to EMF and (5) a checklist of 38 jobs or industries with possible exposure to agents of interest.

If a study participant reported a job from the checklist, a job specific questionnaire (JSQ) was employed during the interview (in total 38 job-specific questionnaires). Each JSQ solicited detailed information about the working area, the performed tasks and the use of working materials. The JSQ for the car-manufacturing industry (JSQ No. 29) had to be used for every study participant. This JSQ provided the input for the JEM by soliciting information about occupations in the same 232 work fields that were employed as job codes in the JEM. This JSQ and the JEM were developed in parallel with support by the EA-panel.

Automatic exposure-estimation by the JEM

By linkage of interview-information of JSQ No. 29 and the JEM an automatic exposure-estimation for working periods in the car-manufacturing industry was accomplished which resulted in individual exposure-estimates for all study

participants. Each individual exposure record entailed the agent, the calendar year, the intensity, route, frequency and probability of exposure, as well as the quality of corresponding JEM-exposure-rating by job code.

Selection of job periods for individual expert exposure assessment

To define criteria for selection of job periods, which should be included in the IEEA in our case-control study, the EA-panel reviewed results of the automatic JEM exposure-estimation for a sub-sample of study subjects. The sub-sample was drawn as a random sample of study-participants with positive JEM exposure estimates. Study-participants with JEM exposure estimates from job periods outside of the production line, such as maintenance or research and development, were oversampled. The sub-sample included 78 study participants (21 from inside of production line and 57 from outside of production line) with 1580 exposure estimation records. The review was performed by relating every personal exposure record to interview-obtained information of the corresponding job-period. The interview information included reported working tasks and agents used during the work process. As a result of the IEEA, agreement with the rating by the JEM was classified as “exposure estimation confirmed in all aspects”, “exposure estimation modified in intensity, frequency and/or probability” or “exposure negated”.

Statistical analysis

To determine the effect of characteristics of the exposure classification of exposure probability, the quality of the JEM-rating, the exposure intensity and other dimensions of the JEM, we estimated odds ratios (OR) and 95%-confidence-intervals (95%-CI) by logistic regression using SAS (Version 8.2). In these models the chance that an JEM exposure estimation had to be negated was analyzed. The outcome “exposure negated” was therefore compared with the pooled category of “exposure estimation confirmed in all aspects” and “exposure estimation modified”. An OR above 1 indicates that more JEM-records were negated by the IEEA than in the reference group. An OR below 1 indicates that less JEM-records were negated by IEEA.

Individual expert exposure assessment for selected job periods in the case-control study

We decided that agreement below 80% between JEM and IEEA with regard to the dimensions “job code”, “probability of exposure”, “quality of exposure”, “end of exposure”, “intensity of exposure” and “agent” qualified for a detailed IEEA. These included jobs outside of the production line, of low probability of exposure and with exposure depending on specific activity with the job code.

Workload

The exposure assessment was completed by the EA-panel in 23 full-day meetings. The time of the working meetings was spent on the different tasks as follows:

- general considerations of study-design and feasibility (two meetings),
- development of JEM and development of corresponding questionnaire (seven meetings),
- IEEA for 1580 exposure records of the sub-sample of study-participants and definition of selection criteria (ten meetings), and
- IEEA for selected job periods in the case-control study (four meetings).

Organisation of the panel meetings, coordination of single work packages like provision, processing and management of data and additional individual exposure assessment in consultation with EA panel members was done by study staff.

RESULTS

Prevalence of exposures in the case-control study

The automatic exposure estimation by linkage of the individual interview data and the JEM identified 317 study participants as never being exposed to any substance or EMF. The automatic exposure estimation by the JEM assessed 31818 job periods with exposure (table 7).

Most exposure estimates in the case-control study pertained to metals. But also exposure estimates to epoxy resins, PVC, bisphenol A, dichloromethane, *N*-methylpyrrolidone and the glycol ether EGBE involved more than one third of the study participants.

For metal exposure most automatic JEM-estimates indicated high exposure probability and low or medium exposure intensity. According to the automatic JEM-estimation all identified EMF exposure periods are of high exposure probability and high exposure intensity. Also, intensity by dermal contact to bisphenol A, epoxy resins and PVC is supposed to be high for a considerable proportion of exposure periods. For the other agents intensity and probability of exposure is low or medium according to the JEM.

Selection of job periods for individual expert exposure assessment

The EA review showed that probability and quality of exposure were no strong determinants of agreement between the exposure classification of the JEM and the IEEA (Table 4).

The influence of different dimensions of the JEM on agreement between and individual exposure assessment is shown in Table 5.

A job code outside the production line, e.g. occupation in maintenance, research and development and other services, turned out to be a major determinant for refutation of the JEM as compared to the IEEA (OR 21.8; 95%-CI 16.11 - 29.41). The variable "Quality of exposure rating" by JEM was not associated with degree of agreement (Table 5).

The variable "Probability of exposure" of the JEM also showed a statistically significant association with refutation by the IEEA, albeit a clear trend with decreasing probability was not observed (Table 5). However, the effect showed a consistent trend by probability for job codes inside the production line: "possible" probability displayed an OR of 6.54 (95%-CI 1.43 – 29.94) and "likely" probability an OR of 1.11 (95%-CI 0.39 – 3.20) (Table 6).

The calendar period when exposure ended was also associated with agreement between IEEA and JEM. Exposure ending before 1990 was negated less frequently than exposure ending after 2001 (reference), while exposure ending between 1991

and 2000 were negated more frequently (Table 5). When restricted to job codes within the production line, both, exposures ending between 1991 and 2000 as well as those ending between 1981 and 1990 were negated twice as often as exposures ending after 2001 (Table 6).

Exposure intensities classified as “medium” or “high” intensity were less often negated than exposures with “low” intensity (Table 5).

Bisphenol A exposure was less often negated by the IEEA than exposure to metal dusts and fumes (reference). Phthalate exposure was more often rejected than exposure to metal dusts and fumes (Table 5). EMF-exposure showed the best agreement between JEM estimation and individual exposure assessment (21 records, 0 negations).

Individual expert exposure assessment for selected job periods in the case-control study

Based on the IEEA review of the random sample of study subjects the criteria for the selection of job periods were derived as described in the methods section. This concerned 793 out of 1,297 study participants in the case-control study including 1,195 job periods with exposure classified as possible, 7,432 job periods with exposure classified as depending on specific activities and 6,467 job periods having job codes outside the production line. In total, 15,094 out of 31,818 job periods with exposure assessed by the JEM had to be reassessed by the IEEA according to our criteria. Job periods assessed as not exposed by the JEM (N=51,334) and job periods assessed as probable or typical by the JEM (N=18,480) were not assessed by the IEEA.

Corresponding to JEM exposure prevalences, the majority of exposure estimates processed by the IEEA for the 793 study participants were to metals, N-methyl-pyrrolidone, dichloromethane, bisphenol A, epoxy resins and glycol ether EGBE (Table 8). Depending on the agent, the proportion of study-participants assessed as exposed by the JEM who were assessed by the IEEA ranged between 51% and 100%. The proportion of job periods included in IEEA of exposed job periods

according to JEM ranges between 33% and 78%. According to our selection criteria no job periods with respiratory exposure to PVC or epoxy resins or exposure to EMF had to be assessed by the IEEA.

A major proportion of JEM-exposure classifications was not confirmed by the IEEA. For substances with high exposure prevalence the proportion of confirmed exposures ranged from 8% (EGBE) to 37% (bisphenol A). The percentage of confirmation varies notably between metals, it was particularly low for exposures related to working with high-grade steel. Confirmation is rare if exposure depends on working with high-grade steel.

IEEA exposure prevalence for all agents was markedly reduced. After the IEEA the number of study participants not exposed to any agent or EMF almost doubled from 317 to 595.

DISCUSSION

We employed different tools of exposure assessment techniques in a stepwise manner. By combining the JEM-assessment with an individual expert exposure assessment, exposure assessment benefits from the effectiveness of an automated industry-specific JEM, and simultaneously compensates for the inability of a JEM to account for within-job variation. Bouyer and Hemon (1993) emphasized that assessment by a JEM and expert assessment do not mutually exclude each other and that the systematic comparison between those two could benefit both methods. Nam and co-workers suggested that one way to improve the exposure assessment process for asbestos could be the combination of self-reported and professionally assessed exposure by IEEA (Nam et al., 2005).

In the present nested case-control study a combination of individual expert exposure assessment and self-reported exposure is not feasible because specific EDCs which are present in a great variety of working substances will hardly be correctly recalled by the majority of study subjects. In this situation, a combination of JEM estimations and of individual exposure assessment appears to be a more promising approach.

To combine both methods we used a sensitive JEM to search for possible exposures in a first step. In order to improve specificity we performed an individual exposure assessment by experts for those job periods for which exposure estimates were to be considered unreliable in a second step.

Selection criteria have been worked out by an evaluation of our industry-specific JEM in a sub-sample of study participants. We compared the automatic JEM exposure classification with the IEEA on the basis of 1580 job periods. Working outside the production line, such as maintenance, research and development, was the most important determinant of disagreement between JEM-estimation and IEEA. Exposure within these job codes may vary profoundly even within individuals who change their job activities on a daily basis. To improve the individual expert exposure assessment for workers from outside of the production line, the development of job specific questionnaire modules for these jobs would allow for more precise exposure estimations in future studies.

For job periods inside the production line, probability of exposure according to the JEM estimation was the most important determinant of agreement. This was in accordance with our assumption at the beginning of the study.

We found that agreement between JEM and IEEA was particularly high for EMF exposure. A possible explanation is that many job code-specific measurement results were available to develop the automated exposure assessment by the JEM. In general, a JEM should be based on a sufficient amount of measured data (Fevotte et al., 2006; de Vocht et al., 2008). We relied on measurements from a large industrial hygiene database which was made available to us particularly for the purpose of this study. We also had access to measured data from company databases, as well as information about working materials and products and detailed manufacturing procedures. Access to these data was rendered due to the cooperation in an interdisciplinary EA-panel that included company and insurance representatives, as well as other experts from the industry in which the case-control study was nested. We learnt that measurements collected for other purposes than epidemiological research can aid in the exposure assessment. It would be of high priority to enable scientists to routinely use such data, for example via restricted access policies.

In our analysis exposure estimates of job periods ending between 1980 and 2000 were more frequently refuted by IEEA as compared to exposure estimates for job periods ending prior to 1980 and after 2000. One possible reason for this observation is that the interview information for job periods ending prior to 1980 was too ambiguous to assign more precise exposure estimates in the IEEA. Another explanation for the lower disagreement before 1980 could be that the members of the IEEA panel were less acquainted with the production processes in the early years while the lower disagreement after 2000 could be due to the fact, that the JEM was most suitable for the most recent past as it was constructed for the actual structure of the production process.

Summarizing, an individual expert exposure assessment as provided in our exposure assessment concept is required when the within-job variability is high and when additional information from interview data is available to derive more reliable exposure estimates. This was the case in jobs outside of the production line and also inside the production line when the exposure probability was considered to be low. By these selection criteria 15,094 exposure estimates of 793 study participants had to be included into the individual exposure assessment.

Most exposures were to metals. But also exposure to solvents, bisphenol A and EGBE affected a large number of study participants. Exposure prevalences may not be generalized to all workers working in the metal industry outside the car industry. Applying the combined exposure assessment method the exposure prevalence to most agents was markedly reduced after the IEEA. This should result in less misclassification and a higher specificity. The importance of a high specificity in exposure assessment in case control studies has been previously described (Ahrens et al. 2008).

In general, it appears to be an effective and efficient way to combine the exposure assessment by a JEM with a subsequent. Possible alternative ways for exposure assessment in our study were the exclusive usage of either a JEM or an IEEA for each study participant. In contrast to the JEM for EDC (van Tongeren et al. 2002), our JEM was restricted to one specific industry which may facilitate improvements in

the exposure assessment process (Louik et al. 2000, Teschke et al. 2002). Nevertheless, our experience with validating JEM estimations by individual exposure assessment procedures point towards a general weakness of JEMs that are merely based on semi-quantitative exposure estimates. On the other hand individual exposure assessment for every study participant in this study was not feasible since it would have meant individual exposure assessment for 1297 participants exposed to 25 agents each, i.e. 32,425 participant-agent combinations. This number would increase further to account for different job periods and changing in exposure conditions over time.

In this study the individual exposure assessment of a sub-sample to define selection criteria for later IEEA took the main part of the working time of the EA-panel. The criteria definition resulted in the selection of 793 study participants out of 980 study participants that were classified as exposed by the JEM. It should be considered whether all exposed study participants should be reassessed by individual expert exposure assessment. By doing this, not only working time for defining selection criteria would have been saved, but also a possible selection bias would likely be diminished.

The development of the tools of this EA-concept and the communication of epidemiological thinking to members of the EA-panel also took a considerable part of working time of the EA-panel. Nevertheless, close collaboration in such a panel during development of study instruments appears to be a promising approach. The members in the EA panel had a professional interest in the studied industry and were therefore able to contribute to the development of the exposure assessment concept and its tools and also benefitted from the bilateral exchange of knowledge for their own routine.

CONCLUSION

Retrospective occupational exposure assessment is considered to be one of the most challenging tasks in studies in the field of occupational epidemiology. Our concept of exposure assessment in the car-manufacturing industry offered the chance to combine advantages of two classical exposure assessment methods, namely the effectiveness of job-exposure matrices and the precision of an individual expert exposure assessment.

A large degree of misclassification by the the JEM estimation for job periods in occupations outside of the production line was observed. Exposure had therefore to be reassessed by an additional individual expert exposure assessment for all these job periods. Our concept allowed a substantial reduction of workload for the individual expert assessment by sorting out non-exposed job periods and job periods with high probability of exposure by the JEM for which an expert assessment is not needed.

One possibility to improve retrospective occupational exposure assessment in manufacturing like the car industry would be the development of job specific questionnaires for occupations outside the production line. Routine access to measurement data from industry or measurement institutions should be also made available for scientific purposes to facilitate and to improve retrospective exposure assessment in future studies.

FUNDING

Acknowledgement

This work was funded by the “Vereinigung der Metall-Berufsgenossenschaften” and the “German Social Accident Insurance” (DGUV). We received supplementary funding from the company, where the project was performed. We are independent from the company in study design, access to the collected data, responsibility for data analysis and interpretation, and the right to publish. The views expressed in this paper are those of the authors and not necessarily those of the above sponsors. We are grateful to the study subjects who agreed to report their occupational history and other lifestyle factors in a detailed interview.

REFERENCES

Ahrens W, Behrens T, Mester B, Schmeisser N (2008): Epidemiologie in der Arbeitswelt. [Occupational epidemiology] Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 51(3) 255-265

Behrens T, Pesch B, Peplies J, Taeger D, Gottlieb A, Brüning T, Ahrens W. (2006) Epidemiologie der Keimzelltumoren des Hodens. [Epidemiology of testicular germ cell tumors] Umweltmed Forsch Prax; 11 142-156.

Bouyer J, Hemon D. (1993) Studying the performance of a job exposure matrix. Int J Epidemiol; 22 S65-S71.

Damstra T, Barlow S, Bergman A, Kavlock R, Van der Kraak G, editors. (2002) International Programme on chemical safety. Global Assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. World Health Organisation. Available from: URL: http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/.

De Vocht F, Sobala W, Peplonska B, Wilczynska U, Gromiec J, Szeszenia-Dabrowska N, Kromhout H. (2008) Elaboration of a quantitative job-exposure matrix

for historical exposure to airborne exposures in the Polish rubber industry. *Am J Ind Med*; 51(11) 852-860.

Fevotte J, Charbotel B, Muller-Beaute P, Martin J-L, Hours M, Bergeret A. (2006) Case-control study on renal cell cancer and occupational exposure to Trichlorethylene. Part I: exposure assessment. *Ann Occup Hyg*; 50 765 – 775.

Hobbesland A, Kjuus H, Thelle DS. (1999) Study of cancer incidence among 8530 male workers in eight Norwegian plants producing ferrosilicon and silicon metal. *Occup Environ Med*; 56 625-631.

Louik C, Frumkin H, Ellenbecker MJ, Goldman RH, Werler MM, Mitchell AA. (2000) Use of a job-exposure matrix to assess occupational exposures in relation to birth defects. *J Occup Environ Med*; 42 693-703.

Nam J, Rice C, Gail MH. (2005) Comparison of asbestos exposure assessments by next-of-kin respondents, by occupational hygienist, and by a job-exposure matrix from the National Occupational Hazard Survey. *Am J Ind Med*; 47 443 – 450.

Pollan M, Gustavsson P, Cano MI. (2001) Incidence of testicular cancer and occupation among Swedish men gainfully employed in 1970. *Ann Epidemiol*; 11 554-562.

Rhomberg W, Schmoll HJ, Schneider B. (1995) High frequency of metalworkers among patients with seminomatous tumors of the testis: a case-control study. *Am J Ind Med*; 28 79-87.

Siemiatycki J, Dewar R, Richardson L. (1989) Costs and statistical power associated with five methods of collecting occupation exposure information for population-based case-control studies. *Am J Epidemiol*; 130 1236-1246.

Sikka SC, Wang R. (2008) Endocrine disruptors and estrogenic effects on male reproductive axis. *Asian J Androl*; 10 134-145.

Stamm R. (2000) MEGA-Database: One million data since 1972. *Appl Occup Environ Hyg*; 16 159 – 163.

Teschke K. (2003) Exposure surrogates: job-exposure matrices, self-reports, and expert evaluations. In Nieuwenhuijsen MJ, editor. *Exposure assessment in occupational and environmental epidemiology*. New York: Oxford University Press. p. 119-132. ISBN 0 19 852861 2.

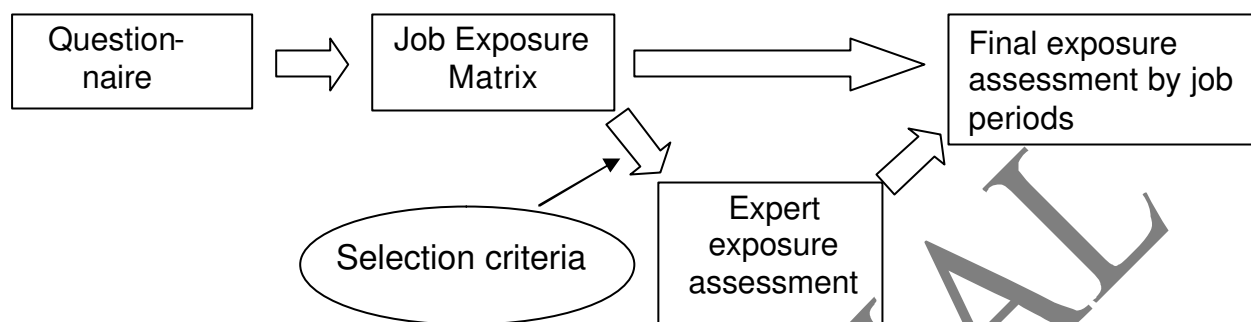
Van Tongeren M, Nieuwenhuijsen MJ, Gardiner K, Armstrong B, Vrijheid M, Dolk H, Botting B. (2002) A job-exposure matrix for potential endocrine-disrupting chemicals developed for a study into the association between maternal occupational exposure and hypospadias. *Ann Occup Hyg*; 46 465 – 477.

Walschaerts M, Muller A, Auger J, Bujan L, Guerin J-F, Le Lannou D, Clavert A, Spira A, Jouannet P, Thonneau P. (2007) Environmental, occupational and familial risks for testicular cancer: a hospital-based case-control study. *Int J Androl*; 30 222-229.

CONFIDENTIAL

Figures and tables

Figure 1: Flow chart of exposure assessment



CONFIDENTIAL

Table 1: Substances selected for exposure assessment

Exposure (substance or EMF)	Possible source of exposure in metalworking industry
Bisphenol A	Component of polycarbonate plastics and epoxy resins
Phthalates (DIDP, DINP, DOP, others)	Softener/ additive in PVC and paints and lacquers
Glycol ether (DEGDME , TEGME, EGEE, EGBE)	Additive in paints and lacquers, anti-freezers, brake fluids, cleaning agents, thinners, and disinfectants
Tributyl tin (TBT)	Antifouling-additive in paints, lacquers and glues, stabilizer in PVC
Cadmium	Exposure in foundries, at electroplating and welding of cadmium containing metal. Additive of paints and stabilizer in PVC
Dimethylformamide	Solvent
Cobalt	Welding high-grade steel
Chromium (VI)	Welding high-grade steel, electroplating
Nickel	Welding high-grade steel
Iron	Welding
Manganese	Welding high-grade steel
Aluminum	Welding
Lead	Welding and soldering, additive in paints and lacquers
Alkyl phenols	Disinfection
1-Methyl-2-pyrrolidone	Degreasing agent, cleaning solvent, paint and varnish remover
Trichloroethylene	Solvent, degreasing agent, cleaner
Dichloromethane	Degreasing agent, cleaning solvent, paint and varnish remover
PVC	Processing of PVC (glues, coatings, etc.)

Table 2: Self-rated quality of exposure ratings in the JEM

Quality of estimation	Number of exposure ratings in the JEM	%
Very good	52	8
Good	346	56
Moderate	179	28
Low	48	8
Total	625	100

Table 3: Numbers of exposure ratings in the JEM by source of information

Source of information	Number of exposure ratings in the JEM	%
IH data from MEGA or company database for given job code	34	5
IH data from MEGA or company databases for job code similar to the given job code	18	3
Company-databases with information of working materials (e.g.: formulation of used working agents)	241	39
Subjective rating by working group members	332	53
Total	625	100

Table 4: Results of individual expert exposure assessment for 1580 exposure records from the sub-sample according to the probability of exposure by the JEM and the quality of exposure rating

Exposure dimensions of the JEM		Number of records	IEEA-assessment		
			Exposure confirmed in all aspects N (%)	Exposure modified in intensity, frequency or probability N (%)	Exposure negated N (%)
Probability	Typical	596	284 (48%)	76 (13%)	239 (40%)
	Likely	375	68 (18%)	20 (5%)	287 (77%)
	Possible	63	20 (32%)	1 (2%)	42 (66%)
	Depending on specific activity within job code	543	76 (14%)	46 (8%)	421 (78%)
Quality	Very good	89	13 (14%)	2 (2%)	74 (81%)
	Good	879	281 (32%)	85 (10%)	513 (58%)
	Moderate	450	121 (27%)	35 (8%)	294 (65%)
	Low	162	33 (20%)	21 (13%)	108 (67%)

Table 5: Influence of exposure dimensions of the JEM on the degree of agreement between JEM-estimation and individual exposure assessment (1580 job periods from the sub-sample)

Exposure dimensions of the JEM		OR	95% -CI
Job code	Inside production line	1	
	Outside production line	21.77	16.11; 29.41
Probability of exposure	“Typical”	1	
	“Likely”	4.95	3.71; 6.62
	“Possible”	2.99	1.73; 5.18
	“Depending on specific activity within job code”	5.16	3.98; 6.69
Quality of exposure rating	“Very good” and “Good”	1	
	“Moderate”	1.25	0.99; 1.58
	“Low”	1.30	0.91; 1.84
End of exposure	2001 – 2007	1	
	1991 – 2000	1.54	1.20; 1.97
	1981 – 1990	0.60	0.45; 0.79
	- 1980	0.52	0.34; 0.80
Intensity of exposure	“Low”	1	
	“Medium”	0.72	0.56; 0.92
	“High”	0.25	0.18; 0.35
Exposure agent	Metals	1	
	Phthalates	2.19	1.40; 3.44
	Glycol ethers	1.05	0.77; 1.43
	Bisphenol A	0.53	0.39; 0.74
	Other	1.39	1.06; 1.83

Table 6: Influence of exposure dimensions of the JEM on the degree of agreement between JEM-estimation and individual exposure assessment (411 job periods with job codes inside the production line)

Exposure dimensions of the JEM		OR*	95%-CI
Probability of exposure	"Typical"	1	
	"Likely"	1.17	0.40; 3.47
	"Possible"	7.27	1.47; 35.96
	"Depending on specific activity within job code"	6.16	2.79; 13.58
Quality of exposure rating	"Very good" and "Good"	1	
	"Moderate"	0.99	0.50; 1.97
	"Low"	1.11	0.29; 4.33
End of exposure	2001 – 2007	1	
	1991 – 2000	2.03	1.01; 4.06
	1981 – 1990	2.50	1.10; 5.67
	- 1980	0.94	0.19; 4.59
Intensity of exposure	"low"	1	
	"medium"	1.57	0.66; 3.72
	"high"	0.98	0.33; 2.87
Exposure agent	Metals	1	
	Phthalates	<0.01	
	Glycol ethers	1.19	0.49; 2.88
	Bisphenol A	1.23	0.46; 3.26
	Other	1.36	0.57; 3.24

*mutually adjusted for all variables in the table

Table 7: Exposure estimates by JEM for study participants from the case-control study (full study sample)

Agent or EMF	Route	Number of study participants with exposure to	Number of job periods with exposure to							
			Total number of exposed job periods	Intensity			Probability			
				Low	Medium	High	Possible	Likely	Typical	Depending on specific activity within job code
Aluminum	Respiratory	447	1305	1015	107	183	58	57	1190	0
Lead	Dermal	462	1401	243	825	333	280	186	169	766
Lead	Respiratory	440	985	985	0	0	215	186	322	262
Chromium (VI)	Respiratory	463	1403	316	1025	62	22	3	1343	35
Iron	Respiratory	577	2658	706	1390	562	60	562	1511	525
Cobalt	Respiratory	396	1167	922	245	0	250	0	917	0
Manganese	Respiratory	463	1302	354	948	0	250	0	1022	30
Nickel	Respiratory	461	1386	255	1069	62	22	3	1331	30
DEGDME (111-96-6)	Dermal	40	63	0	63	0	0	0	33	30
DEGDME (111-96-6)	Respiratory	40	63	63	0	0	0	0	33	30
EGBE (111-76-2)	Dermal	578	2101	665	1424	12	0	213	811	1077
EGBE (111-76-2)	Respiratory	374	1335	1303	26	6	27	68	138	1102
EGEE (110-80-5)	Dermal	207	394	0	394	0	0	50	26	318
EGEE (110-80-5)	Respiratory	200	371	339	0	32	0	0	53	318
TEGME (112-35-6)	Dermal	21	29	0	29	0	0	20	0	9
TEGME (112-35-6)	Respiratory	21	29	29	0	0	0	20	0	9
Bisphenol A	Dermal	459	1696	102	1270	324	88	396	382	830
Bisphenol A	Respiratory	419	1460	1284	176	0	46	173	513	728
Epoxy resins	Dermal	468	1596	0	1225	371	83	371	299	843
Epoxy resins	Respiratory	115	219	204	15	0	0	15	204	0
Phthalate: DIDP	Dermal	174	356	23	333	0	0	30	62	264
Phthalate: DIDP	Respiratory	186	380	380	0	0	0	30	30	320

Agent or EMF	Route	Number of study participants with exposure to	Number of job periods with exposure to							
			Total number of exposed job periods	Intensity			Probability			
				Low	Medium	High	Possible	Likely	Typical	Depending on specific activity within job code
Phthalate: DINP	Dermal	222	429	23	406	0	0	22	121	286
Phthalate: DINP	Respiratory	267	514	514	0	0	52	22	69	371
Phthalate: DOP	Dermal	184	611	0	611	0	52	18	65	476
Phthalate: DOP	Respiratory	187	616	616	0	0	52	18	65	481
Phthalate: n. o. s.	Dermal	25	32	0	32	0	0	32	0	0
Phthalate: n. o. s.	Respiratory	23	30	30	0	0	0	30	0	0
PVC	Dermal	473	1107	14	697	396	0	487	165	455
PVC	Respiratory	61	101	101	0	0	0	0	101	0
Dichloromethane	Dermal	515	1357	0	1357	0	57	846	24	430
Dichloromethane	Respiratory	515	1357	380	977	0	57	846	24	430
Dimethylformamide	Dermal	69	107	30	77	0	0	0	47	60
Dimethylformamide	Respiratory	78	119	89	30	0	0	0	47	72
Trichloroethylene	Dermal	165	296	0	296	0	151	0	0	145
Trichloroethylene	Respiratory	165	296	296	0	0	151	0	0	145
1-Methyl-2-pyrrolidone	Dermal	471	1247	99	1148	0	8	904	272	63
1-Methyl-2-pyrrolidone	Respiratory	471	1247	140	1107	0	8	904	272	63
o-Phenyl phenol	Dermal	98	131	0	131	0	0	0	0	131
o-Phenyl phenol	Respiratory	98	131	131	0	0	0	0	0	131
Tributyl tin	Dermal	55	84	0	84	0	0	0	0	84
EMF		156	307	26	112	169	0	0	307	0

Table 8: Number of exposed study participants and job periods according to , entering IEEA and by final estimation via JEM and IEEA

Agent or EMF	Route*	Number of study participants with exposure to				Number of job periods with exposure to			
		JEM-estimation	Included into IEEA	Confirmed by IEEA	Final estimation (JEM&IEEA)	JEM-estimation	Included into IEEA	Confirmed by IEEA	Final estimation (JEM&IEEA)
Aluminium	Respiratory	447	351	37	133	1305	680	41	666
Lead	Dermal	462	368	119	213	1401	653	226	974
Lead	Respiratory	440	272	38	206	985	321	41	705
Chromium (VI)	Respiratory	463	358	60	165	1403	676	68	795
Iron	Respiratory	577	422	182	337	2658	984	311	1985
Cobalt	Respiratory	396	347	32	81	1167	662	40	545
Manganese	Respiratory	463	362	56	157	1302	687	65	680
Nickel	Respiratory	461	356	53	158	1386	673	60	773
DEGDME	Dermal	40	24	8	24	63	25	8	46
DEGDME	Respiratory	40	24	7	23	63	25	7	45
EGBE	Dermal	578	296	48	330	2101	783	59	1377
EGBE	Respiratory	374	321	64	117	1335	823	77	589
EGEE	Dermal	207	181	26	52	394	219	33	208
EGEE	Respiratory	200	181	26	45	371	219	33	185
TEGME	Dermal	21	21	7	7	29	21	7	15
TEGME	Respiratory	21	21	5	5	29	21	5	13
Bisphenol A	Dermal	459	381	132	210	1696	717	265	1244
Bisphenol A	Respiratory	419	329	114	204	1460	541	193	1112
Epoxy resins	Dermal	468	385	114	197	1596	714	240	1122
Epoxy resins	Respiratory	115			115	219			219
Phthalate: DIDP	Dermal	174	140	69	103	356	176	84	264
Phthalate: DIDP	Respiratory	186	167	66	85	380	207	81	254
Phthalate: DINP	Dermal	222	159	65	128	429	192	76	313
Phthalate: DINP	Respiratory	267	230	89	126	514	277	108	345
Phthalate: DOP	Dermal	184	163	93	114	611	333	169	447

Exposure assessment in the metalworking industry

Phthalate: DOP	Respiratory	187	166	97	118	616	340	175	451
Phthalate: n.o.s.	Dermal	25	24	2	3	32	25	2	9
Phthalate: n.o.s.	Respiratory	23	22	2	3	30	23	2	9
PVC	Dermal	473	245	80	308	1107	378	129	858
PVC	Respiratory	61			61	101			101
Dichloromethane	Dermal	515	439	100	176	1357	799	136	694
Dichloromethane	Respiratory	515	439	100	176	1357	799	137	695
Dimethylformamide	Dermal	69	39	12	42	107	40	12	79
Dimethylformamide	Respiratory	78	48	13	43	119	49	13	83
1-Methyl-2-pyrrolidone	Dermal	471	373	67	165	1247	701	79	625
1-Methyl-2-pyrrolidone	Respiratory	471	373	68	166	1247	701	80	626
o-Phenyl phenol	Dermal	98	96	1	3	131	98	1	34
o-Phenyl phenol	Respiratory	98	96	1	3	131	98	1	34
Trichlorethylene	Dermal	165	163	11	13	296	178	13	131
Trichlorethylene	Respiratory	165	163	11	13	296	178	13	131
Tributyl tin	Dermal	55	55	2	2	84	58	2	28
EMF		156			156	307			307

Type of manuscript: Original research article

Title:

No association of germ cell cancer with activities and exposures in farming and forestry in a nested case-control study of male car workers in Germany.

Running title: Germ cell cancer and activities and exposures in farming

Authors and affiliation:

First author: Nils Schmeißer

Co-authors: Birte Mester

Thomas Behrens

Andrea Gottlieb

Ingo Langner

Wolfgang Ahrens

Affiliation: Bremen Institute for Prevention Research and Social Medicine (BIPS)

Bremen University, Germany

Address for correspondence:

Nils Schmeisser
Bremen Institute for Prevention Research and Social Medicine
Linzer Str. 10
28359 Bremen / Germany
Email: nils.schmeisser@bips.uni-bremen.de

Key words: testicular cancer; occupational exposure; wood protection agents; fertilizers; risk factors

Word count: 1716

Abstract

OBJECTIVE: To examine whether exposures or activities in farming, forestry and related occupations explain the excess risk of male germ cell cancer observed among employees of one car manufacturing plant located in a geographic area where farming is frequent.

METHODS: A nested case-control study was conducted among workers in six plants. The study involved 188 cases of germ cell cancer identified through 38 hospitals and 1000 controls, individually matched by year of birth (± 2 years). Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were estimated using a conditional logistic regression model adjusted for cryptorchidism.

RESULTS: There were non-significant increases in risk associated with ever exposure to salt-based wood protection agents (OR=2.30 95%-CI: 0.58-9.11), working with plywood (OR=1.43 95%-CI: 0.64-3.20) or working in forestry (OR=1.74 95%-CI: 0.47-6.38). No increased risks were observed for exposure to pesticides (OR=0.67 95%-CI: 0.26-1.71), fertilizers (OR=0.81 95%-CI: 0.36-1.82) and disinfectants (OR=0.96 95%-CI: 0.32-2.84).

CONCLUSIONS: This study did not confirm the hypothesis that the observed excess incidence in the cohort of car manufacturing workers can be explained by previous or simultaneous work in farming or forestry.

KEY WORDS: testicular cancer; occupational exposure; wood protection agents; fertilizers; risk factors;

Introduction

There is some evidence that testicular cancer is promoted by hormonally active substances which are not produced in the body (Ohlson et al. 2000; Hardell et al. 2004; Nori et al. 2006). Elevated risk of testicular cancer for high concentrations of these xeno-estrogenic substances (e.g. PCBs or persistent pesticides) in body fluids was observed in some studies (Hardell et al. 2003; McGlynn et al. 2008). For work in agriculture some studies observed an elevated risk (Hardell et al. 1998; Swerdlow et al. 1988; Van den Eeden et al. 1991; Wiklund et al. 1986), no risk increase (Hayes et al. 1990; Pollan et al. 2001) or even a decreased risk (Brown et al. 1984). There is no clear evidence that testicular cancer is associated with agricultural exposures. However, a cluster of testicular cancer emerged in a car manufacturing plant in Germany. An incidence study revealed an elevated risk of testicular cancer in one car manufacturing plant in a rural county with intensive agriculture and intensive farming (unpublished). Many workers of this plant were assumed to have worked in farming or forestry before or even during their employment in the plant, giving the reason to explore the occupational biographies for farm related occupations.

In this study, tasks and exposures in forestry, farming and related occupations were examined in a case control study on occupational exposures in the car manufacturing industry, to find out, whether the excess incidence could be explained by exposures in farming or forestry. Since pesticides and fertilizers are among the exposures of interest in this regard, the analysis was expanded to other occupational areas, where such exposures may occur, namely woodworking, slaughtering and leather production.

Material and Methods

Case and Control Recruitment

This study was designed as a case-control study of testicular cancer nested in a cohort of male car manufacturing workers in Germany to examine associations with several environmental and occupational exposures. Case subjects had a new diagnosis of germ cell cancer (ICD-10: C48 (germ cell cancer of the retroperitoneum), C62 (germ cell cancer of the testicles), C76 (malignant neoplasm not particularly specified) and C80 (malignant neoplasm of unspecified site); ICD-O: 9060-9104) that

occurred between 1989 and 2006. Before diagnosis they had to have worked for at least 6 months in one of six plants included in the cohort.

Field work for case ascertainment was started in March 2004. Cases were identified in thirty-eight hospitals and in outpatient care units of cancer patients in the study area. Cancer diagnosis was actively ascertained on-site by comprehensive screening of all patients' files. Each patient was contacted directly by the federal state industrial medical officer for recruitment into the study. Copies of the cases' medical records and pathology reports were reviewed to confirm eligibility. A reference pathologist reviewed tumour material and pathology reports to confirm the diagnosis during the course of the study.

Controls were ascertained from administrative accounting files of the participating plants. At least two and up to ten controls were randomly selected from the risk set of a given case individually matched by year of birth (± 2 years). Controls were required to have worked for at least 6 months before the diagnosis of the matched case in one of the study plants and had to be alive and free of germ cell cancer at date of diagnosis of the matched case.

Out of 291 eligible cases that were initially identified 215 (73.9%) were interviewed. A total of 4.7% were excluded from analysis because their physician's report did not confirm a diagnosis of germ cell cancer or because other inclusion criteria were not fulfilled. Among controls, 50% of those initially contacted and eligible for inclusion in the study completed the interview. Most non-responders refused participation without giving a reason (42.5% of cases, 40.9% of controls). Time constraints were stated by 8.8% of controls. Other reasons were mentioned by 13.7% of cases and 13.7% of controls. No contact was possible for 34.2% of cases and 24.6% of controls because neither they were reached by phone nor they did reply to letters. Overall, 205 patients and 1097 control subjects were included in the final analysis. Next-of-kin subjects were interviewed for 17 cases and 10 controls which were deceased or medically incapable of participating in an interview. Because job specific questionnaires were not part of surrogate interviews, next-of-kin subjects were excluded from this analysis. Due to the matched case-control design of this study, 87 controls matched to a next-of-kin case were also excluded from analysis, leaving 188 cases and 1000 control subjects.

Data Collection and Exposure Assessment

Personal or telephone interviews were conducted by trained interviewers who were not informed of the case-control status of the participants.

The questionnaire solicited information about physical conditions, medical history, family history, education, nutrition and smoking. The questionnaire also solicited a detailed occupational history. A person was permitted to report one main occupation and one avocation at the same time. Job specific questionnaires (JSQs) were employed to solicit detailed information on exposures, related activities and duration of exposure. Up to six of 37 different JSQs could be applied per interview. The following JSQs were analysed: 'farming, market gardeners, parks and greenhouse workers', 'working with animals', 'forestry', 'wood working', 'tanneries and leather production', 'slaughtering animals or processing meat'.

Information was collected on the lifetime history of working on a farm, forestry or wood working branch and occupations processing agricultural goods. Specific tasks as well as exposure to biocides (disinfectants, pesticides, wood protection agents) and fertilizers in these jobs were considered. For the subjects who were exposed to pesticides, personal handling of pesticides and bystander exposure were distinguished.

Subjects never exposed to a given agent or subjects who never performed a given task constituted the reference group. The case diagnosis date was used as the reference date for cases and matched controls in the risk-sets. Occupational exposures that occurred in the year prior to reference date were not considered in the risk-set. ORs were not reported if a given category included less than three cases. Occupational classifications that were assigned to a JSQ were lagged by considering only exposures 5, 10, 15 and 20 years prior to the reference date. Statistical analyses were performed using SAS 8.2 software (SAS Institute, Cary, NC). The odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (95% CIs) for germ cell cancer according to exposure to biocides, fertilizers and job specific tasks were calculated using the unadjusted conditional logistic regression model (OR_1) or were adjusted for a history of cryptorchidism (OR_2).

Results

Mean age at reference date was 34.8 years for cases and for controls. 51.6% of cases and 47.3% of controls had less than 10 years of school attendance or had no school degree. The attainment of a secondary school degree was similar in both groups (27.1% in cases and 27.7% in controls), and 21.3% of cases and 25.0% of controls reached a higher school degree, i.e. 12 or more years of school education. A family history of cancer was more frequent among cases (25.5%) as compared to controls (20.5%). A family history of testicular cancer was also more frequent among cases (2.1%) as compared to controls (1.2%). A higher proportion of medically confirmed cryptorchidism was reported by cases (11.7%) than by controls (4.7%).

As shown in Table 1, there were no associations between germ cell cancer risk and farming and livestock. Risk estimates of particular tasks of livestock as well as processing farm goods are based on very low exposure prevalence. An excess risk was observed for forestry, however, based on only three exposed cases. For subjects ever employed in the wood working industry no increased risk was observed.

Most of the examined occupations started before the late 1970s for cases and controls. Lagging of exposure did not alter the associations (data not shown).

Ever-never exposure quantification of exposure to biocides or fertilizers in total considered in any of the JSQs are listed in Table 2. Low exposure prevalence was observed for all single agents and therefore detailed analyses were not feasible. No exposure to one of the farming related exposures revealed an excess risk. However, exposure to wood protection agents based on chromium, arsenic or copper salts revealed an elevated risk although results were not statistically significant.

Discussion

A number of studies observed an increased testicular cancer risk for employment in farming (Mills et al. 1984; Wiklund et al. 1986; Levin et al. 1987; Van den Eeden et al. 1991; McDuffie et al. 2007). This study, like others (Knight et al. 1996; Jensen et al. 1984; Sewell et al. 1986), did not observe such an excess risk among men.

This study has some limitations. The participation rate in this study was lower among controls than among cases and raises concerns about a possible selection bias. Control subjects in this study had a higher educational level than cases which may lead selection bias resulting in an underestimation of

exposure in controls and an overestimation of risk estimates. Neither internal nor external information of demographic variables were sufficient among non-responders to compare responders and non-responders.

To eliminate potential social effects educational level was included in logistic models. Only marginal differences were observed between results with and without adjustment for education. In addition, among cases the percentages of the three most requested and completed JSQs in this study, ordered by descending frequency, were 80%, 80% and 79% for agriculture, livestock and wood working, respectively, which were all less frequent than among controls (90%, 98% and 96%). One reason for this difference might be the restriction to a maximum of six JSQs per interview suspending more potentially exposed cases than controls from analyses. Cases requested more JSQs than controls. The average number of JSQs per interview was 3.4 in cases and 3.2 in controls.

Moderately increased risks were observed for forestry, handling with plywood and coated wood and exposure to salt-based wood protection agents. However, the frequency in this nested case-control study is too low to explain the cluster. No general conclusions about associations between farm related exposures and risk of germ cell cancer can be drawn because the statistical power was low in this nested case-control study.

Concluding, this study did not confirm the hypothesis that the observed excess incidence in the cohort of car manufacturing workers can be explained by previous or simultaneous work in farming or forestry. The finding of an elevated risk for salt-based wood protection agents requires verification in a larger study.

Table 1: Distribution of cases and controls and ORs with 95% CIs for testicular cancer associated with reported activity by JSQ (ever versus never).[‡]

	Cases		Controls		OR1 [95%-CI]	OR2 [95%-CI]
	N	%	N	%		
JSQ: Agriculture	8	4.3	60	6.0	0.71 [0.33-1.52]	0.76 [0.36-1.63]
Crops cultivated						
Grain (<i>Gramineae</i>)	8	4.3	50	5.0	0.86 [0.40-1.86]	0.91 [0.42-1.96]
Potatoes and tomatoes (<i>Solanaceae</i>)	7	3.7	31	3.1	1.26 [0.54-2.93]	1.36 [0.58-3.16]
Beet (<i>Beta</i>)	5	2.7	28	2.8	0.98 [0.37-2.60]	1.01 [0.38-2.67]
All other	3	1.6	20	2.0	0.83 [0.24-2.80]	0.93 [0.27-3.18]
JSQ: Livestock^a	8	4.3	58	5.8	0.75 [0.36-1.60]	0.76 [0.36-1.61]
Keeping of:						
Cattle	6	3.2	41	4.1	0.78 [0.34-1.89]	0.80 [0.34-1.91]
Pigs	6	3.2	38	3.8	0.86 [0.36-2.08]	0.87 [0.36-2.11]
Horses	3	1.6	14	1.4	1.17 [0.34-4.08]	1.09 [0.31-3.86]
Slaughtering animals on the farm	5	2.7	25	2.5	1.13 [0.43-2.98]	1.14 [0.43-3.04]
JSQ: Slaughtering animals or processing meat^b	3	1.6	15	1.5	1.08 [0.31-3.75]	1.06 [0.30-3.71]
Slaughtering mammals	3	1.6	12	1.2	1.32 [0.37-4.70]	1.27 [0.35-4.61]
JSQ: Tanning and leather production	1	0.5	1	0.1	-	-
JSQ: Forestry	3	1.6	10	1.0	1.57 [0.43-5.72]	1.74 [0.47-6.38]
JSQ: Wood working^d	11	5.9	53	5.3	1.10 [0.56-2.15]	1.05 [0.54-2.07]
Joiner	5	2.7	23	2.3	1.15 [0.43-3.07]	1.10 [0.41-2.95]
Other	3	1.6	18	1.8	0.91 [0.27-3.13]	0.87 [0.25-3.02]
Working materials						
Hardwood	3	1.6	33	3.3	0.47 [0.14-1.55]	0.42 [0.12-1.39]
Softwood	10	5.4	41	4.1	1.30 [0.64-2.64]	1.21 [0.59-2.48]
Plywood	8	4.3	29	2.9	1.52 [0.69-3.35]	1.43 [0.64-3.20]
Coated wood	5	2.7	18	1.8	1.59 [0.58-4.38]	1.37 [0.49-3.85]

[‡] Only tasks requested within a JSQ with more than two cases are reported. ^aTwo controls have been excluded because of missing data of occupational period. ^bOne control has been excluded because of missing data of occupational period. Analyses did not include livestock working. ^cOne case and two controls were excluded because of missing time period information. Five controls were disclosed because of excluded case in the risk set. Risk estimates adjusted for age (OR₁). Risk estimates additionally adjusted for medical confirmed cryptorchidism (OR₂).

Table 2: Distribution of cases and controls and ORs with 95% CIs for testicular cancer for exposure (ever vs. never exposed) to pesticides, disinfectants, wood protective agents and fertilizers reported by JSQ.[‡]

	Cases		Controls		OR ₁ [95%-CI]	OR ₂ [95%-CI]
	N	%	N	%		
Exposure to fertilizers						
Agriculture (total)	7	3.7	48	4.8	0.81 [0.36-1.81]	0.85 [0.38-1.91]
Crops handled with chemical fertilizer	6	3.2	36	3.6	0.92 [0.38-2.23]	0.99 [0.41-2.40]
Potassium salts	6	3.2	27	2.7	1.24 [0.50-3.04]	1.29 [0.52-3.17]
Phosphorous compounds	4	2.1	26	2.6	0.85 [0.29-2.47]	0.88 [0.30-2.56]
Nitrogenous compounds	5	2.7	28	2.8	1.00 [0.38-2.62]	1.06 [0.40-2.78]
Fertilizers total	7	3.7	50	5.0	0.77 [0.34-1.72]	0.81 [0.36-1.82]
Exposure to disinfectants						
Livestock farming	3	1.6	15	1.5	1.07 [0.30-3.76]	1.00 [0.28-3.56]
Disinfectants total	4	2.1	22	2.2	0.97 [0.33-2.86]	0.96 [0.32-2.84]
Exposure to Pesticides						
Agriculture	4	2.1	38	3.8	0.57 [0.20-1.61]	0.60 [0.21-1.69]
Pesticides total [†]	5	2.7	42	4.2	0.64 [0.25-1.63]	0.67 [0.26-1.71]
Pesticides self applied total	3	1.6	14	1.4	1.25 [0.35-4.49]	1.22 [0.34-4.41]
Exposure to wood protection agents						
Woodworking (total)	4	2.1	27	2.7	0.79 [0.28-2.28]	0.72 [0.25-2.09]
Salt based wood protection agents	3	1.6	7	0.7	2.52 [0.65-9.80]	2.30 [0.58-9.11]
Wood protection agents (total)	4	2.1	27	2.7	0.79 [0.28-2.28]	0.72 [0.25-2.09]

[‡] Only tasks requested within a JSQ with more than two cases are reported. One control was exposed by railway working and additional included in this analysis. Risk estimates adjusted for age (OR₁). Risk estimates additionally adjusted for medical confirmed cryptorchidism (OR₂).

Acknowledgement

This work was funded by the “Vereinigung der Metall-Berufsgenossenschaften” and the “German Social Accident Insurance” (DGUV). We received supplementary funding from the company, where the project was performed. We are independent from the company in study design, access to the collected data, responsibility for data analysis and interpretation, and the right to publish. The views expressed in this paper are those of the authors and not necessarily those of the above sponsors. We are grateful to the study subjects who agreed to report their occupational history and other lifestyle factors in a detailed interview.

CONFIDENTIAL

REFERENCES

- Brown LM, Pottern LM. Testicular cancer and farming. *Lancet* 1984 June 16;1(8390):1356.
- Hardell L, Malmqvist N, Ohlson CG et al. Testicular cancer and occupational exposure to polyvinyl chloride plastics: a case-control study. *Int J Cancer* 2004 April 10;109(3):425-9.
- Hardell L, van BB, Lindstrom G et al. Increased concentrations of polychlorinated biphenyls, hexachloro-benzene, and chlordanes in mothers of men with testicular cancer. *Environ Health Perspect* 2003 June; 111(7):930-4.
- Hardell L, Nasman A, Ohlson CG, Fredrikson M. Case-control study on risk factors for testicular cancer. *Int J Oncol* 1998 December; 13(6):1299-303.
- Hayes RB, Brown LM, Pottern LM et al. Occupation and risk for testicular cancer: a case-control study. *Int J Epidemiol* 1990 December;19(4):825-31.
- Jensen OM, Olsen JH, Osterlind A. Testis cancer risk among farmers in Denmark. *Lancet* 1984 April 7; 1(8380):794.
- Knight JA, Marrett LD, Weir HK. Occupation and risk of germ cell testicular cancer by histologic type in Ontario. *J Occup Environ Med* 1996 September; 38(9):884-90.
- Levin SM, Baker DB, Landrigan PJ et al. Testicular cancer in leather tanners exposed to dimethylformamide. *Lancet* 1987 November 14;2(8568):1153.
- McGlynn KA, Quraishi SM, Graubard BI et al. Persistent organochlorine pesticides and risk of testicular germ cell tumors. *J Natl Cancer Inst* 2008 May 7;100(9):663-71.
- McDuffie HH, Quail J, Ghosh S, Pahwa P. Host factors, occupation, and testicular cancer in Saskatchewan, Canada: 1979-2002. *J Agric Saf Health* 2007 July;13(3):247-58.
- Mills PK, Newell GR. Testicular cancer risk in agricultural occupations. *J Occup Med* 1984 November;26(11):798-9.
- Nori F, Carbone P, Giordano F et al. Endocrine-disrupting chemicals and testicular cancer: a case-control study. *Archives of environmental & occupational health* 2006;61(2):87-95.
- Ohlson CG, Hardell L. Testicular cancer and occupational exposures with a focus on xenoestrogens in polyvinyl chloride plastics. *Chemosphere* 2000 May;40(9-11):1277-82.
- Pollan M, Gustavsson P, Cano MI. Incidence of testicular cancer and occupation among Swedish men gainfully employed in 1970. *Ann Epidemiol* 2001 November;11(8):554-62.
- Sewell CM, Castle SP, Hull HF, Wiggins C. Testicular cancer and employment in agriculture and oil and natural gas extraction. *Lancet* 1986 March 8;1(8480):553.
- Swerdlow AJ, Skeet RG. Occupational associations of testicular cancer in south east England. *Br J Ind Med* 1988 April;45(4):225-30.
- Van den Eeden SK, Weiss NS, Strader CH, Daling JR. Occupation and the occurrence of testicular cancer. *Am J Ind Med* 1991;19(3):327-37.
- Wiklund K, Dich J, Holm LE. Testicular cancer among agricultural workers and licensed pesticide applicators in Sweden. *Scand J Work Environ Health* 1986 December;12(6):630-1.

Type of manuscript: Original research article

Title:

Case-control study of male germ cell tumours nested in a cohort of car manufacturing workers: findings from the occupational history

Running title: Occupational history: ISCO/ NACE

Authors and affiliation:

First author: Ingo Langner

Co-authors: Nils Schmeisser,

Birte Mester,

Thomas Behrens,

Andrea Gottlieb,

Wolfgang Ahrens

Affiliation: Bremen Institute for Prevention Research and Social Medicine (BIPS)

Bremen University, Germany

Address for correspondence:

Wolfgang Ahrens
Bremen Institute for Prevention Research and Social Medicine
Linzer Str. 10
28359 Bremen / Germany

Tel.: +49 (0)421 59596-12

Fax: +49 (0)421 59596-68

Email: schulte@bips.uni-bremen.de

Keywords: Occupations, germ cell tumours,

Word count: Main text: 4219; Abstract: 291

Licence statement:

“The Corresponding Author has the right to grant on behalf of all authors and does grant on behalf of all authors, an exclusive licence (or non exclusive for government employees) on a worldwide basis to the BMJ Publishing Group Ltd and its licensees, to permit this article (if accepted) to be published in OEM and any other BMJPG products and to exploit all subsidiary rights, as set out in our licence (<http://oem.bmjournals.com/ifora/licence.pdf>)”

CONFIDENTIAL

ABSTRACT:

OBJECTIVE: To examine whether the previously observed excess risk of male germ cell cancer in a cohort of car manufacturing workers can be attributed to occupational activities inside and/or outside the car industry.

METHODS: A nested case-control study among workers in six plants was conducted. In a computer assisted interview 205 cases with a confirmed diagnosis of germ cell cancer and 1105 controls (incidence-density matched by age) reported detailed information about their occupational history and potential confounding factors. Industry and occupation were coded twice independently for each job period based on the International Standard Classification of Occupations (ISCO) and the Industrial classification of economic activities (NACE). Codes were classified into 33 occupation- and 35 industry groups, respectively. Odds ratios (OR) and corresponding 95%-confidence intervals (CI) for ever-never and cumulative employment were calculated by conditional multivariate logistic regression analyses adjusted for cryptorchidism reported as medically confirmed.

RESULTS: Mean age was 35.0 years at diagnosis for cases. Significantly increased risks were observed for 'machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers' (A) (adjusted OR=1.8, 95%-CI 1.25-2.53)) and 'workers not elsewhere classified' (OR=2.10, 95%-CI 1.27-3.54), but no trend was observed for cumulative measures of employment duration in either occupational group. Stratification of job group A by metal-cutting and non-cutting jobs yielded ORs of 1.87 (95%-CI 1.31-2.67) and of 1.24 (95%-CI 0.68-2.28), respectively. Among 'plumbers, welders, sheet & structural metal workers' (adjusted OR 1.4, 95%-CI 0.99-1.95) only 'structural metal preparers and erectors' showed a substantially increased risk (OR=2.30; 95%-CI 1.27-4.27).

CONCLUSIONS: Our results do not fully explain the increased incidence of germ cell cancer in the cohort, but they support previous findings showing increased risks among metal

workers. These risks were most strongly pronounced in metal-cutting activities that warrant a closer look at related exposures.

CONFIDENTIAL

INTRODUCTION:

The incidence rate of testicular cancer has been increasing since the middle of the 20th century in many western countries. However, the etiology of testicular cancer is not well understood [1]. Occupational, lifestyle, socioeconomic, and other risk factors were shown to be associated with testicular cancer. The most established risk factor is cryptorchidism. Lifestyle and occupational exposures occurring later in life may play a role in promoting the disease rather than in initiating testicular cancer.

Although many studies found positive associations between occupation and testicular cancer [2-17, 18], no particular occupation has emerged as a clear risk factor [1]. Occupational exposure to several chemical agents including phthalates and pesticides were observed to be associated with testicular cancer and their endocrine disrupting potential was discussed as a possible mode of action [6, 9, 19-23].

A cohort study of car workers in Germany based on data from a company health insurance fund found a cluster of testicular cancer in workers employed between 1989 and 2004. Standardized incidence ratios calculated in comparison to the Federal State of Saarland showed increased risks especially for older employees.

Occupational exposure to potentially hazardous agents is associated with specific jobs or tasks. Workers in automobile production who previously showed elevated risks for testicular cancer are e.g. skilled workers exposed to metals, metal dust and possibly cutting oil [14, 17, 18, 24], and motor vehicle mechanics [25]. Other occupational groups which appeared to have elevated risks are white collar workers [17, 25], professional employees (administrators,

teachers and other professionals) [10, 26], workers in the electrical power industry [11] and service workers [11, 25].

This study was designed as a case-control study of germ cell cancer nested in a cohort of male car-manufacturing workers in Germany to examine associations with several environmental and occupational exposures that could explain the observed cluster of germ cell tumour. As an exploratory approach we investigated all industries, occupations, and job tasks where we assessed the risk of germ cell cancer by duration and calendar period of employment.

MATERIALS and METHODS:

Case and control recruitment:

Males with gonadal and extra-gonadal germ cell cancer (ICD-10: C48, C62, C76, C80; ICD-O: 9060-9104) newly diagnosed between January 1989 and December 2006 were eligible. Before diagnosis they had to have worked for at least 6 months during the period from 1989 to 2002 in at least one plant included in the cohort. Further inclusion criteria were sufficient command of the German language to perform an interview.

Case ascertainment started in August 2001. Cases were identified by systematic screening of all files of patients admitted or discharged with the diagnosis 'male germ cell tumour' between 1998 and 2004 in thirty-eight hospitals in the study region, hospital registers (where available) and outpatient care units of cancer patients in the study area. Cancer diagnosis was actively ascertained on-site by comprehensive screening of all patients' clinical files. Each patient was contacted directly by the state officer for occupational health (Landesgewerbearzt) for recruitment into the study. Copies of the cases' medical records and pathology reports

were reviewed to confirm eligibility by a reference pathologist who also reviewed tumour material of which slides or paraffin-embedded tumour blocks were still available.

Control subjects were ascertained from administrative accounting files of the participating plants. Controls were individually matched by year of birth (± 2 years), were required to have worked for at least 6 months in one of the study plants during the observation period and had to be alive and free of testicular cancer at the date of diagnosis of the matched case. In order to avoid interviewer effects, controls had to be interviewed in parallel to the cases which required their recruitment before consent for participation of the respective case. Incidence density sampling matched between two and eight controls to a given case. Five cases were controls for other cases with an earlier diagnosis of germ cell cancer.

Out of 292 eligible cases that were initially identified 215 (73.9%) were interviewed. A total of 4.7% had to be excluded from the analysis because the physician's report did not confirm a diagnosis of germ cell cancer or because other inclusion criteria were not fulfilled. Among controls 50.3% of those initially contacted and eligible for inclusion in the study completed the interview. Overall, 205 cases and 1,105 control subjects were included in the final analysis.

Next-of-kin subjects were interviewed in 8.3% of cases and 0.9% of controls who were found to be deceased or medically incapable of participating in an interview. Surrogate subjects were mostly wives (59.3%) or parents (37.0%).

Data Collection and Exposure Assessment:

Computer-assisted personal (84.2%) or telephone (15.8%) interviews were conducted by trained interviewers who were not aware of the case-control status of the participants. The questionnaire addressed physical conditions, family history, education, nutrition and smoking and solicited a detailed occupational history. Occupations as well as specific tasks were recorded by calendar year of start and end of each job held during lifetime after leaving school for jobs that were held for at least 6 months. Main and sideline jobs which were performed for at least eight hours per week were recorded. A person was permitted to report one main and one sideline job for each job period.

Job titles were coded according to the International Standard Classification of Occupations (ISCO) [27]. Industries were coded according to the Classification of Industrial Branches of the European Union (NACE) [28]. For main jobs principal and secondary tasks were differentiated and coded separately. Secondary tasks were mentioned only if they accounted for at least 20% of the total working time. Each occupation and industry was coded twice. If this independent coding yielded different codes within the first three digits, a consensus coding was jointly performed by both coders. Occupations were grouped into 33 pre-defined categories that were considered to be homogeneous in terms of work tasks and/ or materials handled or produced. Similarly, industries were classified into 35 groups. Further subgroups were defined for 3-digit ISCO- or NACE-codes in exploratory analyses. Additionally, we differentiated between metal cutting and non-cutting occupations based on the 5-digit ISCO-codes.

Calculations and Statistical Analyses:

The duration of each job period was calculated based on the date of diagnosis of the corresponding case. As only the calendar year of start and end of a job period was recorded in the interview, we used correction terms to prevent systematic overestimation of cumulative measures for study subjects with many job periods as follows:

Let e_t be the end and s_t the start calendar year of a single job period t and ce_t and cs_t the corresponding correction terms then period duration p resulted from

$$p_t = e_t - s_t + 1 - ce_t - cs_t \quad \{1\}$$

For the calculation of the correction terms the total individual job history had to be considered. As only job periods with a minimum duration of 6 months were recorded in the interview three situations for subsequent job periods had to be distinguished for the calculation of the correction terms. We distinguished

- Situation 1: the end year of a previous job period (e_{t-1}) lay before the start year of the subsequent period (s_t): $e_{t-1} < s_t$
Here both correction terms ce_{t-1} and cs_t were set to zero.
- Situation 2: the end year of a previous job period (e_{t-1}) was identical with the start year of the subsequent period (s_t): $e_{t-1} = s_t$
Here the correction terms ce_{t-1} and cs_t were set to 0.5.
- Situation 3: this is a more special case of situation 2 where three subsequent periods had to be considered: end year (e_{t-1}) of the first period, start (s_t) and end (e_t) year of the second period and start year (s_{t+1}) of the third period are identical:

$$e_{t-1} = s_t \text{ and } e_t = s_t \text{ and } e_t = s_{t+1}$$

Here the correction terms ce_{t-1} and cs_{t+1} were set to 0.75 and the correction terms cs_t and ce_t were set to 0.25.

This was done separately for main and sideline jobs. Calculation of occupation- or industry-specific cumulative years of employment was performed by adding up job periods as follows:

Let n represent the number of occupational groups differentiated here ($n=33$) and m_{ik} be the number of the individual job periods j of study subject i belonging to a specific occupational group k (with $k=1, \dots, n$), then the individual occupation-specific cumulative years of employment (YE) were calculated as:

$$YE_{ik} = \sum_{j=1}^{m_{ik}} p_{ikj} \quad \{2\}$$

In the case of job periods with a main and a sideline job belonging to the same occupational group only the main job was considered. YE were weighted by the number of working hours per week for each main and sideline job as follows:

Let w_t be the weekly working hours of an occupation t then we calculated working time (WT) for a single occupation period and task as

- $WTP_t = p_t \cdot w_t$ {3a} if the main job had only one principal task,
- $WTP_t = p_t \cdot w_t \cdot 0.8$ {3b} for the principal task and
- $WTA_t = p_t \cdot w_t \cdot 0.2$ {3c} for the secondary task (if both were reported),
- $WTS_t = p_t \cdot 8$ {3d} for the sideline job.

The cumulative working hours of study subject i for the occupational group k resulted from summing up the weighted weekly working time of all periods referring to the specific occupational group.

$$WT_{ik} = \sum_{j=1}^{m_{ik}} WTP_{ikj} + \sum_{j=1}^{m_{ik}} WTA_{ikj} + \sum_{j=1}^{m_{ik}} WTS_{ikj} \quad \{4\}$$

WT was transformed into person working years (PWY) standardized to 40 working-hours per week. The same was done for the industry groups (n=35).

Individual employment was quantified in three ways for each occupational and industry group. Besides an ever-never classification, ordinal quantifications with four categories (none, short, medium, or long employment) were based on YE or PWY, each categorized by tertiles (the corresponding distributions included only values >0), respectively. In order to explore temporal effects, recent employment periods were lagged by 5, 10, 15 or 20 years before the date of diagnosis.

Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (95%-CIs) for germ cell cancer according to ever-never working in a specific occupational group or industry were estimated by conditional logistic regression (OR₁). Risk estimates were adjusted for cryptorchidism reported as medically confirmed (OR₂). Regression analyses using ordinal exposure categories were restricted to those groups where at least 5 cases were found to be ever employed. All subjects who never worked in a given occupational or industry group constituted the reference category. Further multivariate analyses were conducted including the most frequent groups and subgroups of occupation and industry simultaneously in one model. All statistical analyses were carried out with SAS 8.2 software (SAS Institute, Cary, NC).

RESULTS:

Mean age at diagnosis of cases and mean age of controls at diagnosis of the corresponding case was 35.0 years, respectively. Cases and controls showed a comparable age distribution

(Table 1). The distribution of achieved school degree and professional training was similar for cases and controls (Table 1).

Table 1: Distribution of age and education for cases and controls.

	Cases (total N=205)		Controls (total N=1105)	
	N	%	N	%
Age distribution: age at date of diagnosis (of the corresponding case)				
Age [years]				
10 - <20	1	0.49	2	0.18
20 - <30	54	26.34	287	25.97
30 - <40	104	50.73	567	51.31
40 - <50	29	14.15	166	15.02
50 - <60	12	5.85	61	5.52
60 - <70	5	2.44	22	1.99
School leaving certificate				
First or no school degree	107	52.20	533	48.24
Secondary school degree	57	27.80	300	27.15
Advanced technical certificate or baccalaureate	41	20.00	272	24.62
Professional training *				
No apprenticeship	15	7.32	72	6.52
Apprenticeship (technical/engineering/agricultural)	121	59.02	647	58.55
Apprenticeship (commercial)	12	5.85	67	6.06
Technical college (technician, master craftsman)	24	11.71	129	11.67
University of applied sciences	15	7.32	107	9.68
University	18	8.78	83	7.51

* Further professional trainings stated by the interviewed subjects were included as follows: academy and business economist to university of applied sciences, career in middle civil service and technical business administrator to technical college.

Occupational groups:

Some occupational groups had no exposed cases ('fur & leather workers, shoe & leather goods makers', 'glass formers, potters & related'). Most of the remaining occupational groups showed no elevated risk for testicular cancer (Table 2). The adjusted risk estimates did not differ from the crude OR for any occupational group.

Slightly increased risks that were not statistically significant were found for 'miners', 'stone cutters & carvers, non-metal mineral products makers', 'plumbers, welders, and sheet & structural metal workers'. Significantly increased risks were seen for 'machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers' and 'workers not elsewhere classified'. Stratification of the employment periods by periods 'inside' and periods 'outside' the study plants had no effect on the risk estimates for 'machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers' or 'plumbers, welders, and sheet & structural metal workers' but for 'workers not elsewhere classified' the OR₂ for inside the study plants was 1.2 (95%-CI 0.4-3.75), while the OR₂ for outside was 2.5 (95%-CI 1.39-4.35). Stratification by occupational subgroups showed no substantial differences between risk estimates for 'inside' and 'outside' periods. Also restriction to job periods before the first employment in the study plants did not alter the results. Both, 'machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers', here mainly millwrights, and 'workers not elsewhere classified' showed significantly increased risks of similar magnitude in all PWY categories (Table 3), but no trend with increasing PWY was found.

Plumbers, welders, sheet & structural metal workers' showed a slightly increased risk (OR₂=1.4, 95%-CI 0.99-1.95) (Table 2) but in the analysis distinguishing PWY categories the highest risk was seen for the lowest PWY category (OR₂=1.6, 95%-CI 0.83-3.19) (Table 3).

Risk estimates did not differ between employment periods ‘inside’ and ‘outside’ the study plants.

Table 2: Distribution of cases and controls by occupational group for jobs ever held for at least 6 months duration and corresponding odds ratios with 95% confidence intervals (95%-CI).

Occupation	ISCO-codes	Exposed subjects [%]		OR ₁ (95%-CI) *	OR ₂ (95%-CI) **
		Cases N=205	Controls N=1105		
Physical & life scientists & technicians	0-1 / 0-5	0.98	0.81	1.2 (0.25;5.37)	1.2 (0.25;5.46)
Architects, engineers, aircraft & ships officers, production supervisors	0-2 / 0-3 / 7-0	14.15	17.65	0.8 (0.5 ;1.19)	0.8 (0.5 ;1.21)
Medical, dental, pharmaceutical & veterinary workers	0-6 / 0-7	0.49	0.81	0.6 (0.08;4.71)	0.6 (0.08;4.93)
Statisticians, economists & accountants	0-8 / 0-9 / 1-1	1.95	3.98	0.5 (0.17;1.38)	0.4 (0.16;1.25)
Jurists, teachers, religious, social & other professional specialists	1-2 / 1-3 / 1-4 / 1-9	3.41	5.07	0.7 (0.29;1.46)	0.7 (0.31;1.53)
Journalists, artists, sportsmen	1-5 to 1-8	0.98	2.90	0.3 (0.08;1.39)	0.4 (0.08;1.48)
Managers & managerial employees	2-0 / 2-1 / 3-0 / 3-1 / 4-0 / 4-1 / 5-0 / 5-1	14.15	13.94	1.0 (0.68;1.6)	1.1 (0.68;1.62)
Clerical workers	3-2 to 3-9	21.46	17.83	1.3 (0.87;1.83)	1.2 (0.86;1.8)
Sales workers	4-2 to 4-9	10.73	9.68	1.1 (0.69;1.84)	1.1 (0.68;1.81)
Service workers	5-2 to 5-9	9.76	11.13	0.9 (0.53;1.43)	0.9 (0.53;1.44)
General farmers	6-0 / 6-1 / 6-21 / 6-22 / 6-29	4.39	5.61	0.8 (0.38;1.59)	0.8 (0.4 ;1.68)
Specialized farmers: orchard, livestock, machinery	6-23 to 6-28	1.95	2.08	0.9 (0.31;2.73)	1.0 (0.32;2.82)
Forestry workers, fishermen, hunters	6-3 / 6-4	0.49	0.45	1.0 (0.12;8.82)	1.3 (0.15;10.8)
Miners	7-1	0.98	0.54	1.7 (0.33;9.24)	1.7 (0.33;9.24)
Metal producers	7-2	3.90	5.34	0.7 (0.33;1.51)	0.7 (0.33;1.48)

Occupation	ISCO-codes	Exposed subjects [%]		OR ₁ (95%-CI) *	OR ₂ (95%-CI) **
		Cases N=205	Controls N=1105		
Chemical, rubber & plastics workers	7-4 / 9-0	3.90	2.71	1.5 (0.67;3.29)	1.4 (0.61;3.05)
Food, beverage & tobacco processers	7-7 / 7-8	4.39	3.08	1.4 (0.66;2.94)	1.4 (0.66;2.96)
Spinners, weavers, textile workers & upholsterers	7-5 / 7-91 / 7-93 to / 7-99	2.93	2.17	1.3 (0.54;3.34)	1.3 (0.51;3.24)
Fur & leather workers, shoe & leather goods makers	7-6 / 7-92 / 8-0	0	0.09		
Wood workers	7-31 / 7-32 / 8-1 / 9-42 / 9-54	5.37	5.07	1.0 (0.53;2.1)	1.0 (0.53;1.99)
Stone cutters & carvers, non-metal mineral products makers	8-2 / 9-43	0.98	0.36	2.6 (0.48;14.4)	2.5 (0.43;14.3)
Blacksmiths, toolmakers & machine-tool operators	8-3	34.15	32.94	1.1 (0.77;1.46)	1.0 (0.75;1.44)
Machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers	8-4	76.59	65.52	1.7 (1.23;2.46)	1.8 (1.25;2.53)
Electrical & electronic workers, broadcasting & cinema operators	8-5 / 8-6	8.78	13.12	0.6 (0.38;1.06)	0.7 (0.4 ;1.13)
Plumbers, welders, sheet & structural metal workers	8-7	27.32	21.18	1.4 (0.98;1.93)	1.4 (0.99;1.95)
Glass formers, potters & related	8-9	0	0.63		
Pulp, paper & printing workers	9-1 / 9-2 / 7-33 / 7-34	0.49	0.81	0.6 (0.08;4.91)	0.6 (0.07;4.61)
Painters	9-3	9.76	12.04	0.8 (0.48;1.29)	0.8 (0.46;1.24)
Jewellery, musical instrument & other production workers	8-8 / 9-41 / 9-49	1.46	2.71	0.5 (0.16;1.74)	0.6 (0.17;1.85)
Bricklayers, roofers & other construction workers	9-51 to 9-53 / 9-55 to 9-59	6.34	6.97	0.9 (0.48;1.61)	0.9 (0.47;1.58)
Stationary engine & heavy equipment operators, freight handlers	9-6 / 9-7	18.05	17.29	1.1 (0.71;1.57)	1.1 (0.71;1.58)
Transport equipment operators	9-8	18.54	19.91	0.9 (0.62;1.32)	0.9 (0.61;1.31)
Workers not elsewhere classified	9-9 / missing	11.22	5.79	2.1 (1.27;3.54)	2.1 (1.27;3.57)

* OR₁ = crude odds ratio

** OR₂ = odds ratio adjusted for cryptorchidism reported as medically confirmed

Some occupational groups ('clerical workers', 'sales workers', 'wood workers') showed increased risks for the lowest PWY category but not for higher PWY (Table 3). Risk estimates did not differ markedly between PWY categories for the remaining occupational groups.

Table 3: Odds ratios with 95% confidence intervals (95%-CI) for germ cell cancer by occupation-specific cumulative person working years (PWY) and corresponding distribution of cases and controls.

Occupational group	Weighted duration (PWY) [years]	Exposed subjects [%]		OR ₂ (95%-CI)
		Cases (N=205)	Controls (N=1105)	
Architects, engineers, aircraft & ships officers, production supervisors	0	83.90	76.47	1
	>0 to <0.5	3.90	7.51	0.5 (0.23;1.04)
	0.5 to <1.8	7.32	8.14	0.8 (0.46;1.45)
	>=1.8	4.88	7.87	0.5 (0.27;1.08)
Statisticians, economists & accountants	0	96.59	95.48	1
	>0 to <0.4	0.49	1.18	0.4 (0.05;3.17)
	0. to <2.1	1.46	1.90	0.7 (0.2 ;2.3)
	>=2.1	1.46	1.45	0.9 (0.27;3.31)
Jurists, teachers, religious, social & other professional specialists	0	95.61	93.03	1
	>0 to <0.4	0.98	1.81	0.5 (0.12;2.25)
	0.4 to <1.5	1.46	2.90	0.5 (0.15;1.68)
	>=1.5	1.95	2.26	0.8 (0.28;2.38)
Managers & managerial employees	0	81.46	79.64	1
	>0 to <0.5	6.34	6.06	1.0 (0.56;1.92)
	0.5 to <3.2	6.83	7.42	1.0 (0.53;1.71)
	>=3.2	5.37	6.88	0.8 (0.4 ;1.48)
Clerical workers	0	74.63	76.92	1

Occupational group	Weighted duration (PWY) [years]	Exposed subjects [%]		
		Cases (N=205)	Controls (N=1105)	OR ₂ (95%-CI)
	>0 to <0.4	9.76	5.70	1.7 (1.01;2.99)
	0.4 to <1	8.78	9.32	1.0 (0.56;1.66)
	>=1	6.83	8.05	0.8 (0.44;1.47)
Sales workers	0	88.78	88.96	1
	>0 to <0.4	4.39	2.90	1.5 (0.7 ;3.36)
	0.4 to <0.8	3.41	3.98	0.8 (0.35;1.86)
	>=0.8	3.41	4.16	0.9 (0.38;1.98)
Service workers	0	85.37	87.24	1
	>0 to <0.35	3.90	4.07	1.0 (0.45;2.06)
	0.35 to <0.5	4.39	3.80	1.2 (0.55;2.44)
	>=0.5	6.34	4.89	1.3 (0.71;2.5)
Metal producers	0	95.12	94.30	1
	>0 to <0.74	3.90	3.62	1.3 (0.61;2.98)
	>=0.74	0.98	2.08	0.4 (0.1 ;1.85)
Food, beverage & tobacco processors	0	95.61	96.92	1
	>0 to <0.5	0.49	1.00	0.5 (0.07;4.16)
	0.5 to <0.86	2.93	0.90	3.1 (1.11;8.66)
	>=0.86	0.98	1.18	0.8 (0.17;3.48)
Wood workers	0	94.15	94.84	1
	>0 to <0.4	1.95	0.63	3.1 (0.84;11.1)
	0.4 to <0.8	3.41	2.44	1.5 (0.62;3.49)
	>=0.8	0.49	2.08	0.2 (0.03;1.54)
Blacksmiths, toolmakers & machine-tool operators	0	64.88	66.15	1
	>0 to <0.4	6.34	6.15	1.0 (0.52;1.87)
	0.4 to <0.84	17.07	16.47	1.1 (0.72;1.65)
	>=0.84	11.71	11.22	1.0 (0.63;1.65)
Machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers	0	21.46	32.31	1
	>0 to <0.45	28.29	21.36	2.1 (1.33;3.16)
	0.45 to <1.36	26.83	23.53	1.8 (1.13;2.71)
	>=1.36	23.41	22.81	1.7 (1.06;2.58)
Electrical & electronic workers, broadcasting & cinema operators	0	90.24	86.52	1
	>0 to <0.44	2.93	4.43	0.6 (0.27;1.54)
	0.44 to <1.08	3.90	4.52	0.9 (0.42;1.96)
	>=1.08	2.93	4.52	0.7 (0.28;1.57)
Plumbers, welders, sheet & structural metal workers	0	72.20	77.83	1
	>0 to <0.4	5.85	3.89	1.6 (0.83;3.19)

Occupational group	Weighted duration (PWY) [years]	Exposed subjects [%]		OR ₂ (95%-CI)
		Cases (N=205)	Controls (N=1105)	
	0.4 to <0.86	13.17	10.86	1.3 (0.82;2.03)
	>=0.86	8.78	7.42	1.3 (0.76;2.27)
Painters	0	90.24	87.60	1
	>0 to <0.4	2.44	3.35	0.7 (0.25;1.68)
	0.4 to <0.85	4.88	4.80	1.0 (0.51;2.05)
	>=0.85	2.44	4.25	0.5 (0.19;1.29)
Bricklayers, roofers & other construction workers	0	92.68	92.67	1
	>0 to <0.4	0.49	1.72	0.2 (0.03;1.87)
	0.4 to <0.9	3.41	3.17	1.1 (0.47;2.49)
	>=0.9	3.41	2.44	1.3 (0.56;3.11)
Stationary engine & heavy equipment operators, freight handlers	0	79.51	80.63	1
	>0 to <0.38	6.34	6.06	1.1 (0.57;1.99)
	0.38 to <0.6	7.80	6.79	1.2 (0.65;2.05)
	>=0.6	6.34	6.52	1.0 (0.52;1.81)
Transport equipment operators	0	78.05	78.64	1
	>0 to <0.4	6.34	6.06	1.1 (0.57;1.96)
	0.4 to <0.5	4.39	7.51	0.6 (0.28;1.15)
	>=0.5	11.22	7.78	1.4 (0.86;2.31)
Workers not elsewhere classified	0	89.27	94.30	1
	>0 to <0.1	0.98	0.36	2.6 (0.47;14.6)
	0.1 to <0.38	6.34	3.35	2.1 (1.07;4.02)
	>=0.38	3.41	1.99	1.9 (0.79;4.68)

OR₂ = odds ratio adjusted for cryptorchidism reported as medically confirmed

Lagging of exposure by 5, 10, 15, and 20 years (data not shown) did not change the OR for occupational groups with two exceptions: for 'workers not elsewhere classified' a decreasing risk with increasing lagging period was seen while 'plumbers, welders, sheet & structural metal workers' were found to have an increasing risk with increasing lagging period, reaching an OR₂ of 1.8 (95%-CI 1.01-3.17) with a lag of 20 years (data not shown).

Industry groups:

Increased risks (statistically not significant) were found for the groups ‘bars, hotels, restaurants’ and ‘real estate, renting & business activity’ (Table 4). Significantly increased risks were seen for ‘automobile trade & repair’ ($OR_2=1.5$, 95%-CI 1.00-2.21) and ‘transportation’ ($OR_2=1.7$, 95%-CI 1.02-2.96). Risk estimates for the remaining industry groups were inconspicuous.

Table 4: Distribution of cases and controls by industry group for jobs ever held for at least 6 months duration and corresponding odds ratios with 95% confidence intervals (95%-CI).

Industry	NACE-codes	Exposed subjects [%]		OR ₁ (95% -CI) *	OR ₂ (95% -CI) **
		Cases N=205	Controls N=1105		
Agriculture, forestry, hunting, fishing	1 to 5	8.78	12.76	0.7 (0.4;1.12)	0.7 (0.41;1.15)
Mining & quarrying	10 / 12 to 14	1.46	2.26	0.6 (0.18;2.06)	0.7 (0.2 ;2.22)
Oil & gas extraction/ processing	11 / 23	0.49	0.63	0.8 (0.1 ;6.67)	0.7 (0.09;6.25)
Manufacturing of food products, beverages & tobacco	15 / 16	5.85	4.52	1.3 (0.67;2.45)	1.2 (0.65;2.39)
Textile industry	17 / 18	0	0.90	-	-
Leather & shoe manufacturing	19	0	0.54	-	-
Woodworking, manufacturing of furniture & music instruments	20 / 361 / 363	0.98	1.99	0.5 (0.11;2.04)	0.4 (0.1 ;1.94)
Pulp & paper manufacturing & printing/ publishing	21 / 22	1.46	2.71	0.5 (0.16;1.75)	0.5 (0.15;1.63)
Chemical & pharmaceutical industry	24	0	0.18	-	-
Manufacturing of rubber & plastic products	25	0.98	1.90	0.5 (0.12;2.25)	0.6 (0.13;2.39)
Manufacturing of glass, ceramics & stone	26	0.98	0.90	1.0 (0.22;4.54)	1.0 (0.21;4.58)
Metal production/ scrap recycling	27 / 371	1.46	1.63	0.9 (0.26;2.99)	0.8 (0.23;2.69)
Manufacturing of fabricated metal products	28	6.34	5.07	1.3 (0.7 ;2.42)	1.3 (0.71;2.48)
Manufacturing of machinery	29	6.34	5.16	1.2 (0.66;2.35)	1.2 (0.65;2.32)

Occupational history: ISCO/ NACE

Industry	NACE -codes	Exposed subjects [%]		OR ₁ (95% -CI) *	OR ₂ (95% -CI) **
		Cases N=205	Controls N=1105		
Manufacturing of electrical equipment, medical, optical instruments, toys, jewellery	30 to 33 / 362 / 364 to 366	5.85	5.34	1.1 (0.6 ;2.13)	1.2 (0.62;2.25)
Vehicle manufacturing	34 to 35	87.32	88.14	0.9 (0.6 ;1.49)	1.0 (0.62;1.54)
Recycling (non-metal), cleaning, sewage & waste disposal	372 / 747 / 90	0.98	0.90	1.0 (0.23;4.77)	1.0 (0.21;4.52)
Energy & water supply	40 / 41	0.49	0.90	0.5 (0.06;4.36)	0.5 (0.07;4.55)
Main construction	451 / 452 / 455 / 450	7.80	7.87	1.0 (0.55;1.67)	1.0 (0.54;1.67)
Interior construction, building installation	453 / 454	8.78	12.13	0.7 (0.41;1.16)	0.7 (0.4 ;1.13)
Automobile trade & repair	50	18.54	13.30	1.5 (0.98;2.16)	1.5 (1.0;2.21)
Wholesale trade	51	2.44	2.71	0.9 (0.35;2.44)	1.0 (0.36;2.53)
Retail trade	52	4.39	5.52	0.8 (0.38;1.63)	0.8 (0.39;1.65)
Bars, hotels, restaurants	55	5.37	3.62	1.5 (0.76;2.93)	1.5 (0.77;3.01)
Transportation	60 to 63	9.76	5.70	1.8 (1.07;3.06)	1.7 (1.02;2.96)
Telecommunication	64	0.98	1.00	1.0 (0.21;4.38)	1.0 (0.22;4.6)
Financial intermediation	65 to 67	1.95	1.90	1.0 (0.34;2.96)	0.9 (0.29;2.59)
Real estate, renting & business activities	70 to 74 and not 747	9.27	6.06	1.6 (0.94;2.77)	1.5 (0.88;2.61)
Public administration, social security, police & defense	75 / 99	35.12	37.92	0.9 (0.64;1.21)	0.9 (0.63;1.19)
Education & social work	80 / 853	3.90	5.61	0.7 (0.32;1.46)	0.7 (0.34;1.55)
Health system	851 / 852	3.41	5.79	0.6 (0.26;1.25)	0.6 (0.26;1.3)
Religious & non-commercial organizations	911 / 913	0.98	0.90	1.1 (0.24;5.03)	1.1 (0.24;5.12)
Recreational, cultural & sporting activities	92	0.98	2.81	0.3 (0.08;1.44)	0.4 (0.09;1.54)
Services not elsewhere classified	93	2.93	2.35	1.3 (0.51;3.11)	1.1 (0.46;2.85)
Private households	95	1.95	1.99	0.9 (0.31;2.63)	0.9 (0.31;2.65)

* OR₁ = crude odds ratio

** OR₂ = odds ratio adjusted for cryptorchidism reported as medically confirmed,

Some groups ('manufacturing of fabricated metal products', 'main construction', 'wholesale trade') showed increased risks for the lowest PWY category but not for higher PWY (Table

5). For ‘manufacturing of machinery’, ‘real estate, renting & business activity’ and ‘transportation’ risks increased with increasing YE (statistically significant trend among the latter). However, these trends were not observed with increasing PWY. No trends were observed for the remaining industry groups (Table 5).

Table 5: Odds ratios with 95% confidence intervals (95%-CI) for germ cell cancer by industry-specific cumulative person working years (PWY) and corresponding distribution of cases and controls.

Industry group	Weighted duration (PWY) [years]	Exposed subjects [%]		OR ₂ (95%-CI)
		Cases (N=205)	Controls (N=1105)	
Agriculture, forestry, hunting, fishing	0	88.78	84.80	1
	>0 to <0.46	6.83	8.05	0.9 (0.43;1.84)
	0.46 to <1.06	2.93	5.25	0.6 (0.24;1.34)
	>=0.63	3.90	5.07	0.7 (0.34;1.57)
Manufacturing of food products, beverages & tobacco	0	94.15	95.20	1
	>0 to <0.5	0.49	0.72	0.6 (0.07;4.95)
	0.5 to <0.88	3.41	2.44	1.4 (0.59;3.27)
	>=0.88	1.95	1.63	1.1 (0.37;3.39)
Manufacturing of fabricated metal products	0	94.15	94.75	1
	>0 to <1.0	4.88	3.26	1.6 (0.8 ;3.41)
	>=1.0	0.98	1.99	0.5 (0.11;2.08)
Manufacturing of machinery	0	93.66	93.12	1
	>0 to <0.5	0.49	0.27	1.7 (0.18;16.8)
	0.5 to <1.0	2.44	3.35	0.7 (0.29;1.92)
	>=1.0	2.93	1.81	1.5 (0.59;3.75)
Manufacturing of electrical equipment, medical, optical instruments, toys, jewellery	0	92.68	93.03	1
	>0 to <0.5	0.49	1.18	0.4 (0.05;3.32)
	0.5 to <1.12	3.90	3.35	1.3 (0.59;2.81)
	>=1.12	1.95	2.35	0.9 (0.3 ;2.48)
Vehicle manufacturing	0	12.20	9.23	1
	>0 to <0.94	26.83	28.14	0.7 (0.45;1.26)

Industry group	Weighted duration (PWY) [years]	Exposed subjects [%]		OR ₂ (95%-CI)
		Cases (N=205)	Controls (N=1105)	
	0.94 to <2.5	30.24	32.76	0.7 (0.41;1.18)
	>=2.5	30.73	29.86	0.8 (0.49;1.38)
Main construction	0	91.71	92.04	1
	>0 to <0.5	1.95	0.36	4.5 (1.1 ;18.0)
	0.5 to <1.0	3.90	4.89	0.8 (0.37;1.7)
	>=1.0	2.44	2.71	0.8 (0.31;2.26)
Interior construction, building installation	0	91.22	87.69	1
	>0 to <0.5	0.98	1.45	0.6 (0.14;2.83)
	0.5 to <1.0	6.34	6.33	0.9 (0.47;1.63)
	>=1.0	1.46	4.52	0.3 (0.1 ;1.04)
Automobile trade & repair	0	81.46	86.52	1
	>0 to <0.5	2.44	1.63	1.7 (0.62;4.54)
	0.5 to <0.6	9.76	7.15	1.4 (0.84;2.41)
	>=0.6	6.34	4.71	1.4 (0.76;2.74)
Wholesale trade	0	97.07	97.01	1
	>0 to <0.75	2.44	1.90	1.8 (0.64;4.94)
	>=0.75	0.49	1.09	0.5 (0.06;3.77)
Retail trade	0	95.61	94.03	
	>0 to <0.5	0.98	1.27	0.8 (0.17;3.49)
	0.5 to <0.75	1.95	2.44	0.8 (0.26;2.25)
	>=0.75	1.46	2.26	0.7 (0.21;2.35)
Bars, hotels, restaurants	0	93.66	96.02	
	>0 to <0.3	1.95	1.27	1.4 (0.46;4.4)
	0.3 to <0.75	2.44	1.27	2.2 (0.77;6.32)
	>=0.75	1.95	1.45	1.3 (0.42;3.98)
Transportation	0	88.78	93.94	
	>0 to <0.5	2.44	1.81	1.3 (0.46;3.46)
	0.5 to <1.0	4.88	2.17	2.6 (1.19;5.7)
	>=1.0	3.90	2.08	1.9 (0.81;4.33)
Real estate, renting & business activities	0	87.80	91.95	
	>0 to <0.5	2.93	1.63	1.7 (0.64;4.31)
	0.5 to <1.25	4.88	3.80	1.3 (0.62;2.57)
	>=1.25	4.39	2.62	1.7 (0.79;3.63)
Public administration, social security, police & defense	0	66.83	61.99	
	>0 to <0.5	1.46	3.44	0.4 (0.12;1.26)
	0.5 to <0.56	15.12	19.91	0.7 (0.45;1.05)

Industry group	Weighted duration (PWY) [years]	Exposed subjects [%]		OR ₂ (95%-CI)
		Cases (N=205)	Controls (N=1105)	
	>=0.56	16.59	14.66	1.0 (0.68;1.59)
Education & social work	0	94.63	93.85	
	>0 to <0.44	1.46	1.63	0.9 (0.26;3.18)
	0.44 to <0.56	1.95	2.35	0.9 (0.3 ;2.61)
	>=0.56	1.95	2.17	0.8 (0.28;2.46)
Health system	0	96.10	93.57	
	>0 to <0.9	2.44	4.26	0.8 (0.3 ;1.99)
	>=0.9	1.46	2.17	0.7 (0.2 ;2.32)

OR₂ = odds ratio adjusted for cryptorchidism reported as medically confirmed.

Risk estimates for ‘automobile trade & repair’ and for ‘transportation’ differed by periods ‘inside’ and periods ‘outside’ the study plants but the number of subjects in these subgroups were small. For ‘vehicle manufacturing’ the inside OR₂ was 1.0, 95%-CI 0.64-1.42 while the outside OR₂ was 1.5, 95%-CI 0.91-2.32 (see also ‘Detailed Analyses’ below).

A slight increase in risk with increasing lagging period was found for ‘manufacturing of glass, ceramics & stone’, ‘metal production/ scrap recycling’, and ‘manufacturing of fabricated metal products’, whereas a rather strong increase was seen for ‘real estate, renting & business activities’ and ‘religious & non-commercial organizations’, the latter was based only on a single case (data not shown). For the remaining industry groups lagging did not change the ORs substantially.

Detailed analyses:

Multivariate analyses concerning ever-never employment adjusting for the more prevalent occupational groups with increased risk estimates (‘machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers’, ‘plumbers, welders, sheet & structural metal workers’,

‘workers not elsewhere classified’) gave similar results as compared to univariate analyses. The same was true for adjustment by the industry groups ‘automobile trade & repair’, ‘transportation’, and ‘real estate, renting & business activities’.

A multivariate analysis stratified by subgroups within ‘machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers’ yielded comparable risk estimates for ‘machinery fitters and machine assemblers’ ($OR_2=1.39$; 95%-CI 1.02-1.88) and ‘motor vehicle mechanics’ ($OR_2=1.37$; 95%-CI 0.94-2.00). An increased risk for ‘watch, clock and precision instrument makers’ ($OR_2=2.56$; 95%-CI 0.65-10.1) was found while the risks for ‘aircraft engine mechanics’ ($OR_2=1.14$; 95%-CI 0.25-5.27) and ‘machinery fitters, machine assemblers and precision instrument makers (except electrical) not elsewhere classified’ ($OR_2=1.17$; 95%-CI 0.83-1.64) were not substantially elevated.

The subgroup analysis within ‘plumbers, welders, sheet & structural metal workers’ by 3-digit ISCO codes revealed increased risks among ‘structural metal preparers and erectors’ ($OR_2=2.30$; 95%-CI 1.27-4.27) and ‘welders and flame-cutters’ ($OR_2=1.5$; 95%-CI 0.95-2.21). The first subgroup showed a risk increase with increasing lagging period which was not the case for the latter.

Restriction of ‘workers not elsewhere classified’ to ‘laborers’ (ISCO-code=99910) revealed an OR_2 of 2.6 (95%-CI 1.37-5.01), while the remaining subgroup showed an OR_2 of 1.4 (95%-CI 0.64-3.11).

In the group ‘machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers’ metal-cutting jobs showed an OR_2 of 1.87 (95%-CI 1.31-2.67) while non-cutting jobs showed an OR_2 of 1.24 (95%-CI 0.68-2.28). The OR_2 was 1.57 (95%-CI 1.06-2.34) for metal-cutting

jobs in the group ‘plumbers, welders, sheet & structural metal workers’ and only 1.11 (95%-CI 0.65-1.91) for non-cutting jobs within this group. In neither of these four subgroups we observed an increasing risk with increasing YE or PWY. However, the distribution of the cumulative measures are positively skewed and the cut offs for the highest YE or PWY categories are 1 year or less.

Although the industry group ‘vehicle manufacturing’ did not show a conspicuous risk estimate, we conducted a multivariate subgroup analysis of the NACE-codes within this industry (first 3 digits, frequent subgroups). The subgroup ‘building and repairing of ships and boats’ emerged with a risk estimate of $OR_2=3.52$ (95%-CI 1.53-8.08) whereas the other subgroups (‘manufacture of motor vehicles’, ‘manufacture of parts & accessories for motor vehicles & their engines’, ‘other’) showed no substantially increased risks.

DISCUSSION:

A number of elevated risk estimates related to occupation and industry in this study provide hints to chemicals that might contribute to the causation and/or promotion of gonadal and extra-gonadal germ cell cancer. Our analyses were intended to find clues that might provide explanations for the elevated incidence of testicular cancer in this cohort of car-manufacturing workers.

We observed an increased risk for germ cell cancer among men who were employed as machinery fitters and machinery assemblers regardless of whether this employment took place before or after entering the cohort. All exposure categories of cumulative employment showed substantially increased risks in ‘machinery fitters, machinery assemblers & precision

instrument makers', no positive trend was seen with increasing exposure. A marginally increased risk was observed for 'plumbers, welders and structural metal workers'. Within both groups the risk was concentrated in metal-cutting jobs where exposure to cutting fluids is common. Furthermore, unskilled workers not elsewhere classified showed elevated risks, particularly for employment periods outside the study plants. Non-significantly elevated risks were observed among 'stone cutters and carvers', 'food, beverage and tobacco processors', 'chemical, rubber and plastic workers' as well as among 'miners'.

Analyses by job title or industry are not able to account for changing exposure patterns or intensities over time or changes in job activities as a result of technological changes. As a result, activities within the pre-defined occupational categories can be heterogeneous which makes it difficult to relate observed risks to agent exposures [29]. Consequently, this type of approach may inadvertently miss associations between exposure and disease that are concealed by the grouping chosen for analysis.

Nevertheless, the exploratory analysis of subgroups within predefined categories and the combination of jobs that have an exposure of interest in common may provide clues towards causal agents that may then be investigated in depth by refined methods of exposure assessment. Job titles and industries can be recalled with little error by respondents. They provide robust information on occupational factors that are less prone to misclassification than self-reported agent exposures and may thus serve as a useful starting point for the identification of occupational hazards [30].

YE comprise time periods with fulltime and part-time exposure, while PWY allow for more precise estimation of the cumulative exposure time. Neither YE nor PWY provide information on exposure intensity with regard to a particular agent. However, PWY provide the best

surrogate for cumulative exposure in the absence of other data on exposure intensity. YE and PWY may be useful measures when even low exposure levels can cause an effect which may be the case for endocrine disrupting agents. However, the corresponding YE and PWY analyses added little to the overall analysis of job groups and industries by ever-never employment status.

Within the industry group 'vehicle manufacturing' the subgroup 'building and repairing of ships and boats' emerged with a substantially increased risk. But the small prevalence of this subgroup and the occupational groups within it could not explain the risk seen for 'machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers'.

Testicular cancer has been associated with various occupations including metal workers, farmers, textile workers, police officers, fire-fighters, sales and service managers, but findings were inconsistent across studies [24, 31, 32, 33]. The previously observed association with employment as a metal worker is corroborated by our study. The prevalence of many of the occupational and industry groups outside the metal trade was low in our study and the corresponding duration of employment (YE) usually short. Thus the ability of our study to confirm or refute previous findings for occupations outside the metal industry is limited.

An association between risk of testicular cancer and metal-processing work has been frequently reported. Pollan et al. [24] observed an elevated incidence of testicular cancer for metal workers. Andersson et al. [3] attributed an increased risk for workers in pulp and paper manufacturing to metal-working. The risk for 'fitters and assemblers' previously reported by Pearce et al. [25] is comparable to the risk estimates found in this study, where a preponderance of cases who had worked as motor vehicle mechanics was observed within this group [25].

The increased risks for metal-cutting jobs within the group ‘machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers’ and within the group ‘plumbers, welders, sheet & structural metal workers’ correspond with previously observed positive findings for ‘metal trimming’ [18]. Several publications confirmed a possible carcinogenic potential of metalworking fluids (MWF) [34-39], but an explicit association with testicular cancer has never been described before. MWF are a complex mixture of chemicals and toxic microbial agents [40]. In addition, the composition of MWF has changed over the last decades and depends on the workplace under study [40, 41]. Therefore it is difficult to attribute the observed associations to a specific compound. Nevertheless, updates of previous studies indicate that despite changes in composition of and reduced exposure levels to MWF cancer risk has not been attenuated [41]. Notably, most of the associations between cancer and MWF so far were based on observations in the automobile manufacturing industry.

We did not observe an increased risk for ‘blacksmiths, toolmakers & machine-tool operators’ or subgroups therein where metal-cutting is frequent. In combination with the elevated risk for metal cutting jobs within the groups ‘machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers’ and ‘plumbers, welders, sheet & structural metal workers’ this could be a hint that agents used for specific metal cutting procedures are responsible for a risk increase and not metal cutting procedures in general. No increasing risk with increasing YE or PWY for employments entailing metal-cutting activities of ‘machinery fitters, machinery assemblers & precision instrument makers’ and ‘plumbers, welders, sheet & structural metal workers’ was observed. However, but the small range of YE and PWY in these job groups impairs the ability of our study to detect a possible dose-effect relationship for metal cutting jobs.

The non-elevated risk estimate we observed for employment as a ‘service worker’ found here does not correspond to the findings presented in the literature [11, 25]. However, the slight trend of increasing risks with increasing YE and PWY –although weak– may point to an increase of risk for this particular job category.

The threefold risk of testicular cancer for ‘welding’ which was reported in the literature [18] was higher than our findings for the group of ‘welders and flame-cutters’. No increasing risks were observed with increasing lagging period, and risks rather decreased with increasing YE or PWY which might point towards other factors not related to welding that may be responsible for the slightly elevated risk estimates in our study. On the other hand, we observed an elevated risk for ‘structural metal preparers and erectors’, a subgroup of ‘plumbers, welders, sheet & structural metal workers’ where welding and flame cutting are common, which resembles the findings in the literature.

The endocrine disrupting potential of several chemical substances such as phthalates is supposed to promote testicular cancer. However, the few studies which have addressed this hypothesis have not provided convincing evidence so far. Exposure to PVC was discussed as a risk factor for testicular cancer [42] but the association was not confirmed in a later study by the same authors [43]. The number of our study participants employed as ‘chemical, rubber and plastics workers’ is too small to support either of these findings.

CONCLUSIONS:

Our findings do not fully explain the increased incidence of testicular cancer in the study cohort, but they support previous findings showing increased testicular cancer risks for metal workers. Risk increases were found in metal-cutting occupations, ‘machinery fitters,

machinery assemblers & precision instrument makers', 'structural metal preparers and erectors', 'laborers not elsewhere classified' and the industries 'transportation', 'automobile trade & repair' and 'building and repairing of ships and boats'. For none of these associations a corresponding increasing risk with cumulative employment time was found. Further analyses of agent exposures may clarify whether these workers suffer from an increased risk for testicular cancer due to occupational exposures.

ACKNOWLEDGEMENT:

This work was funded by the "Vereinigung der Metall-Berufsgenossenschaften" and the "German Social Accident Insurance" (DGUV). We received supplementary funding from the company, where the project was performed. We are independent from the company in study design, access to the collected data, responsibility for data analysis and interpretation, and the right to publish. The views expressed in this paper are those of the authors and not necessarily those of the above sponsors. We are grateful to the study subjects who agreed to report their occupational history and other lifestyle factors in a detailed interview.

LITERATURE:

1. Garner MJ, Turner MC, Ghadirian P, Krewski D. Epidemiology of testicular cancer: an overview. *Int J Cancer* 2005;116(3):331-9.
2. Ross RK, McCurtis JW, Henderson BE, Menck HR, Mack TM, Martin SP. Descriptive epidemiology of testicular and prostatic cancer in Los Angeles. *Br J Cancer* 1979;39:284-92.
3. Andersson E, Nilsson R, Toren K. Testicular cancer among Swedish pulp and paper workers. *Am J Ind Med* 2003;43:642-6.

4. Davis RL, Mostofi FK. Cluster of testicular cancer in police officers exposed to hand-held radar. *Am J Ind Med* 1993;24:231–3.
5. Finkelstein MM. Cancer incidence among Ontario police officers. *Am J Ind Med* 1998;34:157–62.
6. Fleming LE, Bean JA, Rudolph M, Hamilton K. Cancer incidence in a cohort of licensed pesticide applicators in Florida. *J Occup Environ Med* 1999;41:279–88.
7. Garland FC, Gorham ED, Garland CF, Ducatman AM. Testicular cancer in US Navy personnel. *Am J Epidemiol* 1988;127:411–4.
8. Graham S, Gibson R, West D, Swanson M, Burnett W, Dayal H. Epidemiology of cancer of the testis in upstate New York. *J Natl Cancer Inst* 1977;58:1255–61.
9. Hardell L, Nasman A, Ohlson CG, Fredrikson M. Case-control study on risk factors for testicular cancer. *Int J Oncol* 1998;13:1299–303.
10. Hayes RB, Brown LM, Pottern LM, Gomez M, Kardaun JW, Hoover RN, O'Connell KJ, Stutzman RE, Javadpour N. Occupation and risk for testicular cancer: a case-control study. *Int J Epidemiol* 1990;19: 825–31.
11. Knight JA, Marrett LD, Weir HK. Occupation and risk of germ cell testicular cancer by histologic type in Ontario. *J Occup Environ Med* 1996;38:884–90.
12. Marshall EG, Melius JM, London MA, Nasca PC, Burnett WS. Investigation of a testicular cancer cluster using a case-control approach. *Int J Epidemiol* 1990;19:269–73.
13. Mills PK, Newell GR, Johnson DE. Testicular cancer associated with employment in agriculture and oil and natural gas extraction. *Lancet* 1984;1:207–10.
14. Rhomberg W, Schmoll HJ, Schneider B. High frequency of metalworkers among patients with seminomatous tumors of the testis: a case-control study. *Am J Ind Med* 1995;28:79–87.
15. Swerdlow AJ, Skeet RG. Occupational associations of testicular cancer in southeast England. *Br J Ind Med* 1988;45:225–30.
16. Tarone RE, Hayes HM, Hoover RN, Rosenthal JF, Brown LM, Pottern LM, Javadpour N, O'Connell KJ, Stutzman RE. Service in Vietnam and risk of testicular cancer. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:1497–9.
17. Van den Eeden SK, Weiss NS, Strader CH, Daling JR. Occupation and the occurrence of testicular cancer. *Am J Ind Med* 1991;19: 327–37.
18. Walschaerts M, Muller A, Auger J, Bujan L, Guérin JF, Le Lannou D, Clavert A, Spira A, Jouannet P, Thonneau P. Environmental, occupational and familial risks for testicular cancer: a hospital-based case-control study. *Int J Androl* 2007;30(4):222–9.
19. Levin SM, Baker DB, Landrigan PJ, Monaghan SV, Frumin E, Braithwaite M, Towne W. Testicular cancer in leather tanners exposed to dimethylformamide. *Lancet* 1987;2:1153.

20. Ducatman AM, Conwill DE, Crawl J. Germ cell tumors of the testicle among aircraft repairmen. *J Urol* 1986;136:834–6.
21. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. Lyon: IARC, 1999; 71:545.
22. Kristensen P, Andersen A, Irgens LM, Bye AS, Vagstad N. Testicular cancer and parental use of fertilizers in agriculture. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:3–9.
23. Haughey BP, Graham S, Brasure J, Zielezny M, Sufrin G, Burnett WS. The epidemiology of testicular cancer in upstate New York. *Am J Epidemiol* 1989;130:25–36.
24. Pollán M, Gustavsson P, Cano MI. Incidence of testicular cancer and occupation among Swedish men gainfully employed in 1970. *Ann Epidemiol* 2001;11(8):554–62.
25. Pearce N, Sheppard RA, Howard JK, Fraser J, Lilley BM. Time trends and occupational differences in cancer of the testis in New Zealand. *Cancer* 1987;59(9):1677–82.
26. Schottenfeld D. Testicular cancer. In: *Cancer epidemiology and prevention*. New York, Oxford University Press: Schottenfeld D, Fraumeni J F, Second edition 1996:1207–19.
27. International Labour Office. *International Standard Classification of Occupations*. Swiss, Geneva: International Labour Office, ISCO68, Revised Edition, 1968.
28. European Commission. *National industrial classification of all economic activities (NACE)*. Luxembourg: Office for Official Publications of the EC, Revision 1 (2nd ed.). 1993.
29. Siemiatycki J. Future etiologic research in occupational cancer. *Environ Health Perspect* 1995;103 Suppl 8:209–215.
30. Ahrens W. Retrospective assessment of occupational exposure to carcinogens in epidemiologic case-control studies. Development, evaluation, and comparison of different methods. Bremen, Landsberg: Ecomed 1999.
31. Pearce NE, Howard JK. Occupation, social class and male cancer mortality in New Zealand, 1974–78. *Int J Epidemiol* 1986;15(4):456–62.
32. Rhomberg W, Schmoll HJ. High incidence of metal workers among patients with testicular cancer. New York, Marcel Dekker: Nieburgs HE (ed.) *Detection and Prevention of Cancer. Part II, Vol. 2.*, 1978:1737–1743.
33. Stang A, Jöckel KH, Baumgardt-Elms C, Ahrens W. Firefighting and risk of testicular cancer: results from a German population-based case-control study. *Am J Ind Med* 2003;43(3):291–4.
34. Mirer FE, Silverstein MA, Park R, Maizlish N. Occupational cancer in metalworking and transportation equipment industries. *Ann N Y Acad Sci* 1988;534:387–93.

35. Savitz DA. Epidemiologic evidence on the carcinogenicity of metalworking fluids. *Appl Occup Environ Hyg* 2003;18(11):913-20.
36. Malloy EJ, Miller KL, Eisen EA. Rectal cancer and exposure to metalworking fluids in the automobile manufacturing industry. *Occup Environ Med* 2007;64(4):244-9.
37. Agalliu I, Kriebel D, Quinn MM, Wegman DH, Eisen EA. Prostate cancer incidence in relation to time windows of exposure to metalworking fluids in the auto industry. *Epidemiology* 2005;16(5):664-71.
38. Bardin JA, Gore RJ, Wegman DH, Kriebel D, Woskie SR, Eisen EA. Registry-based case-control studies of liver cancer and cancers of the biliary tract nested in a cohort of autoworkers exposed to metalworking fluids. *Scand J Work Environ Health* 2005;31(3):205-11.
39. Park RM. Mortality at an automotive engine foundry and machining complex. *J Occup Environ Med* 2001;43(5):483-93.
40. Gordon T. Metalworking fluid—the toxicity of a complex mixture. *J Toxicol Environ Health A* 2004;67(3):209-19.
41. Mirer F. Updated epidemiology of workers exposed to metalworking fluids provides sufficient evidence for carcinogenicity. *Appl Occup Environ Hyg* 2003;18(11):902-12.
42. Hardell L, Ohlson CG, Fredrikson M. Occupational exposure to polyvinyl chloride as a risk factor for testicular cancer evaluated in a case-control study. *Int J Cancer* 1997;73(6):828-30.
43. Hardell L, Malmqvist N, Ohlson CG, Westberg H, Eriksson M. Testicular cancer and occupational exposure to polyvinyl chloride plastics: a case-control study. *Int J Cancer* 2004;109(3):425-9.

Analytische Studie zu männlichen Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Metallindustrie



Wissenschaftlicher Schlussbericht
Teil B -Biomonitoring
(30.11.2009)

Birte Mester
Nils Schmeißer
Ingo Langner
Thomas Behrens
Wolfgang Ahrens

Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin (BIPS)
Abt. Epidemiologische Methoden und Ursachenforschung
Universität Bremen
Linzer Strasse 8 – 10
D- 28359 Bremen
Tel.: 0049 – 421 – 59596 – 0
FAX: 0049 – 421 – 59596 – 65
Email: ahrens@bips.uni-bremen.de
Internet: www.bips.uni-bremen.de

Inhaltsverzeichnis

	Tabellenverzeichnis.....	4
	Abbildungsverzeichnis.....	5
	Abkürzungsverzeichnis.....	6
	Zusammenfassung.....	8
1	Einleitung	10
2	Material und Methoden.....	11
2.1	Probandenauswahl, Probandenansprache und Terminvereinbarung	11
2.2	Verfahren zur Gewinnung des biologischen Materials	11
2.3	Versand und Lagerung	14
2.4	Biomonitoring-Fragebogen.....	14
2.5	Biomonitoring-Datenbank	14
2.6	Analytik	15
2.7	Abgleich der Tätigkeiten zum Interviewzeitpunkt und zum Zeitpunkt der Probengewinnung.....	15
2.8	Statistische Methoden	15
2.8.1	Deskription der Studienteilnehmer am Biomonitoring	15
2.8.2	Expositionseinstufung der Beschäftigungsphase zum Probennahmezeitpunkt.....	15
2.8.3	Biomonitoring-Messergebnisse	16
2.8.4	Vergleichende Analysen	17
3	Ergebnisse	18
3.1	Deskription der Biomonitoring-Probanden.....	18
3.2	Ergebnisse Biomonitoring	19
3.3	Ergebnisse Bioassays	27
3.3.1	Ergebnisse E-SCREEN ER-CALUX	27
3.3.2	Verknüpfung Ergebnisse Biomonitoring-Analytik E-Screen.....	29
4	Diskussion	31
5	Schlussfolgerungen.....	36
6	Literaturverzeichnis	38
7	Anhang.....	38

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1: Zuordnung der einzelnen bei den chemischen Analysen berücksichtigten Substanzen zu den in der Expositionseinstufung differenzierten Stoffen.	17
Tabelle 3-1: Aufschlüsselung der Biomonitoring-Probanden nach Werk	19
Tabelle 3-2: Deskription der Ergebnisse aus dem Biomonitoring	20
Tabelle 3-3 : Mittelwerte, Mediane, t-Tests und Wilcoxon-Tests nach Rauchstatus	21
Tabelle 3-4: Anzahl zum Zeitpunkt der Bioprobenentnahme gegenüber ausgesuchten Substanzen exponierte Biomonitoringprobanden sowie Intensität der Exposition laut Expositionseinstufung.....	22
Tabelle 3-5: Wahrscheinlichkeit aktueller Expositionen für Biomonitoring-Probanden laut Expositionseinstufung.....	23
Tabelle 3-6: Messergebnisse unterhalb und oberhalb der NWG im Biomonitoring und aktueller Expositionsstatus laut Expositionseinstufung	24
Tabelle 3-7: Messergebnisse unterhalb und oberhalb der NWG im Biomonitoring und aktueller Expositionsstatus laut Expositionseinstufung nach Schwellenkriterium	24
Tabelle 3-8: Mittelwerte und Mediane der Biomonitoring-Messwerte stratifiziert nach Expositionseinstufungsergebnis sowie Test auf Unterschied der Gruppen hinsichtlich Verteilung der Biomonitoring-Messwerte und Korrelation dieser mit den Indizes für inhalative und dermale Exposition laut Expositionseinstufung.	26
Tabelle 3-9: Aufschlüsselung der zentralen Lagewerte Mittelwert mit Standardabweichung sowie Median nach Werk.	28

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2-1: Beispiele für ID-Etiketten mit sechsstelliger ID-Nummer und mit zusätzlicher zweistelliger Endziffer.....	12
Abbildung 2-2: Schema zur Verarbeitung der biologischen Proben.....	13
Abbildung 3-1: Darstellung der Messergebnisse der Östrogen-Aktivität als Boxplot mit (1) und ohne (2) Einbeziehung der NWG-Werte.	1
Abbildung 3-2: Darstellung der Messergebnisse der Östrogen-Aktivität für Werk A bis F.....	28
Abbildung 3-3: Mittelwerte und Standardabweichung der Östrogen-Aktivität in pmol EEQ / l Plasma nach Arbeitsdauer für Probanden ohne Angabe der Arbeitszeit (N=4), zwischen 1 und 5 Arbeitsstunden (N=47) und mehr als 5 Arbeitsstunden (N=147).....	29
Abbildung 3-4: Korrelation zwischen Bisphenol A Konzentration im Urin und gemessener Östrogen-Aktivität in pmol/l Plasma für 183 Probanden.	30
Abbildung 3-5: Korrelation zwischen der Konzentration von Phthalatmetaboliten im Urin und gemessener Östrogen-Aktivität in pmol/l Plasma für 182 Probanden.	30

Abkürzungsverzeichnis

1B2P	1-Butoxy-2-propanol
1E2P	1-Ethoxy-2-propanol
1M2P	1-Methoxy-2-propanol
1MP2A	1-Methoxypropyl-2-acetat
2HMSI	2-Hydroxy-N-methylsuccinimid
3E1P	3-Ethoxy-1-propanol
5HNMP	5-Hydroxy-N-methylpyrrolidon
5OHMEHP	Mono-5-hydroxy-2-ethylhexylphthalat
BDS	BioDetectionSystems
BG	Berufsgenossenschaft
BGFA	Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung
BIPS	Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin
BPA	Bisphenol A
Co	Kobalt
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DEGDE	Diethylenglykoldiethylether
DEGDME	Diethylenglykoldimethylether
DGDE	Diethylglykoldimethylether
DGMBE	Diethylenglykolmonobutylether
DGMBEA	Diethylenglykolmonobutyletheracetat
DGME	Diethylenglykolmonomethylether
DGMEA	Diethylenglykolmonoethyletheracetat
DGMEE	Diethylenglykolmonoethylether
DIDP	Di-isodecyl-phthalat
DINP	Di-isononyl-phthalat
DMSO	Dimethylsulfoxyd
DOP	Dioctylphthalat (synonym: DEHP, Di-(2-ethylhexyl)-phthalat)
DPGME	Dipropylenglykolmonomethylether
EDC	Endocrine disrupting chemical
EEQ	17 β -Estradiol-Equivalents Quotient
EGBE	Ethylenglykolmonobutylether
EGEE	Ethylenglykolethylether
Fe	Eisen

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

HVBG	Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften
ID	Studienteilnehmernummer
IEEA	Individual expert exposure assessment
ISCO	International Standard Classification of Occupations
JEM	Job Exposure Matrix
Kfz	Kraftfahrzeug
KI	Konfidenzintervall
MBzP	Monobenzylphthalat
Mn	Mangan
MnBP	Mono-n-butylphthalat
NACE	Nomenclature générale des activités dans les communautés Européennes
o.n.A.	ohne nähere Angabe
OPH	Operationshandbuch
OR	Odds Ratio
Pb	Blei
PGDA	Propylenglykoldiacetat
p,p-DDE	Dichlordiphenyldichlorethen
PVC	Polyvinylchlorid
TEF	Toxizitätsäquivalenzfaktoren
TEGME	Triethylenglykolmonoethylether
VMBG	Vereinigung der Metall-Berufsgenossenschaften
ZB	Zusatzbogen

Zusammenfassung

Zielsetzung:

Ziel des Studienteils „Biomonitoring“ war die Untersuchung der grundsätzlichen Eignung des Einsatzes von Biomonitoring-Verfahren bei der Expositionseinstufung für die im Rahmen dieser Studie interessierenden Substanzen. Der Frage wurde sowohl im Hinblick auf Einzelsubstanzen durch ein Biomonitoring als auch für gleichgerichtete hormonelle Aktivitäten durch den Einsatz von Bioassays nachgegangen.

Studienkollektiv und Methoden:

Ursprünglich war beabsichtigt, Bioproben von allen Studienteilnehmern zum Zeitpunkt des Interviews zu gewinnen. Hierbei sollte anhand einer Stichprobe, die nach der finalen Expositionseinstufung zu ziehen war, untersucht werden, inwieweit sich Expositionseinstufungen für aktuelle Berufstätigkeiten in Biomonitoring-Analysen widerspiegeln. Nach Beschluss des Lenkungskreises musste das Vorhaben dahin gehend geändert werden, zum einen nur in einer Stichprobe der Studienteilnehmer Bioproben zu gewinnen und diese zu einem Zeitpunkt auszuwählen, zu dem die Expositionseinstufung noch nicht final war, und zum anderen die Bioprobennahme erst nach dem Interview vorzunehmen.

Anhand eines Auswahlchlüssels auf Grundlage der vorläufigen Expositionseinstufung mittels der Job-Exposure-Matrix wurden 275 aktuell beim Kfz-Hersteller beschäftigte Studienteilnehmer mit hohen Expositionen gegenüber mindestens einem der zu untersuchenden Arbeitsstoffe ausgewählt und zur Gewinnung biologischen Materials eingeladen. Endgültige Expositionsbewertungen erfolgten mit Hilfe der automatischen Einstufungen durch die Job-Exposure-Matrix und durch zusätzliche individuelle Expositionseinstufungen durch einen interdisziplinären Arbeitskreis. Messungen sowohl der inneren Belastung gegenüber einzelnen Arbeitsstoffen als auch der Östrogen-Aktivität erfolgten in biologischen Proben von 200 Studienteilnehmern. Neben deskriptiven statistischen Verfahren wurden verschiedene statistische Analysen zur Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen innerer Belastung für ausgewählte Arbeitsstoffe und der endgültigen Expositionseinstufung sowie zwischen innerer Belastung und Östrogenaktivität durchgeführt.

Ergebnisse:

In der endgültigen Expositionseinstufung wurden deutlich weniger Studienteilnehmer als exponiert eingestuft als durch die vorläufige Expositionseinstufung. Dieses führte zu einer Einschränkung der Aussagekraft des Studienteils Biomonitoring. Bei der Messung der inneren Belastung lagen zudem viele der Messwerte unterhalb der Nachweisgrenze. Beides zusammen führte dazu, dass für die meisten Stoffe keine sinnvolle Aussage zum Zusammenhang zwischen Expositionseinstufung und Ergebnis des Biomonitoring möglich war. Eine Stratifizierung nach Raucherstatus zeigte nur geringe Unterschiede der Mediane und Mittelwerte zwischen Rauchern und Nichtrauchern. Für Glykolether wurde ein Zusammenhang zwischen beruflichem Expositionsstatus und Biomonitoringmesswerten (p -Wert=0,007) gezeigt. Die Messwerte der inneren Belastung lagen jedoch bei als exponiert eingestuften Personen nur geringfügig höher (DGMBEA 0,31 mg/l) als bei nicht exponierten Personen (DGMBEA 0,14 mg/l). Für keinen der weiteren Stoffe wurde eine statistisch signifikante Korrelation zwischen beruflichem Expositionsstatus und den Biomonitoringmesswerten nachgewiesen.

Es zeigten sich keine Korrelationen zwischen gemessener innerer Belastung (Bisphenol A, Phthalate und Eisen) und der Östrogenaktivität.

Schlussfolgerungen:

Die durch die Änderung des ursprünglich vorgesehenen Studiendesigns notwendige Probandenauswahl auf Grundlage der vorläufigen Expositionseinstufung führte durch die niedrige Expositionsprävalenz im Auswahlkollektiv zu einer erheblichen Verminderung der Aussagekraft dieses Studienteils. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Expositionsstatus und Biomonitoringmesswerten konnte nur für die Stoffklasse der Glykolether gezeigt werden. Auf der Grundlage der durch die Untersuchungen nun vorhandenen Kenntnisse zur Expositionsprävalenz wird eine Ausdehnung der Biomonitoringuntersuchungen auf weitere aktuell beim Kfz-Hersteller beschäftigte Studienteilnehmer für Bisphenol A und die Gruppe der Glykolether empfohlen, um die Gruppe der entsprechend exponierten Personen anzureichern.

Die gemessene Gesamt-Östrogenaktivität im E-Screen-Assay korrelierte nicht mit der gemessenen inneren Belastung gegenüber Phthalaten, Bisphenol A oder Eisen. Diese Untersuchungen sollten auch auf ein größeres Probandenkollektiv und weitere Hormonaktivitäten wie die anti-androgene Aktivität ausgedehnt werden.

1 Einleitung

Der Begriff „Biomonitoring“ wird im Rahmen der Studie im Sinne von Dosismonitoring verstanden, bei dem der Gehalt von Arbeitsstoffen oder deren Abbauprodukten in biologischem Material, hier Blut und Urin, bestimmt wird. Das im Berichtsteil A beschriebene „epidemiologische“ Konzept zur Expositionsermittlung bezieht sich auf das Vorhandensein von Arbeitsstoffen in der umgebenden Luft bzw. in verwendeten Arbeitsmaterialien und beschreibt damit die Möglichkeit einer Aufnahme in den Körper. In Ergänzung dazu untersucht das „Biomonitoring“ die ‚innere Exposition‘, also den Gehalt der Substanzen, die tatsächlich in den Körper aufgenommen wurden und in den untersuchten Materialien nachgewiesen werden können.

Die unterschiedlichen Ansätze und Möglichkeiten bei der Expositionsermittlung und –beschreibung zwischen klassisch epidemiologischen und Biomonitoring-Studien haben wiederholt zu unterschiedlichen, teils widersprüchlichen Studienergebnissen geführt und machen einen direkten Vergleich von Ergebnissen problematisch (Ritter u. Arbuckle 2007). Expositionsermittlungen innerhalb von epidemiologischen Studien sind oftmals nicht in der Lage, eine genaue Quantifizierung der Expositionsverhältnisse zu liefern. Darüber hinaus können sie nicht erfassen, inwieweit die Substanzen tatsächlich in den Körper und somit an den jeweiligen Wirkungsort gelangen. Biomonitoringergebnisse hingegen beschreiben die im Körper vorliegenden Verhältnisse, können aber keine Aussage zur Quelle der Exposition machen. Da beide Studienarten über jeweilige Vor- und Nachteile bei der Expositionscharakterisierung verfügen, liegt es nahe, einen kombinierten Ansatz sowohl bei der Expositionsermittlung für einzelne Substanzen als auch bei der Ursachenermittlung für zu untersuchende Krankheitsbilder zu wählen. Bei der Einbeziehung von Biomonitoring-Untersuchungen in epidemiologische Studien sind jedoch vorab einige kritische Punkte zu beachten. Hierzu zählen die Betrachtung nur eines oder weniger „Momentaufnahmen“, der Umgang mit Messergebnissen unterhalb der Nachweisgrenze, der zeitliche Verzug zwischen Expositionszeitpunkt und Probengewinnung, die eventuell eingeschränkte Variationsbreite zwischen unterschiedlichen Studienteilnehmern und die möglicherweise hohe Schwankungsbreite innerhalb eines Individuums. Einzelne dieser Problempunkte werden am Ende dieses Berichts im Bezug auf die Einbeziehung des Biomonitorings in die vorliegende Studie diskutiert.

Wie bereits in der Einleitung zum Berichtsteil A dargestellt, stellen Expositionen gegenüber so genannten endokrinen Disruptoren, also Substanzen, die aufgrund ihrer chemischen Struktur in das Hormonsystem des Menschen einwirken können, einen zentralen Fokus innerhalb der vorliegenden Studie dar. Es gibt eine Anzahl von Substanzen mit Wirkung auf das menschliche Hormonsystem und die Wege einer möglichen Exposition sind mannigfaltig. Das Ausmaß der Wirkung hängt von verschiedenen Einflussfaktoren ab wie zum Beispiel dem Zeitpunkt und der Zeitspanne der Einwirkung. Von besonderer Bedeutung ist zudem das Zusammenspiel verschiedener gleichzeitig einwirkender endokriner Disruptoren. So kommt es auch zu deutlichen Kombinationseffekten, wenn die Einzelsubstanzen nur in so geringen Maßen vorliegen, dass von ihnen keine messbare Wirkung ausgeht (Kortenkamp 2007). Vor diesem Hintergrund sollten Untersuchungen von biologischem Material nicht nur die Messung von Einzelsubstanzen wie beim „klassischen“ Biomonitoring umfassen, sondern insbesondere die Messung von Kombinationswirkungen anstreben. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde hierzu ein Einsatz so genannter Bioassays gewählt.

Das Ziel des Studienteils „Biomonitoring“ war es, die prinzipielle Eignung eines Biomonitoring zur Optimierung der Expositionsermittlung im Rahmen der Studie zu untersuchen. Zur Beantwortung dieser Frage sollte zunächst für ausgewählte Arbeitsstoffe bzw. deren Metabolite

abgeschätzt werden, ob die innere Belastung bei aktuell laut bisheriger Expositionseinstufung als exponiert eingestuften Studienteilnehmern höher liegt als bei vermutlich nicht oder nur gering exponierten Studienteilnehmern. Auf Basis dieser Ergebnisse soll entschieden werden, ob die Daten des Biomonitoring für die Expositionseinstufung der Studienteilnehmer nutzbar sind und ob es empfehlenswert ist, weitere Studienteilnehmer in das Biomonitoring einzubeziehen.

Es ist zu betonen, dass das Biomonitoring nicht der Validierung der JEM dienen kann und soll. Im Gegensatz zur JEM, welche langfristige durchschnittliche Expositionen in der Kfz-Industrie über mehrere Jahre zu erfassen sucht, ist das Biomonitoring eine spezifische Momentaufnahme zu einem bestimmten Tag. Es bildet lediglich die aktuellen Expositionsverhältnisse, z.B. der Schichten der laufenden Arbeitswoche ab. Arbeiter, die während dieses Zeitraums nicht mit einem typischen Arbeitsstoff in Kontakt gekommen sind, werden keine erhöhten Werte im Biomonitoring liefern, obwohl sie an einem anderen Tag bei Ausführung anderer Tätigkeiten möglicherweise regelmäßig gegenüber dem betreffenden Arbeitsstoff exponiert gewesen sein können.

2 Material und Methoden

2.1 Probandenauswahl, Probandenansprache und Terminvereinbarung

Informationen zum Auswahlverfahren der Teilnehmer am Studienteil „Biomonitoring“ und zum Verfahren der Ansprache der ausgewählten Studienteilnehmer finden sich im Kapitel 2.3.5. des Abschlussberichts Teil A. Die Termine wurden so vereinbart, dass die jeweiligen Probanden zum Probenentnahmezeitpunkt bereits den dritten Arbeitstag in Folge gearbeitet und am Tag der Probenentnahme bereits sechs Stunden an ihrem Arbeitsplatz verbracht haben sollten. Eine Liste der jeweils für eine Kalenderwoche vereinbarten Termine wurde vor Wochenbeginn durch das BIPS an die Labore der einzelnen Werkstandorte des Kfz-Herstellers versandt. Die Gewinnung und die Verarbeitung des biologischen Materials vor Ort wurden dann durch die Labormitarbeiter durchgeführt.

2.2 Verfahren zur Gewinnung des biologischen Materials

Die Gewinnung und Verarbeitung der biologischen Materialien erfolgte nach einem fest vorgegebenen Ablaufplan. Die Umsetzung der einzelnen Arbeitsschritte waren vor Beginn der Erhebungsphase mit den einzelnen Mitarbeiterinnen vor Ort durch Mitarbeiterinnen des BIPS geschult worden. Zu diesen Terminen wurden den Labormitarbeiterinnen auch die benötigten Labormaterialien und ID-Etiketten für jeden Biomonitoring-Probanden (Abbildung 2-1) übergeben. Bei den ID-Etiketten handelte es sich einerseits um Etiketten mit der sechsstelligen ID-Nummer des Probanden. Diese Etiketten dienten zur Kennzeichnung von Dokumentationsbögen, Fragebögen (s.u.) sowie Urinsammelgefäßen und Gefäßen zur Blutgewinnung (S-Monovetten®). Darüber hinaus gab es weitere ID-Etiketten zur Kennzeichnung der Gefäße zur späteren Lagerung der Proben. Diese ID-Etiketten verfügten über die sechsstellige ID-Nummer des Probanden und über eine zusätzliche zweistellige Endziffer, anhand derer der genaue Inhalt des Röhrchens zu erkennen ist. Welche Endziffer welchem Probeninhalt zugeordnet ist, ist in Abbildung 2-2 zu erkennen.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Abbildung 2-1: Beispiele für ID-Etiketten mit sechsstelliger ID-Nummer und mit zusätzlicher zweistelliger Endziffer



Vor der Gewinnung der biologischen Proben wurden die Probanden aufgefordert, gründlich ihre Unterarme zu waschen, um eine Kontamination der Proben durch Verunreinigungen zu vermeiden.

Die Entnahme venösen Blutes erfolgte nach Hautdesinfektion durch Punktion einer peripheren Unterarmvene in drei Probengefäße (S-Monovette® mit Lithium-Heparin für Metall-Analytik, S-Monovette® mit Kalium-EDTA und S-Monovette® für Serum, alle Firma Sarstedt). Die Probengefäße wurden vorab mit den entsprechenden ID-Etiketten versehen.

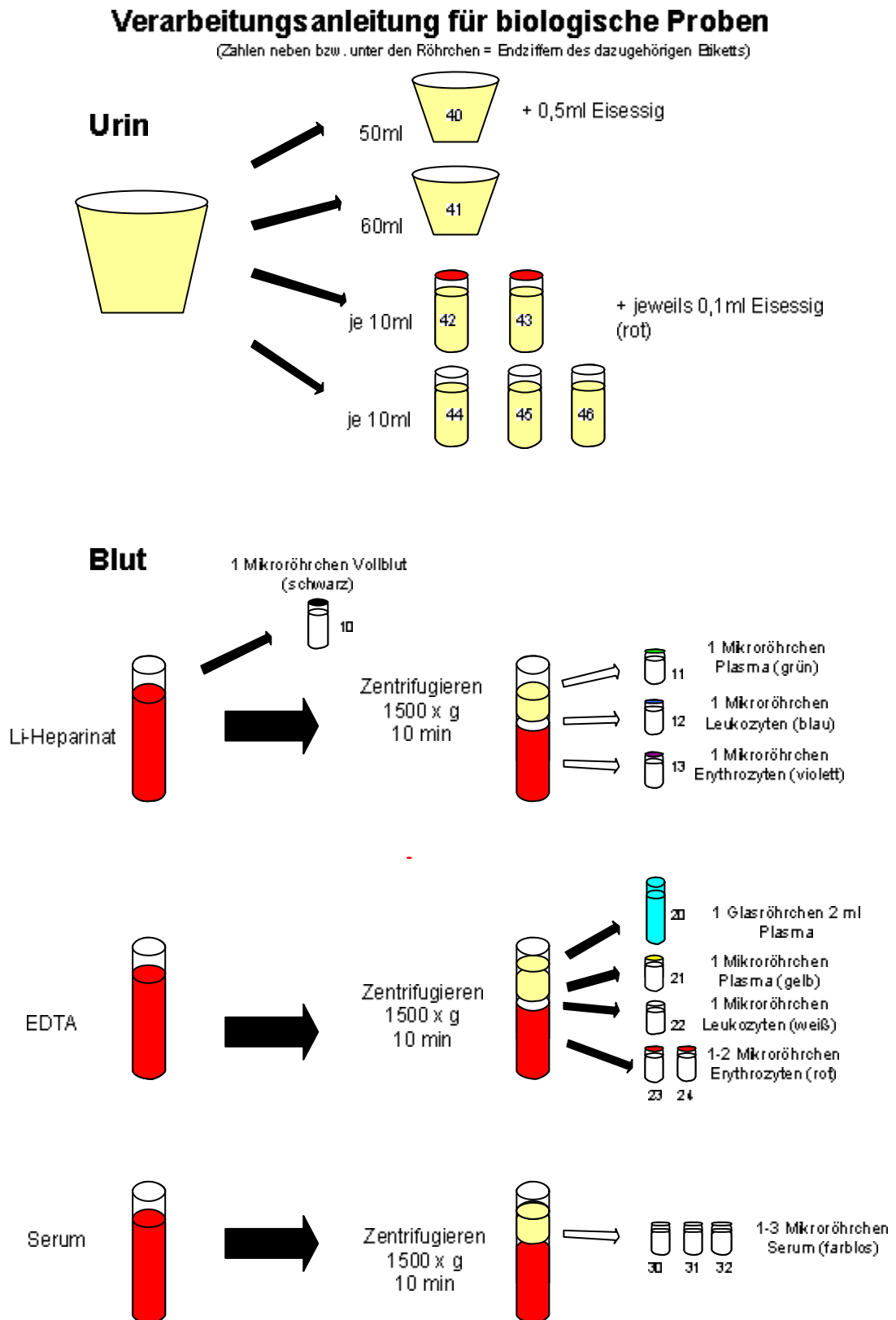
Für die Gewinnung der Spontanurinprobe wurden die Probanden gebeten, nach einer mindestens zweistündigen Phase ohne Urinentleerung eine Urinprobe (mindestens 180 ml) in dem dafür vorgesehenen, mit dem entsprechenden ID-Etikett versehenen Probengefäß (Polypropylen-Urinsammelgefäß, 250ml mit Weithals, Firma Sarstedt) aufzufangen.

Besondere Bedingungen bei der Abnahme sowie der genaue Zeitpunkt der Probengewinnung wurden auf mit den jeweiligen ID-Etiketten versehenen Dokumentationsbögen festgehalten. Das Formular der Dokumentationsbögen findet sich im Anhang.

Die Verarbeitung der Urinprobe erfolgte entsprechend der Verarbeitungsanleitung für biologische Proben (Abbildung 2-2). 50 ml des Urins wurden in ein 60-ml-Urin-Probengefäß (Polypropylen, 60 ml, Firma Sarstedt) überführt und mit 0,5 ml Eisessig versetzt. Weitere 60 ml der Urinprobe wurden in ein 70-ml-Urin-Probengefäß (Polypropylen, 70 ml, Firma Sarstedt) überführt. Je 10 ml der Urinprobe wurden in zwei 13-ml-Urin-Probengefäße (Polypropylen, 13 ml, Firma Sarstedt) überführt und mit jeweils 0,1 ml Eisessig versetzt. Diese Probengefäße wurden zur schnelleren Identifizierung zusätzlich mit einem roten Codierplättchen im Deckel versehen. Verbliebene Reste der Urinprobe wurden in maximal drei weitere 13-ml-Urin-Probengefäße (Polypropylen-Folgegefäße, 13 ml, Firma Sarstedt) überführt. Die verschlossenen Urin-Probengefäße wurden mit den individuellen ID-Etiketten versehen und anschließend bei -20 °C tiefgefroren.

Die Verarbeitung der Blutproben musste spätestens nach 1,5 Stunden durchgeführt sein. Hierzu gehörten Zentrifugation, Fraktionierung in Mikroröhrchen und anschließendes Tieffrieren. Die Verarbeitung der Blutproben erfolgte ebenfalls entsprechend dem in Abbildung 2-2 dargestellten Schema. Zunächst wurde das Volumen in ml des in der Kalium-EDTA-S-Monovette® und in der Lithium-Heparin-S-Monovette® gewonnenen Blutes auf den Dokumentationsbögen festgehalten. Anschließend wurde aus der S-Monovette® mit Lithium-Heparin eine Probe von 1,6 ml Vollblut entnommen und in ein Mikroröhrchen überführt (schwarzes Codierplättchen). Danach wurden die S-Monovetten® bei 1500xg für 10 min. zentrifugiert. Aus der Lithium-Heparin-S-Monovette® und der Kalium-EDTA-S-Monovette® wurden Plasma-, Leukozyten- und Erythrozytenfraktionen von jeweils 1,6 ml gewonnen, in Mikroröhrchen überführt und mit jeweils farbigen Codierplättchen im Deckel gekennzeichnet. Aus der Kalium-EDTA-S-Monovette® wurde zudem eine 2-ml-Fraktion für die Analyse mittel Bioassay in ein Glasröhrchen überführt, vgl. Abbildung 2-2.

Abbildung 2-2: Schema zur Verarbeitung der biologischen Proben



2.3 Versand und Lagerung

Die tiefgefrorenen Urinproben wurden nach Entnahmetag und Entnahmewoche sortiert in etikettierten Gefrierbeuteln gelagert. Der Lagerort jeder Urinprobe wurde individuell für jeden Biomonitoring-Probanden im Dokumentationsbogen festgehalten. Die Blutproben wurden in 10x10-Cryoboxen (Firma Sarstedt) gelagert. Hierzu wurde für jede Cryobox ein Steckplan geführt, so dass jedes Mikroröhrchen jederzeit zu lokalisieren war. Die Lagerung der Urinproben und Mikroröhrchen erfolgte bei -20 °C.

Die biologischen Proben wurden spätestens 14 Tage nach der Entnahme und Verarbeitung auf Trockeneis gelagert durch einen Kurierdienst ins BIPS geschickt. Im BIPS wurden die Blutproben bei -80 °C und die Urinproben bei -26 °C eingelagert.

Der Versand ausgewählter Proben zur analytischen Verarbeitung ins BGFA nach Bochum erfolgte am 07.01.2009 ebenfalls per Kurier mit Lagerung der Proben auf Trockeneis.

2.4 Biomonitoring-Fragebogen

Zur Erfassung relevanter Einflüsse auf die zu messenden Biomarker wurde im Zusammenarbeit der Mitarbeiter vom BGFA und dem BIPS ein „Fragebogen zur Bioprobenentnahme“ erarbeitet (siehe Anhang). Zur Pseudonymisierung der Fragebögen wurden diese mit der ID-Nummer des Probanden etikettiert. Im Fragebogen wurden neben Angaben zum Werkstandort und dem Zeitpunkt der Probenentnahme Informationen zu Art und Umfang der am Tag der Probennahme ausgeübten Arbeit sowie der am Tag vor der Probennahme ausgeübten Arbeit erfragt. Weitere Fragen bezogen sich auf das generelle Rauchverhalten sowie ggf. auf die Anzahl der am Tag der Probennahme und am Tag vor der Probennahme gerauchten Zigaretten, Zigarren und/oder Pfeifen. Die abschließenden Fragen erfassten, inwieweit in den zwei Tagen vor der Probennahme ausgewählte medizinische Maßnahmen durchgeführt wurden und/oder Medikamente eingenommen wurden.

Die „Fragebögen zur Bioprobenentnahme“ wurden den Probanden durch die Mitarbeiter der medizinischen Zentren des Kfz-Herstellers vor der Probenentnahme zum selbständigen Ausfüllen ausgehändigt. Die ausgefüllten, pseudonymisierten Fragebögen wurden mindestens vierzehntägig zusammen mit den biologischen Proben zur elektronischen Erfassung und weiteren Aufbewahrung ins BIPS nach Bremen versendet.

2.5 Biomonitoring-Datenbank

Zur elektronischen Erfassung der Angaben aus den „Fragebögen zur Bioprobenentnahme“ wurde im BIPS eine sogenannte „Bioproben-Fragebogen-Datenbank“ programmiert. Die handschriftlichen Angaben der Probanden wurden nach Erhalt der Fragebögen im BIPS in dieser Datenbank erfasst.

Eine weitere Datenbank im Studienteil „Biomonitoring“ wurde im BIPS für die Dokumentation der biologischen Proben programmiert. Inhalte dieser Datenbank sind zunächst die Angaben aus den Dokumentationsbögen, in welchen die Daten zur Gewinnung des biologischen Materials und deren Verarbeitung vor Ort festgehalten wurden. Darüber hinaus werden in dieser Datenbank die genauen Orte der Lagerung jedes einzelnen Probengefäßes (Bezeichnung der Kühltruhe, Schublade, Rack, Cryobox, Steckplatz) erfasst sowie Angaben zum weiteren Verbleib bei Weiterverarbeitung.

2.6 Analytik

Ausführliche Informationen zu den verwendeten analytischen Methoden und Hintergrundinformationen zu den jeweils untersuchten Substanzen und durchgeführten Maßnahmen zur Qualitätssicherung finden sich in den Berichten des BGFA „Humanbiomonitoring TESCAR – Qualitätssicherungsbericht“ und „Humanbiomonitoring TESCAR – Abschlussbericht“ im Anhang.

Die Aufreinigung der Proben sowie das Analyseverfahren des E-Screen-Assay sind im Detail in dem angehängten Dokument von BioDetectionSystems (BDS) beschrieben. Das Messprinzip des E-Screen Assay basiert auf der biologischen Wirkung. Bei Anwesenheit von östrogen wirkenden Verbindungen kommt es zur Proliferation der Zelllinie, die kolorimetrisch quantitativ bestimmbar ist. Die östrogene Potenz wird relativ zur Positivkontrolle EEQ durch Vergleich mit der halbmaximalen Konzentration ermittelt. Die relative östrogene Potenz wird als 17 β -Estradiol-Equivalents Quotient (EEQ) bezeichnet. Somit lässt sich das Konzept der EEQ auf Proben übertragen und, in Analogie zur Handhabung der Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEF) bei den Ah-Rezeptor-Liganden, die den Gesamtgehalt an östrogenartig wirkenden Stoffe als "17 β -Estradiol-Equivalents Quotient" (EEQ) ausdrücken. Extrakte von Blutproben werden mit dem schwerflüchtigen Lösungsmittel DMSO in Kulturflaschen versetzt. Nach 24 Stunden wird das Lösungsmittel vollständig wieder entfernt und das Kulturmedium auf 96-Well Mikrotiterplatten ausgebracht. Nach Ausbringen auf Mikrotiterplatten wird den Zellen die Lumineszenz in aufsteigender Kalibrierungskonzentration von 17 β -Estradiol als Positivkontrolle gemessen.

2.7 Abgleich der Tätigkeiten zum Interviewzeitpunkt und zum Zeitpunkt der Probengewinnung

Da infolge des geänderten Studienablaufs der Zeitpunkt der Probenentnahme nicht mehr dem Interviewzeitpunkt und somit der Grundlage für die Expositionsermittlung entsprach, bedurfte es eines Vergleichs zwischen den Angaben der Probanden zur ausgeübten Tätigkeit zum Interviewzeitpunkt und zum Probennahmezeitpunkt. Zu diesem Vergleich wurden für jeden in das Biomonitoring einbezogenen Probanden alle Interviewangaben zur zuletzt ausgeübten beruflichen Tätigkeit sowohl aus dem Hauptfragebogen sowie den Zusatzfragebögen mit den Berufsangaben aus dem „Fragebogen zur Bioprobenentnahme“ verglichen. Zudem wurden die Probanden bei der telefonischen Terminvereinbarung danach befragt, ob die aktuell von ihnen ausgeübte Tätigkeit noch der Tätigkeit bei Interviewdurchführung entsprach. Anhand dieser Angaben wurde durch ein Mitglied des Arbeitskreises Expositionsermittlung individuell entschieden, inwieweit die ursprüngliche Expositionseinstufung für die Tätigkeit bei Interviewdurchführung auch für die Tätigkeit bei Bioprobenentnahme Gültigkeit besitzt.

2.8 Statistische Methoden

2.8.1 Deskription der Studienteilnehmer am Biomonitoring

Die deskriptiven Analysen zur Studienkohorte für das Biomonitoring umfassen die Darstellung der Altersverteilung bei Probennahme und der Verteilung auf die VW-Standorte.

2.8.2 Expositionseinstufung der Beschäftigungsphase zum Probennahmezeitpunkt

In der Hauptstudie wurde für die Studienteilnehmer die komplette Berufshistorie bis zum Interviewtermin detailliert festgehalten. Anhand dieser Interviewdaten wurden mithilfe der JEM und ggf. der zusätzlichen individuellen Expositionseinstufung Expositionen gegenüber einzelnen Substanzen abgeschätzt. Die daraus resultierenden, stoffspezifischen Expositionsphasen (siehe Abschlussbericht Teil A, 2.3.3) waren durch Anfangs- und Endjahr

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

begrenzt und bewerteten die Exposition in verschiedenen Dimensionen (siehe Abschlussbericht Teil A, 2.3.2).

Die Beobachtungsgesamtheit für die vergleichenden Analysen zu Messergebnissen und Expositionseinstufung wurden durch die Probanden gebildet, bei denen die Tätigkeit zum Interviewzeitpunkt der Tätigkeit zum Probeentnahmezeitpunkt entsprach (vgl. 2.7). Anhand des Endjahres der Expositionsphasen wurden für diese Personen diejenigen Phasen bestimmt, die das Kalenderjahr des individuellen Interviews mit einschlossen. Nur diese Phasen wurden für die ‚aktuelle‘ Expositionseinstufung der Teilnehmer herangezogen.

Bei den Maßen für die stoffspezifischen Quantifizierungen der Exposition wurde zusätzlich nach dem Aufnahmepfad (inhalativ, dermal oder beides) differenziert.

Maße:

Exponiert ja/nein:

Dieses Maß differenziert, ob eine einzelne Person exponiert war oder nicht. Jegliche Exposition unabhängig von Intensität und Wahrscheinlichkeit führte zu der Einstufung ‚exponiert‘. Unberücksichtigt blieben also Dauer (als Anteil der Arbeitszeit) und Intensität der Exposition.

Exponiert gemäß Schwellenwertkriterium ja/nein:

Dieses Maß nutzt den Algorithmus zur Selektion von potentiell exponierten Personen für das Biomonitoring (siehe Abschnitt 2.3.5). War dieses Kriterium bezogen auf einen Stoff für eine der differenzierten Expositionsphasen erfüllt, so wurde diese Person als exponiert eingestuft.

Expositions-Index:

Aus den Angaben zu Intensität (inhalativ 3 Kategorien, dermal 2 Kategorien), Wahrscheinlichkeit (2 Kategorien: 0,5; 1) und anteiliger Arbeitszeit (3 Kategorien: 0,02; 0,15; 0,66) wurde für jede Tätigkeitsphase mit Exposition multiplikativ ein gewichteter Index berechnet. Bei der Experteneinschätzung im Rahmen der JEM waren für einen Teil der stoffbezogenen Intensitätskategorien Konzentrationsintervalle für die Exposition am Arbeitsplatz aufgenommen worden (siehe Abschlussbericht Abschnitt 2.3.2 und Tabelle 3.17). Sofern diese Intervalle für einen Stoff angegeben wurden (für inhalative Exposition von Bisphenol A, EGEE, DEGDME, EGBE, Kobalt, Eisen, Mangan, Blei, DOP, 1-Methyl-2-Pyrrolidon), wurde die Klassenmitte dieser Intervalle bei der Indexberechnung für die Wichtung der Intensitätskategorien verwendet. Andernfalls wurden die Ränge der ordinalen Intensitätskategorien eingesetzt. Die Indexwerte wurden für die einzelne Person kumuliert.

Deskriptiv werden in den Ergebnissen zunächst die Anzahl der laut Expositionseinstufung überhaupt Exponierten und diese stratifiziert nach Intensität oder Wahrscheinlichkeit für dermale oder inhalative Belastung dargestellt.

2.8.3 Biomonitoring-Messergebnisse

Für alle chemischen Analysen gab es stoffbezogene Nachweisgrenzen (NWG). Da nur ein Teil der Messergebnisse oberhalb dieser NWG lag, erfolgte zunächst eine Auszählung der Messergebnisse nach entsprechender Kategorisierung (Messwert oberhalb bzw. unterhalb der NWG).

Für die Stoffe, die Messwerte oberhalb der NWG aufwiesen, wurde die Verteilung der Messdaten für die einzelnen Stoffe getrennt durch Kennzahlen beschrieben (Anzahl vorhandener Messwerte, Anzahl Messwerte größer NWG, Mittelwert, Standardfehler, Minimum, 1.Quartil, Median, 3.Quartil, Maximum).

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Für weitere Analysen wurden die Messergebnisse, die unterhalb der Nachweisgrenze lagen, durch den numerischen Wert $0,5 \cdot \text{NWG}$ ersetzt. ‚Echte‘ fehlende Werte blieben von diesem Imputationsverfahren unberührt. Die hier gewählte Form der Imputation geht von der Annahme aus, dass sich die so bearbeiteten Messwerte zwischen 0 und der NWG annähernd gleichmäßig verteilen.

2.8.4 Vergleichende Analysen

Stratifiziert nach Raucher / Nichtraucher (anhand der Angaben aus dem Fragebogen zur Bioprobenentnahme) wurden Mittelwert und Median der Messergebnisse für die einzelnen Stoffe bestimmt und der Unterschied zwischen den Gruppen mit dem t-Test und dem Wilcoxon-Rangsummentest untersucht. Als Ergebnis der Tests wurden die p-Werte angegeben (p-Wert < 0,05 wird als signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen interpretiert).

Ein Teilziel der Untersuchung war, die Messergebnisse des Biomonitorings den Expositionseinstufungen durch JEM und individueller Expositionseinstufung (siehe Abschlussbericht Teil A, 2.3.4) gegenüberzustellen. Im Messverfahren des Biomonitoring wurden neben den Stoffen auch Abbauprodukte dieser Stoffe untersucht. Die Gegenüberstellung der im Biomonitoring und in der individuellen Expositionseinstufung differenzierten Stoffe, die für den Vergleich der individuellen Einstufung und der Messwerte herangezogen wurde, ist in Tabelle 2-1 aufgeführt.

Tabelle 2-1: Zuordnung der einzelnen bei den chemischen Analysen berücksichtigten Substanzen zu den in der Expositionseinstufung differenzierten Stoffen.

In der Expositionseinstufung differenzierte Stoffe und Stoffgruppen		Zugeordnete Stoffe des chemischen Messverfahrens beim Biomonitoring	
Kurzname	Stoffbezeichnung	Kurzname (TESCAR)	Stoffbezeichnung
Kobalt	Kobalt	Co	Kobalt
Mangan	Mangan	Mn	Mangan
Blei	Blei	Pb	Blei
Eisen	Eisen	Fe	Eisen
Glykolether	DEGDME (111-96-6), TEGME (112-35-6), EGEE (110-80-5), EGBE (111-76-2)	1M2P	1-Methoxy-2-propanol
		1E2P	1-Ethoxy-2-propanol
		1MP2A	1-Methoxypropyl-2-acetat
Glykolether	DEGDME (111-96-6), TEGME (112-35-6), EGEE (110-80-5), EGBE (111-76-2)	1B2P	1-Butoxy-2-propanol
		3E1P	3-Ethoxy-1-propanol
		DEGDE	Diethylen-glycol-diethyl-ether
		PGDA	Propylene glycol diacetate
		DGME	Diethylen-glycol-monomethyl-ether
		DGMEE	Diethylene glycol monoethyl ether
		DGMEA	Diethylene glycol monoethyl ether acetate
		DGMBE	Diethylene glycol monobutyl ether
		DGMBEA	Diethylen glycol monobutyl ether acetat
DEGDME	DEGDME (111-96-6)	DPGME	Dipropylen-glycol-monomethyl-ether
		DGDE	Diethylen-glycol-dimethyl-ether

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Phthalate: o.n.A.	Phthalate: o.n.A.	MBzP	Monobenzylphthalat
		MnBP	Mono-n-butylphthalat
Phthalate: DOP	DOP	5OHMEHP	Mono-5-hydroxy-2-ethylhexylphthalat
Bisphenol A	Bisphenol A	BPA	Bisphenol A
Pyrrolidon	1-Methyl-2-Pyrrolidon	5HNMP	5-Hydroxy-N-methyl-pyrrolidon
		2HMSI	2-Hydroxy-N-methylsuccinimid

In einem ersten Vergleich wurde die Häufigkeit der Messwerte oberhalb der NWG nach der Expositionseinstufung differenziert dargestellt und ein möglicher Zusammenhang mit Fishers Exaktem Test untersucht. Um eine schärfere Trennung von exponierten und nicht exponierten Probanden zu erreichen, wurde in einem weiteren Vergleich der individuelle Expositionsstatus nach dem Schwellenwertkriterium (siehe Abschnitt 2.3.5) bewertet. Zusätzlich erfolgte eine Kategorisierung der Häufigkeiten nach inhalativer bzw. dermalen Intensität der Exposition. Ein möglicher Trend bei den in dieser Form differenzierten Häufigkeiten wurde mit dem Cochran-Mantel-Haenszel-Test und dem Cochran-Armitage-Trend-Test analysiert.

Weiterhin wurden stratifiziert nach Expositionsstatus Mittelwert und Median der Messwerte bestimmt. Ob ein Unterschied in der Messwertverteilung zwischen den nach Expositionsstatus differenzierten Gruppen bestand, wurde mit dem t-Test und dem Wilcoxon-Rangsummentest (Wilcoxon-Test) untersucht. Das jeweilige Testergebnis wurde als p-Wert angegeben (p-Wert < 0,05 wird als das Vorliegen eines signifikanten Unterschieds interpretiert).

Der Zusammenhang zwischen individueller Expositionseinstufung und den Biomonitoring-Messergebnissen wurde auf Basis der Expositionsindizes für dermale und inhalative Exposition mittels des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman bewertet. Neben den Rangkorrelationskoeffizienten ist der zugehörige p-Wert angegeben (ein p-Wert < 0,05 wird als Vorliegen eines signifikanten Zusammenhangs interpretiert, wobei die Stärke des Zusammenhangs am Koeffizienten selbst abzulesen ist).

3 Ergebnisse

3.1 Deskription der Biomonitoring-Probanden

Das Alter der für das Biomonitoring ausgewählten Probanden betrug zwischen 32 und 56 Jahren. Der Median der Altersverteilung der ausgewählten Probanden lag bei 44 Jahren. 114 Probanden (57%) der ausgewählten Probanden gaben an, Nichtraucher zu sein.

In Tabelle 3-1 sind die Probanden nach Werkszugehörigkeit aufgeschlüsselt. Der Anteil der für das Biomonitoring ausgewählten Probanden und der tatsächlich analysierten Proben der Probanden bewegte sich zwischen ca. 50% bis 96% je Werkszugehörigkeit.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-1: Aufschlüsselung der Biomonitoring-Probanden nach Werk

Werk	Ausgewählt für das Biomonitoring	Probanden in Analyse	Probanden für Analyse (%)	Fehlend‡ (Blut)	Fehlend (Urin/Metall-Analyse) [†]	Fehlend (Urin/Nicht-Metall-Analyse)
A	88	70	79.5	0	0	4
B	48	46	95.8	0	1	1
C	15	11	73.3	1	0	0
D	45	23	51.1	0	0	0
E	45	36	80.0	1	0	0
F	29	14	48.3	0	0	0
Total	270	200	74.1	2	1	5

‡=keine ausreichende Menge Plasma für die Analyse. [†]Nur Eisen (Fe) berücksichtigt.

3.2 Ergebnisse Biomonitoring

Für viele der untersuchten Arbeitsstoffe bzw. deren Abbauprodukte zeigten sich bei der Untersuchung des jeweiligen Gehaltes im Urin keine oder nur wenig numerische Messergebnisse, da der Gehalt der Analyten in vielen Proben unterhalb der Nachweisgrenze (NWG) lag (Tabelle 3-2).

Für die Stoffgruppe der Glykolether lagen bei sieben der im chemischen Messverfahren differenzierten Analyten (1-Methoxy-2-propanol, 1-Ethoxy-2-propanol, 1-Methoxypropyl-2-acetat, 1-Butoxy-2-propanol, 3-Ethoxy-1-propanol, Diethylen-glycol-diethyl-ether, Propylene glycol diacetate) alle Messwerte unterhalb der jeweils stoffspezifischen NWG. Gleiches galt für die zwei für *N*-methyl-pyrrolidon untersuchten Metaboliten (5-Hydroxy-*N*-methyl-pyrrolidon und 2-Hydroxy-*N*-methylsuccinimid). Für diese Stoffe waren daher im Weiteren keine vergleichenden Analysen im Bezug zu den Expositionseinstufungen möglich.

Bei weiteren Substanzen mit nur wenigen Messergebnissen oberhalb der Nachweisgrenze (wie z.B. Kobalt, Diethylen-glycol-monoethyl-ether, Dipropylen-glycol-monomethyl-ether) besitzen die berechneten Kennwerte zu den Messwertverteilungen nur eine eingeschränkte Aussagekraft, da ein Großteil der Verteilungswerte imputiert wurde.

Für die Kennzahlen (Mittelwerte, Standardfehler, Minimum, Maximum, Quartilsgrenzen) wurde jeweils nur die Verteilung der Werte oberhalb der NWG berücksichtigt; die Anzahl der Messwerte oberhalb der NWG ist angegeben. Für die einzelnen Stoffe sind die Verteilungen in der Regel linkssteil (der Median ist größer als der Mittelwert), das heißt, höhere Werte tauchen relativ eher selten auf. Bei den Glykolethern weisen auch die Substanzen, zu denen häufiger Messwerte oberhalb der NWG vorhanden sind, meist nur eine sehr geringe Spannweite der Messwerte auf. Einzige Ausnahme bildet hier DGMBEA (Spannweite=1,9 mg/l); allerdings zeigen hier mindestens 50% der Messwerte das gleiche Ergebnis (Minimum und Median sind identisch). Die übrigen Substanzen (Metalle, Phthalate, Bisphenol A) zeigen eine relativ breitere Streuung der Messwerte oberhalb der NWG, wobei das Intervall für die oberen 25% der Werte (Differenz zwischen 3.Quartil und Maximum) größer ausfiel als für die unteren 75%.

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-2: Deskription der Ergebnisse aus dem Biomonitoring

Stoffgruppe	Kürzel	Stoffname	NWG	Anzahl ohne Mess- ergebnis	Anzahl Mess- ergebnis <NWG	Anzahl Mess- ergebnis >NWG	Mittel- wert	Standard- fehler	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum
Metalle	Co	Kobalt	2,0 µg/L	1	197	2	4,75	1,15					5,90
	Mn	Mangan	0,5 µg/L	1	190	9	1,21	0,33	0,50	0,50	0,70	1,90	3,10
	Pb	Blei	2,0 µg/L	1	187	12	4,02	0,81	2,00	2,30	3,10	4,25	10,00
	Fe	Eisen	5,0 µg/L	1	41	158	11,80	0,65	3,60	7,30	9,25	13,70	61,50
Glykolether	1M2P	1-Methoxy-2-propanol	1,0 mg/L	2	198	0							
	1E2P	1-Ethoxy-2-propanol	0,25 mg/L	2	198	0							
	1MP2A	1-Methoxypropyl-2-acetat	0,25 mg/L	2	198	0							
	DGDE	Diethylen-glycol-dimethyl-ether	0,25 mg/L	2	187	11	0,39	0,01	0,30	0,40	0,40	0,40	0,40
	1B2P	1-Butoxy-2-propanol	0,25 mg/L	2	198	0							
	3E1P	3-Ethoxy-1-propanol	0,25 mg/L	2	198	0							
	DEGDE	Diethylen-glycol-diethyl-ether	0,25 mg/L	2	198	0							
	PGDA	Propylene glycol diacetate	0,25 mg/L	2	198	0							
	DGME	Diethylen-glycol-monomethyl-ether	0,25 mg/L	2	176	22	0,45	0,08	0,30	0,30	0,30	0,40	2,00
	DGMEE	Diethylene glycol monoethyl ether	0,25 mg/L	2	197	1	0,40						
	DGMEA	Diethylene glycol monoethyl ether acetate	0,25 mg/L	2	183	15	0,41	0,02	0,30	0,40	0,40	0,40	0,60
	DGMBE	Diethylene glycol monobutyl ether	0,25 mg/L	2	171	27	0,39	0,02	0,30	0,30	0,40	0,50	0,60
	DGMBEA	Diethylen glycol monobutyl ether acetat	0,25 mg/L	2	178	20	0,50	0,12	0,30	0,30	0,30	0,35	2,20
	DPGME	Dipropylen-glycol-monomethyl-ether	0,25 mg/L	2	197	1	0,50						
Phthalate	MBzP	Monobenzylphthalat	0,1 µg/L	5	0	195	7,39	0,71	0,30	2,30	4,50	8,60	81,80
	MnBP	Mono- <i>n</i> -butylphthalat	0,5 µg/L	5	0	195	28,90	10,04	0,30	5,50	12,90	23,50	1951,10
	5OHMEHP	Mono-5hydroxy-2-ethylhexylphthalat	0,05 µg/L	5	0	195	20,86	1,76	0,70	8,40	15,90	23,80	232,90
Bisphenol A	BPA	Bisphenol A	0,1 µg/L	5	0	195	1,82	0,14	0,10	0,70	1,30	2,20	12,90
n-methyl-Pyrrolidon	5HNMP	5-Hydroxy- <i>N</i> -methyl-pyrrolidon	1,0 mg/L	1	199	0							
	2HMSI	2-Hydroxy- <i>N</i> -methylsuccinimid	1,0 mg/L	1	199	0							

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Eine Stratifizierung der Messergebnisse nach Raucherstatus (Tabelle 3-3) zeigt überwiegend nur geringe Unterschiede bei den Mittelwerten und Medianen zwischen Rauchern und Nichtrauchern, wobei die Messwerte unterhalb der Nachweisgrenze auf 0,5*NWG gesetzt wurden. Der große Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen beim Mittelwert zu den Messwerten von Mono-n-butylphthalat (MnBP) beruht auf einer starken Streuung einzelner Messwerte, was ein Vergleich mit den näher beieinander liegenden Medianen bestätigt. Dies äußert sich auch im Ergebnis zum t-Test, der trotz der Größe des Unterschieds diesen als nicht signifikant ausweist. Statistisch auffällig wird nur der Verteilungsunterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern bei Mangan: hier fallen sowohl t-Test als auch Wilcoxon-Test signifikant aus, wobei die Messwerte für Nichtraucher im Mittel höher liegen. Allerdings sind bei dieser Substanz nur 9 Werte oberhalb der NWG gemessen worden, auf denen der berechnete Unterschied beruht.

Tabelle 3-3 : Mittelwerte, Mediane, t-Tests und Wilcoxon-Tests nach Rauchstatus

Stoff	NWG	Mittelwert*		p-Wert t-Test	Median*		p-Wert Wilcoxon- Test
		Raucher	Nichtraucher		Raucher	Nichtraucher	
Co	2,0 µg/L	1.000	1.066	0.177	1.000	1.000	0.219
Mn	0,5 µg/L	0.253	0.324	0.043	0.250	0.250	0.046
Pb	2,0 µg/L	1.262	1.121	0.335	1.000	1.000	0.093
Fe	5,0 µg/L	9.342	10.291	0.393	8.150	7.800	0.783
1M2P	1,0 mg/L	0.500	0.500	.	0.500	0.500	1.000
1E2P	0,25 mg/L	0.125	0.125	.	0.125	0.125	1.000
1MP2A	0,25 mg/L	0.125	0.125	.	0.125	0.125	1.000
DGDE	0,25 mg/L	0.138	0.141	0.688	0.125	0.125	0.639
1B2P	0,25 mg/L	0.125	0.125	.	0.125	0.125	1.000
3E1P	0,25 mg/L	0.125	0.125	.	0.125	0.125	1.000
DEGDE	0,25 mg/L	0.125	0.125	.	0.125	0.125	1.000
PGDA	0,25 mg/L	0.125	0.125	.	0.125	0.125	1.000
DGME	0,25 mg/L	0.150	0.171	0.318	0.125	0.125	0.263
DGMEE	0,25 mg/L	0.125	0.127	0.319	0.125	0.125	0.386
DGMEA	0,25 mg/L	0.143	0.149	0.627	0.125	0.125	0.437
DGMBE	0,25 mg/L	0.159	0.163	0.774	0.125	0.125	0.977
DGMBEA	0,25 mg/L	0.141	0.180	0.122	0.125	0.125	0.195
DPGME	0,25 mg/L	0.125	0.128	0.319	0.125	0.125	0.386
MBzP	0,1 µg/L	6.899	7.758	0.521	5.350	4.000	0.128
MnBP	0,5 µg/L	16.502	38.277	0.220	13.500	12.500	0.760
5OHMEHP	0,05 µg/L	21.738	20.197	0.684	15.300	17.400	0.859
BPA	0,1 µg/L	1.643	1.953	0.228	1.300	1.300	0.784
5HNMP	1,0 mg/L	0.500	0.500	.	0.500	0.500	1.000
2HMSI	1,0 mg/L	0.500	0.500	.	0.500	0.500	1.000

* Werte unterhalb der Nachweisgrenze wurden mit 0,5*NWG imputiert

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Für die Biomonitoringprobanden, deren Tätigkeiten zum Interviewzeitpunkt mit denen zum Bioprobenahmezeitpunkt übereinstimmten (n=183), stellen Tabelle 3-4 und Tabelle 3-5 die Anzahlen der laut Expositionseinstufung durch die aktuelle Tätigkeit zum Zeitpunkt der Probenentnahme gegenüber den verschiedenen Stoffen exponierten und nicht exponierten Biomonitoring-Probanden sowie ggf. die angenommene Intensität und Wahrscheinlichkeit der jeweiligen Expositionen dar. Für alle Stoffe bzw. Stoffgruppen, die in der Expositionseinstufung differenziert wurden und denen zum Vergleich eine der im Biomonitoring analysierten chemischen Substanzen zugeordnet wurde, waren in der Kohorte der Biomonitoring-Probanden entsprechend der Expositionseinstufung sowohl exponierte als auch nicht exponierte Personen vorhanden. Personen, die inhalativ mindestens einer hohen Expositionsintensität ausgesetzt waren, fanden sich nur für Eisen (n=30). Inhalative Expositionen mit mindestens mittlerer Intensität traten für Bisphenol A, Kobalt, Eisen, Mangan und N-methyl-2-Pyrrolidon auf. Bei allen Stoffen gab es Personen, bei denen maximal niedrige inhalative Expositionsintensitäten auftraten. Dermal überwog bei den Exponierten der Anteil, der auch aktiven Kontakt mit den Stoffen hatte, während die für einzelne Personen ausschließlich passive Exposition nur vergleichsweise selten und nur bei Bisphenol A (n=1), Blei (n=2), 1-Methyl-2-Pyrrolidon (n=2) und bei den Glykolethern (n=9) auftrat.

Tabelle 3-4: Anzahl zum Zeitpunkt der Bioprobenentnahme gegenüber ausgesuchten Substanzen exponierte Biomonitoringprobanden sowie Intensität der Exposition laut Expositionseinstufung

Stoff bzw. Stoffgruppe	Anzahl aktuell exponierter Biomonitoring-probanden laut Expositionseinstufung		Intensität, inhalativ				Intensität, dermal		
	nein	ja	Nicht exponiert	niedrig	mittel	hoch	Nicht exponiert	Dermal passiv	Dermal aktiv oder beides
Bisphenol A	143	40	146	25	11	.	143	1	39
DEGDME (111-96-6)	176	7	176	7	.	.	176	.	7
Kobalt	167	16	167	5	11	.	174	.	.
Eisen	124	59	124	12	17	30	169	.	.
Mangan	153	30	153	5	25	.	175	.	.
Blei	166	17	166	16	.	.	176	2	4
Phthalate: DOP	168	15	168	15	.	.	181	.	1
Phthalate: o.n.A.	181	2	181	2	.	.	181	.	2
1-Methyl-2-Pyrrolidon	164	19	164	5	14	.	165	2	16
Phthalate gesamt	144	39	164	19	.	.	144	.	39
Glykolether	151	32	161	22	.	.	151	9	23

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-5: Wahrscheinlichkeit aktueller Expositionen für Biomonitoring-Probanden laut Expositionseinstufung

Stoff bzw. Stoffgruppe	Wahrscheinlichkeit für inhalative Exposition			Wahrscheinlichkeit für dermale Exposition		
	nie exponiert (0%)	möglich bis wahrscheinlich (~ 50%)	typisch - direkte Tätigkeit (100%)	nie exponiert (0%)	möglich bis wahrscheinlich (~ 50%)	typisch - direkte Tätigkeit (100%)
Bisphenol A	118	9	55	111	16	56
DEGDME (111-96-6)	172	.	11	172	.	11
Kobalt	160	2	21			
Eisen	102	11	70			
Mangan	137	1	45			
Blei	127	10	40	118	14	47
Phthalate: DOP	143	2	38	145	2	35
Phthalate: o.n.A.	181	2	.	181	2	.
1-Methyl-2-Pyrrolidon	139	12	32	140	12	31
Phthalate	136	1	46	106	30	47
Glykolether	136	16	31	110	15	58

Im Weiteren werden Ergebnisse gezeigt, bei denen Messergebnisse des Biomonitorings mit den Ergebnissen der Expositionseinstufung für die aktuelle Tätigkeit in Beziehung gesetzt werden.

Mit Fishers exaktem Test wurde untersucht, ob die Häufigkeit von Messwerten oberhalb der NWG mit der Variablen „Exponiert / Nicht exponiert“ laut Expositionseinstufung im Zusammenhang stand (Tabelle 3-6). Hier wurden nur die Substanzen betrachtet, bei denen Messwerte sowohl oberhalb als auch unterhalb der NWG auftraten. Für die Substanzen mit nur sehr wenigen Messwerten oberhalb der NWG (Kobalt, DGME, DPGME) sind die Testergebnisse aber nur bedingt interpretierbar. Statistisch auffällig wurden DGMEA und DGMBEA, wo Messwerte oberhalb der NWG bei Personen, die gegenüber Glykolethern als exponiert eingestuft wurden, signifikant häufiger auftraten.

Eine Verschiebung des Schwellenwertes zur Einstufung in Exponierte und nicht Exponierte führte in der Analyse zu vergleichbaren Ergebnissen (Tabelle 3-7).

Eine zusätzliche Differenzierung der inhalativ bedingten Exposition nach Intensität ergab für DEGMEA und DGMBEA einen positiven Trend bei der Häufigkeit von Messwerten oberhalb der NWG mit steigender Expositionsintensität laut Expositionseinstufung (Ergebnisse nicht gezeigt).

Für die gleichen Substanzen zeigte sich auch bei dermalen Exposition ein positiver Trend mit steigender Intensität des Hautkontakts laut Expositionseinstufung (Ergebnisse nicht gezeigt).

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-6: Messergebnisse unterhalb und oberhalb der NWG im Biomonitoring und aktueller Expositionsstatus laut Expositionseinstufung

Stoff	NWG	Biomonitoringergebnis <NWG		Biomonitoringergebnis >NWG		p-Wert Fishers exakter Test
		Exponiert laut Expositionseinstufung		Exponiert laut Expositionseinstufung		
		nein	ja	nein	ja	
Co	2,0 µg/L	164	16	2	.	1.0000
Mn	0,5 µg/L	144	29	8	1	1.0000
Pb	2,0 µg/L	155	15	10	2	0.3108
Fe	5,0 µg/L	26	11	98	47	0.8447
DGDE	0,25 mg/L	164	6	10	1	0.3602
DGME	0,25 mg/L	136	24	15	6	0.1248
DGMEE	0,25 mg/L	150	30	1	.	1.0000
DGMEA	0,25 mg/L	143	24	8	6	0.0145
DGMBE	0,25 mg/L	129	27	22	3	0.7719
DGMBEA	0,25 mg/L	140	22	11	8	0.0047
DPGME	0,25 mg/L	150	30	1	.	1.0000

Tabelle 3-7: Messergebnisse unterhalb und oberhalb der NWG im Biomonitoring und aktueller Expositionsstatus laut Expositionseinstufung nach Schwellenkriterium

Stoff	NWG	Biomonitoringergebnis <NWG		Biomonitoringergebnis >NWG		p-Wert Fishers exakter Test
		Exponiert laut Expositionseinstufung		Exponiert laut Expositionseinstufung		
		nein	ja	nein	ja	
Co	2,0 µg/L	169	11	2	.	1.0000
Mn	0,5 µg/L	149	24	8	1	1.0000
Pb	2,0 µg/L	167	3	12	.	1.0000
Fe	5,0 µg/L	29	8	109	36	0.8305
DGDE	0,25 mg/L	164	6	10	1	0.3602
DGME	0,25 mg/L	143	17	17	4	0.2750
DGMEE	0,25 mg/L	159	21	1	.	1.0000
DGMEA	0,25 mg/L	151	16	9	5	0.0130
DGMBE	0,25 mg/L	137	19	23	2	0.7430
DGMBEA	0,25 mg/L	147	15	13	6	0.0119
DPGME	0,25 mg/L	159	21	1	.	1.0000

Die Ergebnisse zum Vergleich der Messwertverteilungen für laut Expositionseinstufung exponierten und nicht exponierten Probanden sind in Tabelle 3-8 aufgeführt. Statistisch auffällig sind die Ergebnisse für DGMBEA und DGMEA mit im Mittel geringfügig höheren Werten für exponierte Personen. Generell ist der t-Test empfindlicher gegenüber einzelnen extremen Messwerten („Ausreißern“) und neigt in solchen Fällen eher zu signifikanten Ergebnissen als der robustere Wilcoxon-Test. Das bei den Stoffen DGMBEA und DGMEA nur letzterer signifikant wird und nicht der t-Test, ist dem Umstand geschuldet, dass viele der in die Analyse mit einbezogenen Beobachtungen den gleichen Wert (imputiert, da <NWG) aufweisen.

Insgesamt ergaben die Korrelationsanalysen für keine der Substanzen einen deutlichen Zusammenhang zwischen den Biomonitoring-Messwerten und dem Expositionsindex (inhalativ und dermal).

Eine Stratifizierung der Korrelationsanalyse nach Intensität (inhalativ) ergab ebenfalls keine klaren Unterschiede für die Korrelationskoeffizienten der einzelnen Gruppen (Ergebnisse nicht gezeigt).

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Tabelle 3-8: Mittelwerte und Mediane der Biomonitoring-Messwerte stratifiziert nach Expositionseinstufungsergebnis sowie Test auf Unterschied der Gruppen hinsichtlich Verteilung der Biomonitoring-Messwerte und Korrelation dieser mit den Indizes für inhalative und dermale Exposition laut Expositionseinstufung.

			Exponiert laut Expositionseinstufung		Exponiert laut Expositionseinstufung		Exposition gegenüber (laut Expositionseinstufung)	p-Wert t-Test	p-Wert Wilcoxon-Test	Spearman-Korrelation mit Expositionsindex (IEE, inhalativ)	p-Wert für Korr. inhalativ	Spearman-Korrelation mit Expositionsindex (IEE, dermal)	p-Wert für Korr. dermal
			nein	ja	nein	ja							
Stoff	Einheit	NWG	Mittelw.*	Mittelw.*	Median*	Median*							
Co	µg/L	2	1.05	1.00	1.00	1.00	Kobalt	0.1771	0.6697	.	.	.	.
Mn	µg/L	0.5	0.30	0.27	0.25	0.25	Mangan	0.1936	0.6606	-0.1188	0.5316	.	.
Pb	µg/L	2	1.19	1.30	1.00	1.00	Blei	0.6694	0.3806	-0.2252	0.4018	-0.5394	0.2694
Fe	µg/L	5	9.47	11.07	8.00	8.95	Eisen	0.3070	0.4649	0.1042	0.4363	.	.
DGDE	mg/L	0.25	0.14	0.16	0.13	0.13	DEGDME	0.5649	0.3553	0.4278	0.3383	0.4278	0.3383
DGME	mg/L	0.25	0.16	0.18	0.13	0.13	Glykolether	0.5134	0.1320	0.4383	0.0469	0.3753	0.0410
DGMEE	mg/L	0.25	0.13	0.13	0.13	0.13	Glykolether	0.3189	0.6666	.	.	.	.
DGMEA	mg/L	0.25	0.14	0.18	0.13	0.13	Glykolether	0.0860	0.0072	0.1827	0.4279	0.1401	0.4601
DGMBE	mg/L	0.25	0.16	0.16	0.13	0.13	Glykolether	0.8828	0.5625	-0.2212	0.3352	-0.1476	0.4364
DGMBEA	mg/L	0.25	0.14	0.31	0.13	0.13	Glykolether	0.0663	0.0008	0.1302	0.5739	0.1394	0.4626
DPGME	mg/L	0.25	0.13	0.13	0.13	0.13	Glykolether	0.3189	0.6666	.	.	.	.
MBzP	µg/L	0.1	7.62	2.70	4.60	2.70	Phthalate: o.n.A.	.	0.4957	.	.	.	.
MnBP	µg/L	0.5	34.21	13.79	14.05	11.40	Phthalate: o.n.A.		0.7407				
5OHMEHP	µg/L	0.05	21.40	16.71	16.00	12.10	Phthalate: DOP	0.2190	0.7474	0.0019	0.9945	.	.
BPA	µg/L	0.1	1.86	1.76	1.40	1.05	Bisphenol A	0.7910	0.6140	-0.2254	0.2000	-0.1093	0.5138

* Werte unterhalb der Nachweisgrenze wurden mit 0,5*NWG imputiert.

3.3 Ergebnisse Bioassays

3.3.1 Ergebnisse E-SCREEN ER-CALUX

Für den Ergebnisteil der Analyse der Östrogen- bzw. Antiandrogen-Aktivität stehen 198 Probanden zur Verfügung. Für die Analyse ER-CALUX wurden jeweils 500 µl Plasma verwendet. Zwei Probanden sind aufgrund fehlender Analysesubstanz nicht in die Deskription einbezogen.

Nachweisgrenze (NWG):

Der Wert, mit dem das von BDS angebotene Messverfahren noch zuverlässige Messergebnisse liefert (Nachweisgrenze (NWG)) wird mit 16 pmol EEQ / l Plasma angegeben. Ergebnisse unterhalb des NWG gehen, wie oben bezeichnet, mit 8 pmol EEQ / l Plasma in die statistischen Analysen ein.

Östrogene Aktivität:

Bei 11 von 198 Probanden konnte keine Östrogen-Aktivität nachgewiesen werden bzw. blieb die Östrogen-Aktivität unterhalb der Nachweisgrenze. Bei den verbleibenden 187 Probanden lag die Aktivität zwischen 19 und 161 pmol 17β-östradiol Äquivalent/l Plasma. Das Minimum der Aktivität liegt bei 19 pmol das Maximum bei 161 pmol 17β-östradiol Äquivalent/l Plasma (Mittelwert: 88,6 pmol 17β-östradiol Äquivalent/l Plasma).

Abbildung 3-1 gibt den Unterschied zwischen den Ergebnissen mit (1) und ohne (2) Einbeziehung der NWG-Ergebnisse an. Durch die Einbeziehung der NWG-Ergebnisse definiert als 0,5*NWG ergibt sich ein etwas niedrigerer Mittelwert (84,1 pmol 17β-östradiol Äquivalent/l Plasma).

Der Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern ist minimal für die zentralen Lagewerte. Dieses gilt, wenn die Probanden unterhalb der Detektionsschwelle einbezogen werden (Mittelwert: 84,7 (Raucher) 85,0 (Nichtraucher); t-Test: p=0,8), und auch dann, wenn sie nicht einbezogen werden (Mittelwert: 87,5 (Raucher) 89,5 (Nichtraucher); t-Test: p=0,6). Für die Einteilung in zwei Altersgruppen (=44 Jahre (N=110) vs. >44 Jahre (N=88)) ergab sich ebenfalls kein Unterschied für die Östrogen-Aktivität (t-Test: p=0,12).

Ebenfalls lässt sich kein statistischer Unterschied zwischen einzelnen Werken aufzeigen. Die Mittelwerte der gemessenen Östrogen-Aktivität bewegten sich zwischen 79,2 (Werk A) und 88,3 pmol 17β-östradiol EEQ/l Plasma (Werk E). Der Wilcoxon Rangsummen-test ergibt einen p-Wert von 0,73. Die deskriptiven Werte sind sowohl als Boxplot als auch tabellarisch dargestellt.

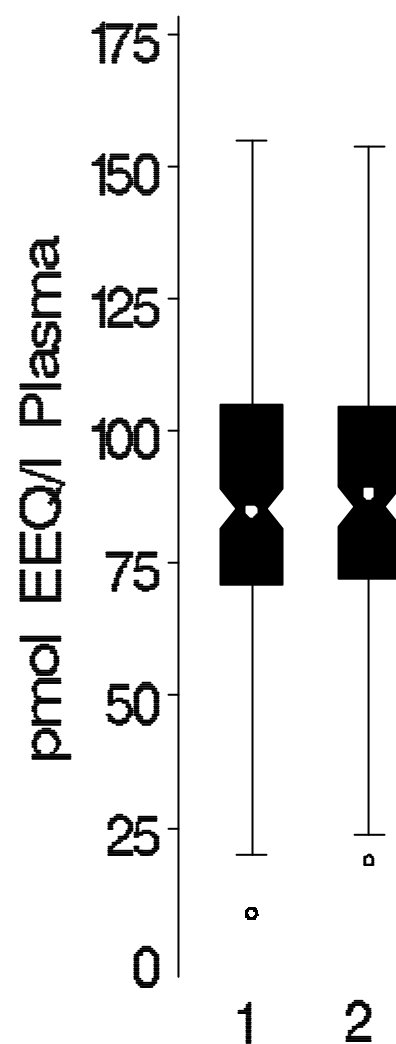


Abbildung 3-1: Darstellung der Messergebnisse der Östrogen-Aktivität als Boxplot mit (1) und ohne (2) Einbeziehung der Werte <NWG

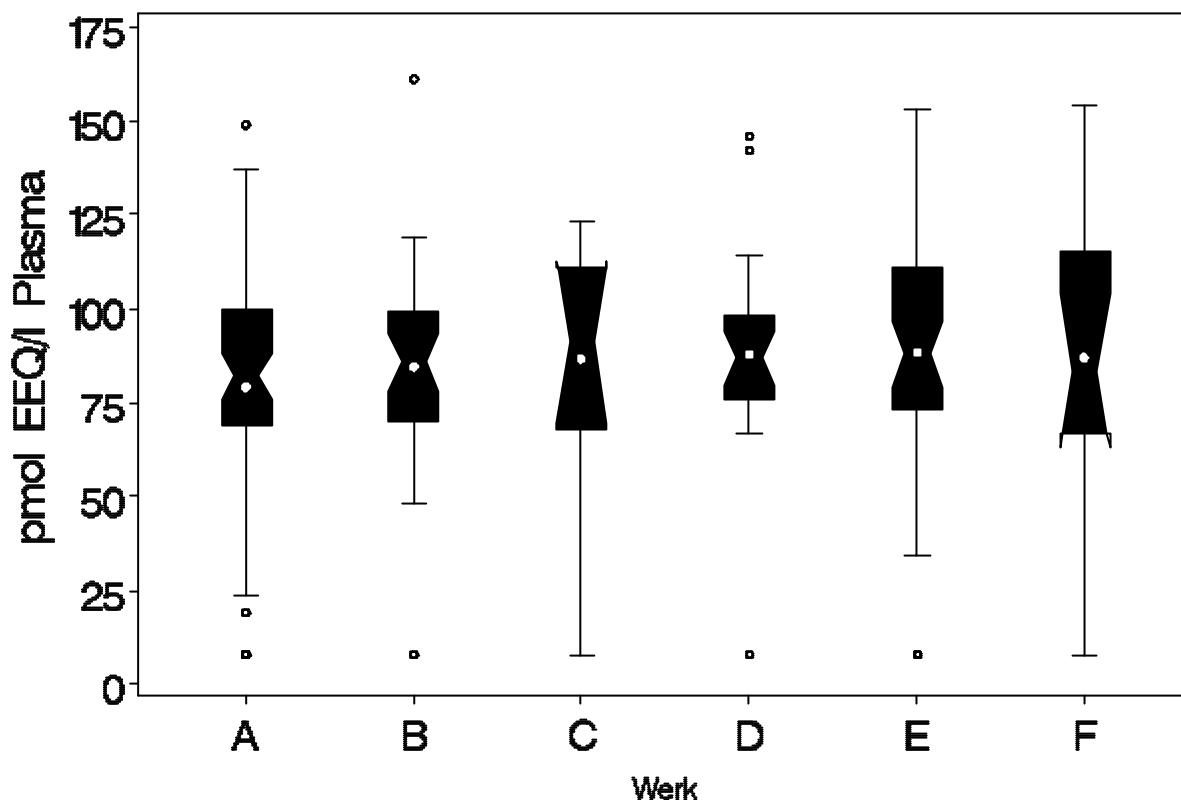


Abbildung 3-2: Darstellung der Messergebnisse der Östrogen-Aktivität für Werk A bis F.

Die für die einzelnen Werke gefundenen Werte sind in Abbildung 3-2 und in Tabelle 3-9 angegeben.

Tabelle 3-9: Aufschlüsselung der zentralen Lagewerte Mittelwert mit Standardabweichung sowie Median nach Werk.

Werk	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median
A	70	79.21	31.36	82.0
B	35	84.51	26.14	86.0
C	10	86.60	34.43	91.0
D	23	87.78	27.18	87.0
E	46	88.28	31.77	88.0
F	14	86.93	39.10	83.5

Der Östrogen-Aktivität aufgeschlüsselt nach Arbeitsstunden ist in Abbildung 3-3 dargestellt. Für vier Probanden lag keine Anzahl der geleisteten Arbeitsstunden vor. Für Probanden, deren Schicht nach 1 bis 4 Stunden beendet war, wurde mit 77,3 pmol EEQ/l Plasma ein geringerer Mittelwert gemessen als für Probanden, deren Schicht 5 Stunden oder länger dauerte (85,8 pmol / l Plasma).

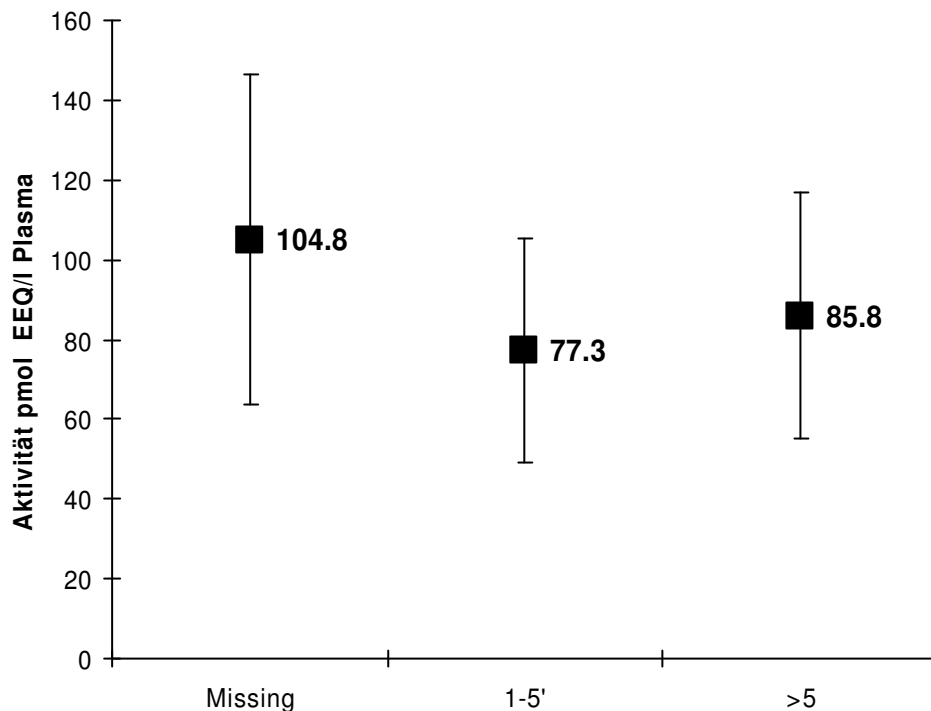


Abbildung 3-3: Mittelwerte und Standardabweichung der Östrogen-Aktivität in pmol EEQ / l Plasma nach Arbeitsdauer für Probanden ohne Angabe der Arbeitszeit (N=4), zwischen 1 und 5 Arbeitsstunden (N=47) und mehr als 5 Arbeitsstunden (N=147).

3.3.2 Verknüpfung Ergebnisse Biomonitoring-Analytik E-Screen

Die ermittelte Spearman-Korrelation zwischen der im Biomonitoring gemessenen Bisphenol A-Konzentration im Urin und der Östrogen-Aktivität im Plasma betrug 0,002. Die Spearman-Korrelation für Eisen und östrogene Aktivität betrug -0,06. Nach Spearman ergaben sich für die Phthalatmetaboliten MBzP ($r_s = -0,004$), MnBP ($r_s = -0,07$) und 5OHMEHP ($r_s = -0,08$) ebenfalls keine Korrelationen mit der Östrogen-Aktivität. Ein funktioneller Zusammenhang zwischen der gemessenen Konzentration für die Summe der Metaboliten MBzP, MnBP und 5OHMEHP und der Östrogen-Aktivität konnte ebenfalls nicht festgestellt werden ($r_s = -0,05$). In den Abbildungen 4-6 und 4-7 sind die Korrelationen für Bisphenol A bzw. für Phthalate aus der chemischen Analytik sowie die E-Screen Assay Ergebnisse als Scatterplots dargestellt.

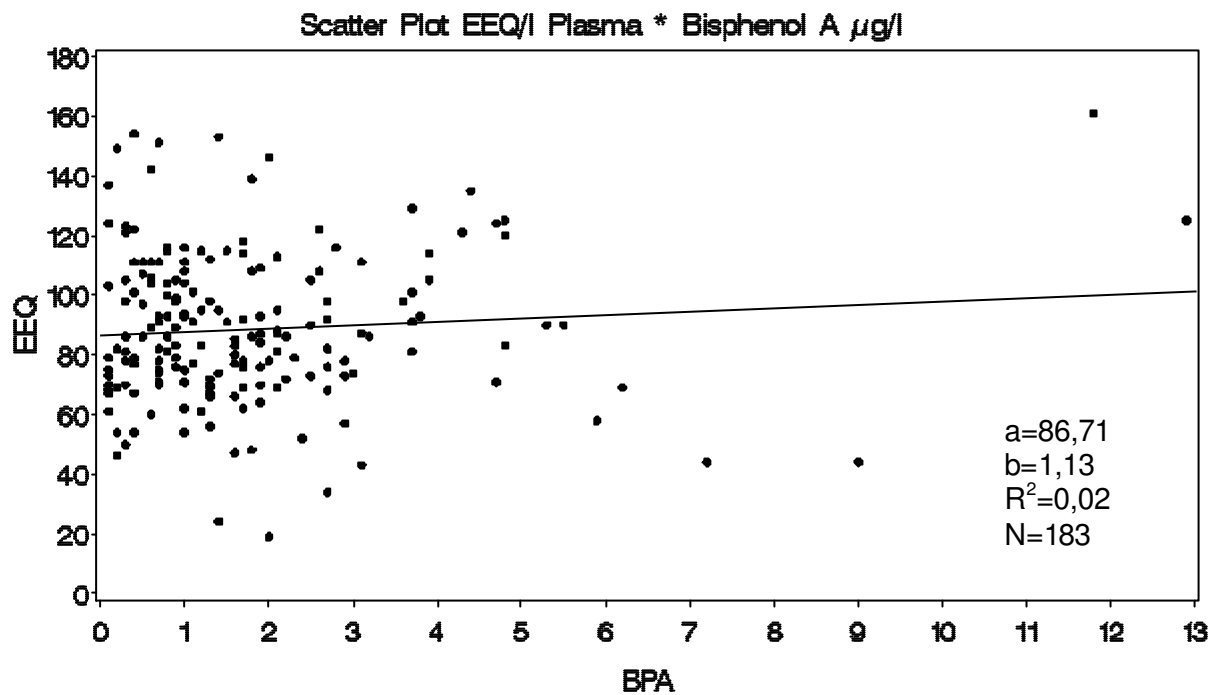


Abbildung 3-4: Korrelation zwischen Bisphenol A Konzentration im Urin und gemessener Östrogen-Aktivität in pmol/l Plasma für 183 Probanden.

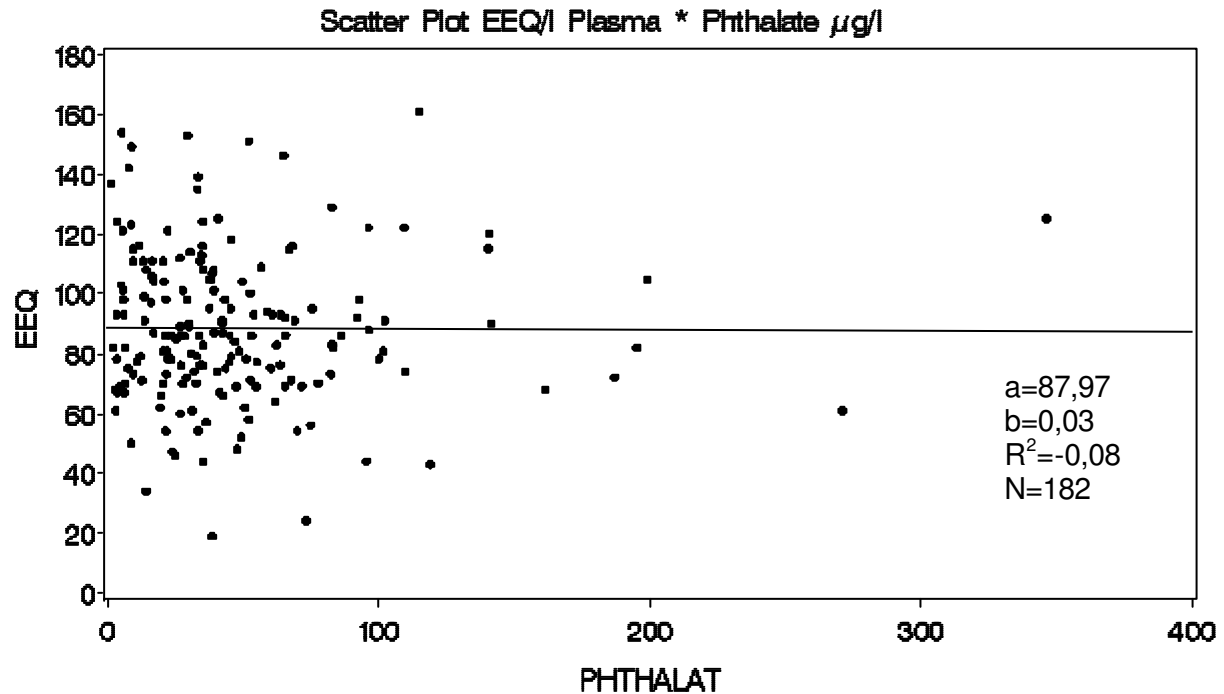


Abbildung 3-5: Korrelation zwischen der Konzentration von Phthalatmetaboliten im Urin und gemessener Östrogen-Aktivität in pmol/l Plasma für 182 Probanden.

4 Diskussion

Ziel des Studienteils „Biomonitoring“ in der vorliegenden Studie war die Untersuchung der grundsätzlichen Eignung des Einsatzes von Biomonitoring-Verfahren bei der Expositionseinstufung. Biomonitoringmesswerte können die Expositionsbewertung ergänzen, indem z.B. eine Klassifizierung der Expositionsintensität für einen Stoff innerhalb einzelner Arbeitsbereiche anhand der Biomonitoringmesswerte vorgenommen wird. Ein derartiger Arbeitsschritt ist allerdings nur sinnvoll, wenn eine berufliche Exposition gegenüber einem Arbeitsstoff zu einer nachweisbaren Veränderung der entsprechenden Biomonitoringmesswerte führt. Die zentrale Aufgabe des Studienteils Biomonitoring bestand darin, dieses für einzelne Stoffe bzw. Stoffklassen zu überprüfen. Hierbei sollte untersucht werden, inwieweit sich Expositionseinstufungen für aktuelle Berufstätigkeiten in den Biomonitoring-Analysen widerspiegeln. Im Rahmen des Studienteils „Biomonitoring“ wurde dieser Frage sowohl im Hinblick auf Einzelsubstanzen durch ein Biomonitoring als auch für gleichgerichtete hormonelle Aktivitäten durch den Einsatz von Bioassays nachgegangen. Um möglichst deutliche Unterschiede zwischen beruflich Exponierten und beruflich Nicht-Exponierten messen zu können, sollten bei der Messung im Biomonitoring insbesondere als hoch exponiert eingestufte Personen mit nicht exponierten verglichen werden.

Vor Bewertung der Ergebnisse muss darauf hingewiesen werden, dass der ursprünglich vom BIPS geplante Ablauf dieses Studienteils durch Beschluss des Lenkungskreises ohne Zustimmung des Forschungsnehmers maßgeblich geändert wurde. Die Änderungen schränkten leider den Interpretationsspielraum der Ergebnisse ein. Das vom BIPS ursprünglich vorgesehene Verfahren sah eine Gewinnung biologischen Materials von allen aktuell beim Kfz-Hersteller beschäftigten Studienteilnehmern am Tag des Interviews vor. Die zum Zeitpunkt der Probenentnahme vorherrschenden Expositionsverhältnisse hätten dann direkt mit den im Interview gegebenen Informationen zur aktuellen Beschäftigung verglichen werden können. Der unter 2.7 beschriebene Arbeitsschritt zum Abgleich zwischen der Tätigkeit zum Interviewzeitpunkt und der Tätigkeit zum Zeitpunkt der Probenentnahme wäre (inklusive der damit verbundenen Unsicherheiten) nicht erforderlich gewesen.

Im ursprünglich vorgesehenen Verfahren sollten nach endgültiger Expositionseinstufung alle biologischen Proben von Studienteilnehmern, die anhand der endgültigen Expositionseinstufung im individuellen Verfahren als ‚hoch exponiert‘ angesehen werden konnten, zur labormedizinischen Analytik weitergeleitet werden. Im letztendlich durchgeführten Verfahren basierte unsere Entscheidung, ob ein Patient hoch exponiert gewesen ist und somit in den Studienteil „Biomonitoring“ einbezogen werden sollte, auf der vorläufigen Expositionseinstufung durch die Job-Exposure-Matrix. Für diese Auswahl wurde anhand der Expositionseinstufung durch die Job-Exposure-Matrix ein Auswahlsschlüssel (Schwellenkriterium) entwickelt, welcher eine möglichst hohe Zahl typischerweise hoch exponierter Probanden selektieren sollte. Die im Anschluss an die JEM durchgeführte individuelle Expositionseinstufung führte jedoch zu einer Verringerung der Expositionsprävalenz insgesamt und der als ‚hoch‘ anzusehenden Expositionseinstufungen. Dieses betraf auch die Expositionseinstufungen für die aktuellen Tätigkeiten der für das Biomonitoring ausgewählten Probanden am Tag der Probennahme, so dass nach Durchführung der individuellen Expositionseinstufung deutlich weniger Probanden als exponiert anzusehen sind, als zum Zeitpunkt der Probandenauswahl angenommen werden konnte.

So wurden zum Beispiel für die Substanz 1-Methyl-2-Pyrrolidon zunächst 90 Probanden als exponiert angenommenen, von denen nach endgültiger Expositionseinstufung nur 19 als exponiert klassifiziert wurden. Von den 121 Biomonitoring-Probanden, die zum Auswahlzeitpunkt als exponiert gegenüber Glykolethern klassifiziert wurden, waren dies nach

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

endgültiger Expositionseinstufung nur noch 32. Die Aussagekraft des Biomonitorings wird hierdurch, insbesondere für einzelne Substanzen deutlich eingeschränkt.

Eine Einbeziehung weiterer Probanden in das Biomonitoring anhand der Ergebnisse der endgültigen Expositionseinstufung wäre deshalb grundsätzlich wünschenswert. Eine größere Anzahl von als exponiert eingestuften Probanden würde die statistische Aussagekraft der Studie vergrößern und darüber hinaus den Einfluss einzelner „Ausreißer“ minimieren.

Insgesamt fällt bei den Messergebnissen im Biomonitoring ein großer Anteil von „Messwerten“ unterhalb der Nachweisgrenze auf, wobei ein Ergebnis „unterhalb der Nachweisgrenze“ nicht gleichzusetzen ist mit dem Nichtvorhandensein einer Substanz oder – im Falle des E-Screens – mit biologischer Inaktivität. Die Tatsache, dass viele Messungen unterhalb der Nachweisgrenze lagen, führte in Kombination mit den niedrigen Expositionsprävalenzen im Auswahlkollektiv zu einer Einschränkung der möglichen statistischen Verfahren für die nachfolgenden Analysen.

Eine Möglichkeit, vergleichende Analysen innerhalb der Biomonitoringstichprobe durchzuführen, war die Analyse der dichotomisierten Einflussvariable „Biomonitoringmesswert <NWG“ vs. „Biomonitoringmesswert =NWG“. Die Verwendung dieser groben Variablen erlaubte eine Analyse der Messwertverteilungen bei den laut Expositionseinstufungsverfahren als exponiert bzw. nicht exponiert eingestuften Biomonitoring-Probanden auch für Stoffe, die nur wenige Messwerte oberhalb der NWG aufwiesen. Als weitere Methode wurde für alle Werte unterhalb der NWG ein Wert in Höhe der jeweiligen Hälfte der Nachweisgrenze imputiert. Dieses Verfahren ermöglicht weitergehende statistische Analysen, nimmt jedoch eine erhebliche Unschärfe der Ergebnisse durch die Berücksichtigung hypothetischer Werte in Kauf.

Die Chance, unter gegebenen Voraussetzungen eine Veränderung von Biomonitoringmesswerten durch berufliche Expositionen aufzudecken, ist abhängig von der Häufigkeit der Exposition in der untersuchten Gruppe (Expositionsprävalenz), dem tatsächlichen Einfluss der beruflichen Exposition auf die Biomonitoringmesswerte, der Größe des mindestens aufzudeckenden Einflusses, dem Einfluss außerberuflicher Expositionen auf die Biomonitoringmesswerte und der Anzahl der in die Untersuchung einbezogenen Personen. Je stärker der Einfluss einer beruflichen Exposition auf Biomonitoringmesswerte im Vergleich zu außerberuflichen Einflussfaktoren ist, desto sicherer lässt sich dieser auch in einer kleineren Personengruppe statistisch signifikant nachweisen. Das Ausmaß außerberuflicher Einflussfaktoren variiert dabei für jeden Stoff bzw. jede Stoffklasse.

Die durchgeführten statistischen Analysen zeigten in der Mehrzahl keine Korrelation zwischen den im Biomonitoring erzielten Messergebnissen und der zugehörigen Expositionsabschätzung. Es konnte also keine Erhöhung der inneren Belastung im Biomonitoring durch eine berufliche Exposition abgebildet werden. Neben der niedrigen Expositionsprävalenz sowie der großen Zahl an Messergebnissen unterhalb der Nachweisgrenze gibt es für jeden untersuchten Stoff bzw. jede Stoffklasse weitere mögliche Ursachen, die eine möglicherweise vorhandene Korrelation zwischen Biomonitoringergebnissen und Expositionsabschätzung maskieren könnten. Die Entscheidung, ob die Biomonitoring-Analysen bei der nun vorhandenen Kenntnis der jeweiligen Expositionsprävalenzen auszudehnen sind, muss für jeden Stoff unter Berücksichtigung dieser Einflussfaktoren stattfinden, was im Folgenden für einige Stoffe illustriert werden soll.

Eine Exposition gegenüber Eisen zum Zeitpunkt der Probennahme lag laut endgültiger Expositionseinstufung für 59 Personen vor. Für 30 dieser 59 Personen wurde laut Expositionseinstufung dabei von einer hohen inhalativen Exposition ausgegangen. Für 158 Studienteilnehmer lagen die Biomonitoring-Messergebnisse oberhalb der Nachweisgrenze. Die Messergebnisse der als exponiert eingestuften Studienteilnehmer lagen dabei im Mittel höher als die der als nicht exponiert eingestuften Probanden. Obwohl relativ viele Teilnehmer als

exponiert angesehen wurden und eine ausreichend hohe Zahl von Biomonitoring-Messwerten oberhalb der Nachweisgrenze lag, konnte keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Biomonitoring-Messwerten und der Expositionseinstufung für eine berufliche Exposition gegenüber Eisen gefunden werden. Neben möglichen Unsicherheiten aufgrund einer Expositionsfehlklassifikation ist hierfür vermutlich die biologische Funktion des Eisenstoffwechsels verantwortlich. So werden der Gehalt an freiem und gebundenem Eisen und dessen Ausscheidung durch verschiedene physiologische Abläufe bedingt. Die Kontrolle des Gleichgewichts des Eisenstoffwechsels kann auf verschiedenen Ebenen und an verschiedenen Stellen gestört sein. Eine relevante physiologische Komponente des Eisenstoffwechselgleichgewichts ist sowohl die Eisenaufnahme mit der Nahrung, als auch die renale Eisenclearance. Eine Beurteilung der Eisenwerte aus einer einzelnen Urinprobe und ihre Assoziation mit einer beruflichen Exposition im Rahmen des Exposure Assessments ist - trotz der relativ hohen Expositionsprävalenz in unserer Studie - ohne Kenntnis eventueller Vorerkrankungen, der Eisenaufnahme mit der Nahrung sowie der renalen Clearance schwierig. Da das Ausmaß der außerberuflichen Einflussfaktoren auf die Biomonitoringmesswerte nicht abgeschätzt werden kann, wird eine Untersuchung von Eisen im Urin in einem größeren Probandenkollektiv zur Beantwortung der Studienfrage nicht empfohlen.

Für alle übrigen Stoffe bzw. Stoffklassen lag die Expositionsprävalenz in der Gruppe der untersuchten Personen deutlich niedriger, was die Möglichkeit, eine Korrelation aufzudecken, grundsätzlich erschwert. Dennoch erscheint es für einzelne Stoffe bzw. Stoffgruppe sinnvoll, die Biomonitoringuntersuchungen auszudehnen.

Für Bisphenol A wurden 40 Biomonitoring-Studienteilnehmer als exponiert laut endgültiger Expositionseinstufung klassifiziert. Die maximale inhalative Expositionsintensität wurde dabei als „mittel“ eingestuft. Biomonitoring-Messwerte oberhalb der Nachweisgrenze wurden für 195 Studienteilnehmer gemessen. Eine Korrelation zwischen Biomonitoring-Messwerten und der beruflichen Expositionseinstufung konnte für das ausgewählte Probandenkollektiv nicht nachgewiesen werden.

Bei Bisphenol A handelt es sich um eine der bedeutendsten Industriechemikalien, die in verschiedenen Produkten des täglichen Gebrauchs enthalten ist. Der Umgang mit Gütern des täglichen Bedarfs, die Bisphenol A enthalten, stellt einen relevanten Beitrag zur Gesamtbelastung mit diesem Stoff dar. Bisphenol A kann auch in biologischen Materialien der beruflich nicht exponierten Allgemeinbevölkerung regelmäßig gemessen werden (s. Abschlussbericht Biomonitoring des BGFA im Anhang).

Der Median der Messwerte in unserer Studie lag dabei deutlich unterhalb des Medians der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung (Calafat et al. 2008). In der Studie von Calafat und Co-Autoren konnten höhere Bisphenol A-Messwerte für niedriges Alter bzw. Einkommen gezeigt werden. Messwertunterschiede zwischen verschiedenen Einkommensgruppen deuten auf einen möglichen relevanten Einfluss beruflicher Tätigkeiten hin. Leider liegen genauere Untersuchungen zu Bisphenol A-Messwerten bei verschiedenen Berufsgruppen bisher nicht vor. Um eine mögliche Korrelation zwischen Biomonitoringmesswerten und den beruflichen Expositionseinstufungen unter der Voraussetzung der ermittelten Expositionsprävalenz in der vorliegenden Studie nachweisen zu können, bedarf es einer Ausweitung des Biomonitorings. Unter der beobachteten Expositionsprävalenz bei den nicht exponierten Probanden könnte im Biomonitoring eine Verdoppelung der Expositionsprävalenz in der Gruppe der als exponiert eingestuften Studienteilnehmer erst ab einer Teilnehmerzahl von mindestens 324 Personen aufgedeckt werden.

Die Studienergebnisse aus Teil A des Abschlussberichts deuten auf ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Bisphenol A-exponierte Personen hin. Um ein mögliches Erkrankungsrisiko nach Bisphenol A-Exposition präziser beurteilen zu können und die Möglichkeit der Optimierung des Exposure Assessments für diesen Stoff durch ein Biomonitoring zu überprüfen, wird eine Ausweitung der Biomonitoring-Untersuchungen für

Abschlussbericht

Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Bisphenol A auf weitere aktuell beim Kfz-Hersteller beschäftigte Studienteilnehmer empfohlen. Die Optimierung unserer Expositionseinstufung könnte insgesamt zu einer zuverlässigeren Aussage bezüglich des Erkrankungsrisikos infolge von Expositionen gegenüber Bisphenol A führen.

Wie im Anhang (s. Abschlussbericht-Humanbiomonitoring des BGFA im Anhang) beschrieben, werden Phthalate vor allem als Weichmacher in PVC-Kunststoffen und darüber hinaus in vielen weiteren Anwendungsfeldern genutzt. Ihr Einsatz erfolgt dabei stoffspezifisch in verschiedenen weit verbreiteten Produkten. Der Einfluss durch nicht berufliche Expositionen ist somit vielfältig, und führt zu einer ubiquitären Hintergrundbelastung der Allgemeinbevölkerung.

Im Rahmen der Studie waren Expositionen gegenüber dem Phthalat DOP, welches verbreitet Anwendung in der Kfz-Herstellung findet, von besonderem Interesse. Dennoch zeigte sich im Untersuchungskollektiv nach endgültiger Expositionseinstufung eine Expositionsprävalenz von unter 10%. Bei dieser niedrigen Expositionsprävalenz müsste zum Nachweis einer Expositionsverdopplung durch berufliche Expositionen eine Ausdehnung des Probandenkollektivs auf mindestens 768 aktuell beim Kfz-Hersteller beschäftigte Personen erfolgen. Dieses erscheint im Rahmen dieser Studie als nicht praktikabel. Eine Ausdehnung der Biomonitoring-Untersuchungen für Phthalate wird derzeit daher nicht empfohlen.

Glykolether werden als Lösungsmittel in verschiedenen beruflichen Anwendungen genutzt. Berufliche Expositionen gelten als gesicherte Expositionsquellen, dagegen existieren unterschiedliche Auffassungen im Hinblick auf außerberufliche Expositionen. Für zwei Substanzen aus der Gruppe der Glykolether bzw. deren Stoffwechselprodukte konnten statistisch signifikante Korrelationen zwischen beruflichem Expositionsstatus und den Biomonitoringmesswerten nachgewiesen werden. Grundsätzlich erscheint daher eine Nutzung von Biomonitoringmesswerten zur Ergänzung der Expositionsbewertung als möglich. Einschränkend muss hierzu allerdings angeführt werden, dass die statistischen Analysen auf wenigen Messwerten oberhalb der Nachweisgrenze beruhen und die gemessenen Unterschiede zwischen Exponierten und Nichtexponierten sehr gering sind. Eine Ausdehnung der Biomonitoringuntersuchung könnte hier zu einer besseren Absicherung des Bezugs zwischen beruflicher Exposition und Messwerterhöhung und deren Quantifizierung dienen.

Für die übrigen im Biomonitoring berücksichtigten Stoffe 1-methyl-2-Pyrrolidon, Kobalt, Mangan und Blei wurden keine oder nur wenige Messwerte oberhalb der Nachweisgrenze festgestellt. Da die Expositionsprävalenz für diese Stoffe darüber hinaus gering war, war die Studie nicht in der Lage, eine Korrelation zwischen Expositionseinstufung und Biomonitoringmesswerten aufzuzeigen. Korrelationen zwischen Messwerten und Expositionseinstufung für diese Stoffe auch bei einer Ausweitung des Biomonitorings aufzudecken, ist daher unwahrscheinlich. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass eine statistisch signifikante Korrelation beobachtet werden könnte, wenn einzelne hoch exponierte Probanden im erweiterten Biomonitoring hohe Messwerte aufzeigen würden. Da die Wahrscheinlichkeit hierfür gering ist, empfehlen wir für diese Stoffe keine Ausweitung des Biomonitoring.

Die Expositionseinstufung für Biomonitoringprobanden erfolgte mit Hilfe des Konzepts zur Expositionseinstufung aus dem allgemein-epidemiologischen Studienteil der Fall-Kontroll-Studie. Dieses Konzept wurde für den Biomonitoring-Studienteil für die letzte vom Studienteilnehmer angegebene Berufsphase angewendet. Die durch die Expositionseinstufung ermittelte Expositionsbewertung wurde im Rahmen des Biomonitoringstudienteils als aktuelle Exposition angesehen. Unsicherheiten bei der Expositionseinstufung und eine dadurch bedingte Expositionsfehlklassifikationen (d.h. die irrtümliche Einstufung einer Person als exponiert bzw. nicht exponiert) sind daher nicht auszuschließen. Fehlklassifikationen können dazu führen, dass

eine tatsächlich vorliegende Korrelation zwischen beruflicher Exposition und einer Erhöhung der Biomonitoringmesswerte abgeschwächt würde bzw. gar nicht nachweisbar wäre. Das Ergebnis „keine Korrelation zwischen beruflicher Exposition und Biomonitoringmesswert“ misst aber nicht, ob eine Expositionsmissklassifikation dieser fehlenden Korrelation zugrunde liegt. Ob eine Korrelation als statistisch signifikant nachzuweisen ist, hängt, wie oben beschrieben, neben der Größe der Studienpopulation davon ab, ob eine Korrelation überhaupt besteht, wie stark diese Korrelation ist, wie stark außerberufliche Einflüsse die Biomonitoringmesswerte beeinflussen, wie klein die Unterschiede zwischen den Messwerten sind und wie hoch die Expositionsprävalenz in der Untersuchungsgruppe ist. Korrelationen zwischen Expositionseinstufung und Biomonitoringmesswerten zu analysieren, ist daher kein Verfahren zur Überprüfung der Güte der Expositionseinstufung. Die vorliegenden Ergebnisse aus dem Studienteil Biomonitoring sind nicht für eine Validierung der retrospektiven Expositionseinstufung aus dem allgemein-epidemiologischen Studienteil geeignet.

Ein Biomonitoring wird genutzt, um ein körperwirksames Äquivalent von Expositionen durch verschiedene Quellen und verschiedene Aufnahmepfade zu messen. Die Einbeziehung eines E-Screen Assay in das Biomonitoring misst dabei den gemeinsamen endokrinen Effekt als Gesamtwirkung von verschiedenen Stoffen.

Analysen, die in klinischen Tests angewandt werden, messen die Konzentration einzelner, vorher definierter Stoffe oder deren Metabolite. Im Gegensatz dazu messen die hier verwendeten Bioassays die gesamte biologische Aktivität von nicht näher definierten, unbekannten Einzelstoffen. Der Vorteil eines Assays besteht darin, dass, falls eine erhöhte positive oder inhibierende Aktivität festgestellt wird, in der Folge gezielt nach potenziellen verursachenden Stoffen gesucht werden kann.

Als Substanz mit Östrogen-Aktivität ist in dieser Studie die Konzentration von Bisphenol A gemessen worden. Auch einigen der hier untersuchten Metalle wird eine östrogene Potenz zugeschrieben, obwohl diese nicht gesichert ist. Als Substanzen mit östrogener, aber auch potentiell anti-androgener Aktivität können die verschiedenen gemessenen Phthalate angesehen werden.

Der Vorteil eines Assays, nämlich die gesamte östrogene bzw. -artige Aktivität in einer Analyseprobe zu ermitteln, ist gleichzeitig auch sein Nachteil. Das Ergebnis kann nicht auf eine einzelne Substanz zurückgeführt werden, sondern spiegelt lediglich die Aktivität eines Stoffgemischs wider. Solange die Konzentration der einzelnen Substanzen in der Analyseprobe nicht bekannt ist, ist die Interpretation des Ergebnisses mit Unsicherheiten verbunden.

Die Aktivität eines Gemischs X [pmol EEQ/l Plasma] ist die Summe der Einzelaktivitäten $y=1....n$.

$$X = \sum_1^n y$$

Für die Einzelaktivitäten muss ein Korrektiv für die Aktivität einer unbestimmten Anzahl von Substanzen $z=1....m$ eingeführt werden, die nicht einzeln analysiert werden. Damit verringert sich der Term $y=1...n$ zu $y=1...(n-1)$. Somit ergibt sich die Formel:

$$X = \sum_1^{n-1} y + \sum_1^m z$$

Idealerweise sollte die Aktivität, die dem Term

$$X = \sum_1^m z$$

entspricht, gegen Null gehen. Dieses kann dadurch bedingt sein, dass die Aktivität tatsächlich gegen Null tendiert (was fraglich ist), oder dadurch, dass der Summenterm für die unbekannten Substanzen die Anzahl der gemessenen Einzelsubstanzen mit Östrogen-Aktivität im ersten Summenterm erhöht. Damit ist die gemessene Gesamtaktivität nur zu einem gewissen Grad auf die Einzelmessungen des Substanzgemischs zurückführbar.

Im in dieser Studie angewandten E-Screen Assay wurde die östrogene Wirkung verschiedener Substanzen gemessen. Es ließ sich keine erhöhte östrogene Aktivität unter den Probanden nachweisen. Es bestand keine Korrelation zwischen den einzelnen durch chemische Analytik gemessenen Stoffen und der östrogenen Aktivität. Daher stellt sich in dieser Studie die Frage der chemischen Analytik weiterer Stoffe mit potenziell östrogener Aktivität nicht.

Die Proben wurden in dieser Studie standardisiert entnommen. Verzerrende Einflüsse auf die Ergebnisse, wie z.B. eine unterschiedlich lange Schichtdauer zwischen den Probanden am Probennahmetag, ließen sich nicht vermeiden. Obwohl Probanden mit kürzerer Schichtdauer eine geringere östrogene Aktivität aufwiesen, erreichte dieser Unterschied keine statistische Signifikanz. Ebenfalls ließ sich kein signifikanter Einfluss des Alters auf die Messergebnisse zeigen. Da weitere Studien mit einer vergleichbaren Fragestellung und Design bisher nicht vorliegen, ist eine genauere Einordnung der Ergebnisse nicht möglich.

Die Analyse der östrogenen Aktivität lässt keine Rückschlüsse auf andere hormonähnliche Effekte zu. Die gemessenen Aktivitäten an Bisphenol A und den Phthalatmetaboliten sollten deshalb zukünftig mit weiteren hormonellen Aktivitäten (z.B. Anti-Androgen, Anti-Östrogen) in Beziehung gesetzt werden. Um statistisch abgesicherte Schlüsse ziehen zu können, wäre auch für diese Analyse eine Ausweitung des Untersuchungskollektivs wünschenswert.

5 Schlussfolgerungen

Durch eine Änderung des ursprünglich vorgesehenen Studiendesigns wurde die Probengewinnung für das Biomonitoring in der Studie auf nur 270 Probanden begrenzt. Die erforderliche Probandenauswahl wurde auf Grundlage einer vorläufigen Expositionseinstufung durchgeführt, was zu einer Einschränkung der Aussagekraft dieses Studienteils führte. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Expositionsstatus und Biomonitoringmesswerten konnte nur für die Stoffklasse der Glykolether gezeigt werden. Auf der Grundlage der durch die Untersuchungen nun vorhandenen Kenntnisse zur Expositionsprävalenz wird für Bisphenol A und die Gruppe der Glykolether eine Ausdehnung der Biomonitoringuntersuchungen auf weitere aktuell beim Kfz-Hersteller beschäftigte Studienteilnehmer empfohlen.

Die gemessene Gesamt-Östrogenaktivität im E-Screen-Assay korrelierte nicht mit der gemessenen inneren Belastung gegenüber Phthalaten, Bisphenol A oder Eisen. Diese Untersuchungen könnten ebenfalls auf ein größeres Probandenkollektiv und weitere Hormonaktivitäten wie die anti-androgene Aktivität ausgedehnt werden.

Abschließend ist zu betonen, dass die Frage nach möglichen Assoziationen zwischen den gemessenen Substanzen und dem Keimzelltumorrisiko durch das hier durchgeführte

Abschlussbericht
Analytische Studie zu Keimzelltumoren bei Werksangehörigen in der Kfz-Produktion

Biomonitoring nicht beantwortet werden kann. Dieses gilt, da die Messung von Substanzen in Biomaterialien zu einem bestimmten Zeitpunkt keine Aussage über frühere bzw. langfristige Expositionen gegenüber einem bestimmten Arbeitsstoff erlaubt.

6 Literaturverzeichnis

Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL (2008): Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol. *Environ Health Perspect* 116: 39-44

Kortenkamp, A. (2007): Low dose mixture effects of endocrine disruptors: implications for risk assessment and epidemiology. *Int J Androl* 31: 233–240.

Ritter, L., Arbuckle, T.E. (2007): Can exposure characterization explain concurrence or discordance between toxicology and epidemiology? *Toxicol Sci* 97(2): 241–252.

7 Anhang

Fragebogen zur Bioprobenentnahme

bitte bei Probenentnahme ausfüllen

Werksstandort: _____

Initialen (Vorname,Nachname): |_|_|_| Geburtsdatum: |_|_|_|.|_|_|_|.|_|_|_|_|_|

Datum Untersuchungstag: |_|_|_|_|.|_|_|_|_|.|_|_|_|_|_|

Uhrzeit Untersuchung: |_|_|_|_|.|_|_|_|_|

1. Wann haben Sie heute Ihre Arbeit begonnen? Uhrzeit: |_|_|_|_|.|_|_|_|_|

2. Wann haben Sie heute Ihre Arbeit beendet? Uhrzeit: |_|_|_|_|.|_|_|_|_|

3. An welchem Arbeitsplatz (A) haben Sie heute gearbeitet und welche Tätigkeit (T) haben Sie dort hauptsächlich ausgeübt? Wie lange haben Sie diese ausgeübt?

A: _____ T: _____ |_|_| Stunden

4. An welchem Arbeitsplatz (A) haben Sie gestern gearbeitet und welche Tätigkeit (T) haben Sie dort hauptsächlich ausgeübt? Wie lange haben Sie diese ausgeübt?

A: _____ T: _____ |_|_| Stunden

5. Der wievielte Arbeitstag in dieser Woche ist heute für Sie? |_|_|_|

WEITER SIEHE RÜCKSEITE

6. Rauchen Sie?

- ☐₁ Ja ⇒ wenn ja, *weiter mit Frage 6.1*
☐₂ Nein ⇒ wenn nein, *weiter mit Frage 7*

6.1. Wie viel haben Sie heute geraucht?

|____| **Zigaretten** |____| **Zigarren/Zigarillos** |____| **Pfeifen**

6.2. Wie viel haben Sie gestern geraucht?

|____| **Zigaretten** |____| **Zigarren/Zigarillos** |____| **Pfeifen**

7. Haben Sie in den letzten 2 Tagen Thrombozyten (Blutplättchen) oder Blutplasma gespendet, wurde bei Ihnen eine Dialyse durchgeführt oder haben Sie eine Bluttransfusion bekommen?

(bei einer Thrombozyten- oder Plasmaspende wird Blut, Thrombozyten bzw. Plasma werden gesammelt, die restlichen Bestandteile werden dem Spender über eine Vene zurück in den Körper geleitet)

- ☐₁ Ja
☐₂ Nein
☐₉ Weiß nicht

8. Haben Sie in den letzten 2 Tagen Arzneimittel eingenommen?

- ☐₁ Ja ⇒ wenn ja, *weiter mit Frage 8.1*
☐₂ Nein
☐₉ Weiß nicht

8.1 Bitte schreiben Sie die Namen der eingenommenen Mittel sowie die Darreichungsform und die eingenommene Anzahl/Menge der letzten 2 Tage auf.

Medikamentenname	Darreichungsform (Kapsel, Dragee, Tablette, Saft, etc.)	Anzahl/Menge in den letzten 2 Tagen

Wir bedanken uns für Ihre freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Studie. Ihr Studienteam

Humanbiomonitoring – TESCAR

Qualitätssicherungsbericht



BGFA– Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin

der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV), Institut der Ruhr-Universität Bochum

Bürkle-de-la-Camp Platz 1, D-44789 Bochum, Germany

Inhaltsverzeichnis

1.	Verwendete Abkürzungen	4
2.	Zusammenfassung	6
3.	Grundsätzliche Anmerkungen zur Qualitätssicherung	7
4.	Organische Parameter	8
4.1	Bisphenol A	8
4.1.1	Substanzspezifische Hintergrundinformation	8
4.1.2	Prinzip des analytischen Verfahrens	9
4.1.3	Interne & Externe Qualitätssicherung	9
4.2	Glykolether	12
4.2.1	Substanzspezifische Hintergrundinformation	12
4.2.2	Prinzip des analytischen Verfahrens	13
4.2.3	Interne & Externe Qualitätssicherung	13
4.3	N-Methyl-2-pyrrolidon	17
4.3.1	Substanzspezifische Hintergrundinformation	17
4.3.2	Prinzip des analytischen Verfahrens	18
4.3.3	Interne & Externe Qualitätssicherung	18
4.4	Phthalate	21
4.4.1	Substanzspezifische Hintergrundinformation	21
4.4.2	Prinzip des analytischen Verfahrens	22
4.4.3	Interne & Externe Qualitätssicherung	22
5.	Anorganische Parameter	26
5.1	Blei	26
5.1.1	Substanzspezifische Hintergrundinformation	26
5.1.2	Prinzip des analytischen Verfahrens	27
5.1.3	Interne & Externe Qualitätssicherung	27
5.2	Eisen	29
5.2.1	Substanzspezifische Hintergrundinformation	29
5.2.2	Prinzip des analytischen Verfahrens	29
5.2.3	Interne und Externe Qualitätssicherung	30

5.3	Kobalt	32
5.3.1	Substanzspezifische Hintergrundinformation	32
5.3.2	Prinzip des analytischen Verfahrens	33
5.3.3	Interne und Externe Qualitätssicherung	33
5.5	Mangan	35
5.5.1	Substanzspezifische Hintergrundinformation	35
5.5.2	Prinzip der Methode	35
5.5.3	Interne & Externe Qualitätssicherung	36
6.	Literatur	38
	Anhänge	41
	Zertifikate für externe Ringversuche	

1. Verwendete Abkürzungen

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists [USA]
AGW	Arbeitsplatzgrenzwert
AiBM	Arbeitskreis „Analysen in Biologischem Material“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft [BRD]
BÄK	Bundesärztekammer [BRD]
BAT	Biologischer Arbeitsplatz-Toleranzwert
BBP	Benzylbutylphthalat
BEI	Biological Exposure Indices [USA]
BGFA	Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der DGUV
BGW	Biologischer Grenzwert
BIPS	Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin
BLW	Biologischer Leitwert
BPA	Bisphenol A
CDC	Centers for Disease Control & Prevention
CERHR	Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction [USA]
Co	Cobalt
DnBP	Di- <i>n</i> -butylphthalat
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft [BRD]
DGAUM	Deutsche Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V.
DGUV	Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung [BRD]
DEHP	Di-(2-ethylhexyl)phthalat
EKA	Expositionsäquivalent für kanzerogene Arbeitsstoffe
Fe	Eisen
FID	Flammenionisationsdetektion
FIOH	Finnish Institute of Occupational Health
GC	Gaschromatographie
GE	Glykolether
G-EQAS	German External Quality Assurance System
HBM	Humanbiomonitoring
2-HMSI	2-Hydroxy- <i>N</i> -methylsuccinimid
5-HNMP	5-Hydroxy- <i>N</i> -methyl-pyrrolidon
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
JEM	Job-Exposure Matrix

MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MnBP	Mono- <i>n</i> -butylphthalat
MBzP	Monobenzylphthalat
5-OH-MEHP	Mono-(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)-phthalat
Mn	Mangan
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
NIH	National Institutes of Health [USA]
NMP	<i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidon
NTP	National Toxicology Program [USA]
NWG	Nachweisgrenze
Pb	Blei
PU	Polyurethan
PVC	Polyvinylchlorid
RAM	Restricted Access Material
S/N	Signal-/Rauschverhältnis
UBA	Umweltbundesamt [BRD]

2. Zusammenfassung

Das BGFA – Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV), Institut der Ruhr-Universität Bochum, unterstützt mit einem Humanbiomonitoring (HBM) ein von der Vereinigung der Metallberufsgenossenschaften und der DGUV gefördertes Projekt des Bremer Instituts für Präventionsforschung und Sozialmedizin (BIPS) zu beruflichen Risikofaktoren von Hodentumoren bei Beschäftigten in der metallverarbeitenden Industrie. Das HBM soll klären, welche inneren Belastungen gegenüber potenziell endokrin und kanzerogen wirksamen Gefahrstoffen zum gegenwärtigen Zeitpunkt bei Beschäftigten in der Metall-Industrie vorliegen. Ein Arbeitskreis aus Vertretern der beteiligten Berufsgenossenschaften von Industriestandorten, des BIPS und weiterer Experten begleitet das Projekt. Insgesamt wird biologisches Material (Urin) von rund 200 Studienteilnehmern untersucht. Im Jahr 2008 ist die Exposition der Probanden durch eine vom BIPS entwickelte Job-Exposure-Matrix (JEM) eingeschätzt worden. Als Ergebnis der JEM konnte festgestellt werden, dass die Beschäftigten einer Reihe von organischen Lösungsmitteln, Weichmachern und Metallen ausgesetzt sind. Für die wichtigsten Verbindungen liegen dabei teilweise Koexpositionen vor. Der Fokus des HBM liegt nach Vorliegen aller Daten auf einer Auswahl von Beispielsubstanzen, an denen exemplarisch die Exposition gegenüber potenziell endokrin wirksamen Verbindungen in der Automobilindustrie erhoben wird. Dazu gehören Bisphenol A, ausgewählte Substanzen aus der Gruppe der Glykolether und Phthalate, N-Methyl-2-pyrrolidon sowie Blei, Eisen, Cobalt und Mangan.

Der vorliegende Qualitätssicherungsbericht zum studienbegleitenden HBM beinhaltet substanzspezifische Hintergrundinformationen zu den untersuchten Parametern *per se* (u.a. Anwendungsgebiete und Kriterien zur Beurteilung der HBM-Ergebnisse) sowie die Resultate der Qualitätssicherung (interne und externe Qualitätskontrolle). Die gewonnenen Daten des HBM dienen (a) zur Überprüfung der Expositionseinstufung durch die JEM, (b) zur wissenschaftlichen Objektivierung, inwiefern eine berufliche Tätigkeit in der Automobilindustrie eine umweltbedingte Exposition übersteigt und (c) der Optimierung der Expositionseinstufung in der betrieblichen Praxis.

3. Grundsätzliche Anmerkungen zur Qualitätssicherung

Gemäß §6(4) der Kooperationsvereinbarung vom 12.07.2007 verpflichtet sich das BGFA im Rahmen des Forschungsvorhabens **„Analytische Studie zu Hodentumoren bei Werksangehörigen in der KFZ-Produktion – eingebettete Fall-Kontrollstudie“** bei der Durchführung des HBM akzeptierte und validierte Nachweisverfahren einzusetzen. Dazu werden vorrangig unabhängig geprüfte und publizierte Verfahren der Arbeitsgruppe „Analysen in Biologischem Material (AiBM)“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) eingesetzt. Sind derartige Verfahren nicht vorhanden, können auch analytische Nachweismethoden angewandt werden, die nachweislich laborintern nach den Kriterien der AiBM validiert wurden. Alle in diesem Prüfbericht angewandten Methoden entsprechen ohne Ausnahme den neuesten wissenschaftlichen Standards der DFG und wurden unter Anwendung modernster Analysengeräte (*state-of-the-art*) durchgeführt.

Gemäß §4(5) ist die vorherige und nachweisliche Teilnahme an Ringversuchen (G-EQAS) der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin (DGAUM) zur externen Qualitätssicherung Voraussetzung zur Durchführung des HBM, sofern Ringversuche für die ausgewählten Analysenparameter seitens der DGAUM angeboten werden. Hiervon kann in begründeten Einzelfällen abgewichen werden. Mit Ausnahme von Bisphenol A sowie den Glykolethern, für die kein Ringversuchsmaterial angeboten wird, liegt für sämtliche andere Methoden ein Zertifikat für die erfolgreiche Teilnahme an der externen Qualitätskontrolle vor.

Gemäß §2(1) der Ergänzung zum Kooperationsvertrag vom 31.10.2008 wurde als Ergebnis der Erörterung und Festlegung im Forschungsbegleitkreis die Liste der im HBM durch das BGFA zu untersuchenden Parameter wie folgt definiert:

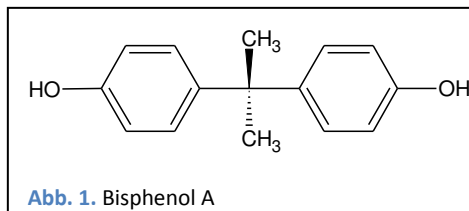
- Organische Parameter
Bisphenol A, Glykolether, *N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP), Phthalate
- Anorganische Parameter
Blei, Cobalt, Eisen, Mangan

Alle Analysen fanden in Urinproben der Beschäftigten statt und wurden mit Ausnahme des *N*-Methyl-2-pyrrolidon am BGFA durchgeführt. Letztere wurde an der Medizinisch-Technischen Hochschule Hannover unter Einhaltung aller vertraglichen Anforderungen zur Qualitätssicherung durchgeführt. Für die Durchführung des HBM liegen ein genehmigter Ethikantrag seitens der Ethikkommission der Universität Bremen sowie eine Bestätigung des Datenschutzkonzeptes durch die Landesdatenschutzbeauftragte Bremen vor.

4. Organische Parameter

4.1 Bisphenol A

4.1.1 Substanzspezifische Hintergrundinformation



Bisphenol (BPA, CAS 80-05-7, m/z 228.3, [Abb. 1](#)) ist ein wichtiges industrielles Zwischenprodukt bei der Produktion von Epoxyharzen und Plastikmaterialien auf Polycarbonatbasis. Diese finden breiten Einsatz in der Industrie, *u.a.* als Beschichtungsmaterial und

Verbundwerkstoffe aber auch als Verpackungsmaterialien im Consumer-Bereich. Dementsprechend ist BPA auch in Humanproben der beruflich nicht exponierten Allgemeinbevölkerung zu finden (Calafat *et al.*, 2008). Gleichzeitig wird BPA als Biozid und Antioxidans eingesetzt. BPA gilt nachgewiesenermaßen als reproduktionstoxisch im Tierversuch, während die Datenlage beim Menschen unzureichend beschrieben ist. In der neuesten Risikoevaluierung (September 2008) kommt das „Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction“ (CERHR) der „National Institutes of Health“ (NIH) zu dem Schluss, dass – je nach Endpunkt – lediglich von einem vernachlässigbar geringen („negligible“) bis hin zu etwas Bedenken („some concern“) für das reproduktionstoxische Risiko beim Menschen besteht (NIH, 2008).

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse am Arbeitsplatz können folgende Beurteilungswerte *bzw.* Kategorisierungen berücksichtigt werden:

- a) Der Biologische Leitwert (BLW) beträgt 80 mg/L (DFG, 2008a).
- b) BPA ist in Schwangerschaftskategorie C der DFG eingruppiert, *d.h.* eine fruchtschädigende Wirkung braucht bei Einhaltung des BLW-Wertes nicht befürchtet zu werden (DFG, 2008a).
- c) Daten zur ubiquitären Hintergrundbelastung der Allgemeinbevölkerung in Deutschland liegen seitens des Umweltbundesamtes (UBA) nicht vor. Der Median der Belastung der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung liegt bei 2,7 µg/L (95. Perzentil: 15,9 µg/L, $n=2.517$, Alter: ≥ 6 Jahre) (Calafat *et al.*, 2008).

4.1.2 Prinzip des analytischen Verfahrens

Das hier beschriebene analytische Verfahren auf Basis der zweidimensionalen Hochleistungsflüssigkeitschromatographie in Kombination mit der Tandem-Massenspektrometrie (2D-HPLC-MS/MS) ermöglicht die Bestimmung von BPA im Urin von beruflich als auch umweltbedingt exponierten Personen. Als Grundlage diente eine bestehende Methodik der im Arbeitskreis AiBM erarbeiteten und publizierten Methode der DFG (DFG, 2008b). Das 2D-HPLC-MS/MS-Verfahren stellt eine automatisierte on-line Methode dar und erfasst BPA als Gesamt-BPA, also die Summe aus freiem und konjugiert vorliegendem BPA im Urin.

Nach Zugabe des internen Standards (BPA-d₁₆) wird die gepufferte Urinprobe (pH 5,5-6,0) enzymatisch hydrolysiert. Die weitere Probenverarbeitung sowie die Trennung des Analyten BPA von der Matrix erfolgen on-line. Zunächst erfolgt eine Anreicherung von BPA an einer RAM-Phase (Restricted Access Material), während höhermolekulare Bestandteile des Urins (wie Proteine) eluiert und verworfen werden. Im zweiten Schritt wird BPA durch eine ventilgesteuerte Umkehr des Lösemittelflusses auf eine zweite analytische Säule überführt und chromatographisch von weiteren Matrixbestandteilen getrennt. Die abschließende sensitive und spezifische Detektion von BPA erfolgt mittels der Tandem-Massenspektrometrie. Zur Kalibrierung werden mit BPA und internem Standard dotierte wässrige Standardlösungen eingesetzt, die wie die Proben aufgearbeitet und analysiert werden.

4.1.3 Interne & Externe Qualitätssicherung

Standardisierung und Qualitätskontrollmaterial

Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer (BÄK, 2003) und gemäß der im Arbeitskreis AiBM der DFG erarbeiteten und publizierten Anforderungen an arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen durchgeführt (Angerer und Lehnert, 1997). Da zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial weder durch die DGAUM im Rahmen des G-EQAS noch durch das Finnish Institute of Occupational Health (FIOH) kommerziell erhältlich ist, konnte an keinem externen Ringversuch zum Nachweis von BPA in Urinproben teilgenommen werden. Aus diesem Grund wurde eine interne Qualitätskontrollprobe mit definierter Menge an BPA im Labor hergestellt und zusammen mit einer Leerprobe (hochreines Wasser) in jede Analysensequenz eingeschlossen.

Kalibrierung

Zur quantitativen Auswertung wurden Kalibriergeraden unter Benutzung der Isotopenverdünnungsanalyse erstellt. Dazu wurden Lösungen von Kalibrierstandards im Bereich zwischen 0,1 und 100,0 µg/L hergestellt, indem Urinproben mit entsprechend definierten Mengen an BPA versetzt wurden. Die Probenvorbereitung und Analyse dieser Standardlösungen wurde gemäß Abschnitt 4.1.2 unter Einsatz von BPA-d₁₆ zur internen Standardisierung durchgeführt. Die erhaltene Kalibriergerade ist linear im Bereich zwischen 0,1 und 100,0 µg/L.

Präzision des Verfahrens

Die Präzision in der Serie wurde bei zwei unterschiedlichen Konzentrationen an BPA in jeweils acht Bestimmungen (3,0 und 12,0 µg/L) untersucht (Tab. 1).

Konzentration [µg/L]	Rel. Standard Deviation [%]	Prognostischer Bereich [%]
3,0	11,8	23,4
12,0	3,4	7,8

Tab. 1. Präzision in der Serie für Bisphenol A im Urin (n=8)

Die Präzision von Tag zu Tag wurde ebenfalls bei zwei unterschiedlichen Konzentrationen an BPA (3,0 und 12,0 µg/L) und an jeweils 10 unterschiedlichen Tagen untersucht (Tab. 2).

Konzentration [µg/L]	Rel. Standard Deviation [%]	Prognostischer Bereich [%]
3,0	6,0	11,2
12,0	4,1	8,4

Tab. 2. Präzision von Tag zu Tag für Bisphenol A im Urin (n=10)

Genauigkeit des Verfahrens

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde über die Bestimmung der Wiederfindung bei einer Konzentrationen von 10 µg/L und acht Wiederholungen überprüft. Sie wurde zu 95,6% bestimmt.

Nachweisgrenzen

Die Nachweisgrenze (NWG) für BPA im Urin wurde auf Basis eines Signal-/Rauschverhältnisses (S/N) von 3:1 zu 0,1 µg/L bestimmt. Die Methode ist damit neben dem arbeitsmedizinischen auch für den umweltmedizinischen Bereich geeignet.

Zusammenfassung Qualitätskontrolle – Bisphenol A

Mit dem dargestellten analytischen Verfahren auf Basis der zweidimensionalen Hochleistungsflüssigkeitschromatographie in Kombination mit der Tandem-Massenspektrometrie, einer Nachweisgrenze von 0,1 µg/L, einer Präzision von <15% in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von >95% lässt sich BPA sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide sowohl im arbeitsmedizinisch als auch umweltmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

Beispielchromatogramm

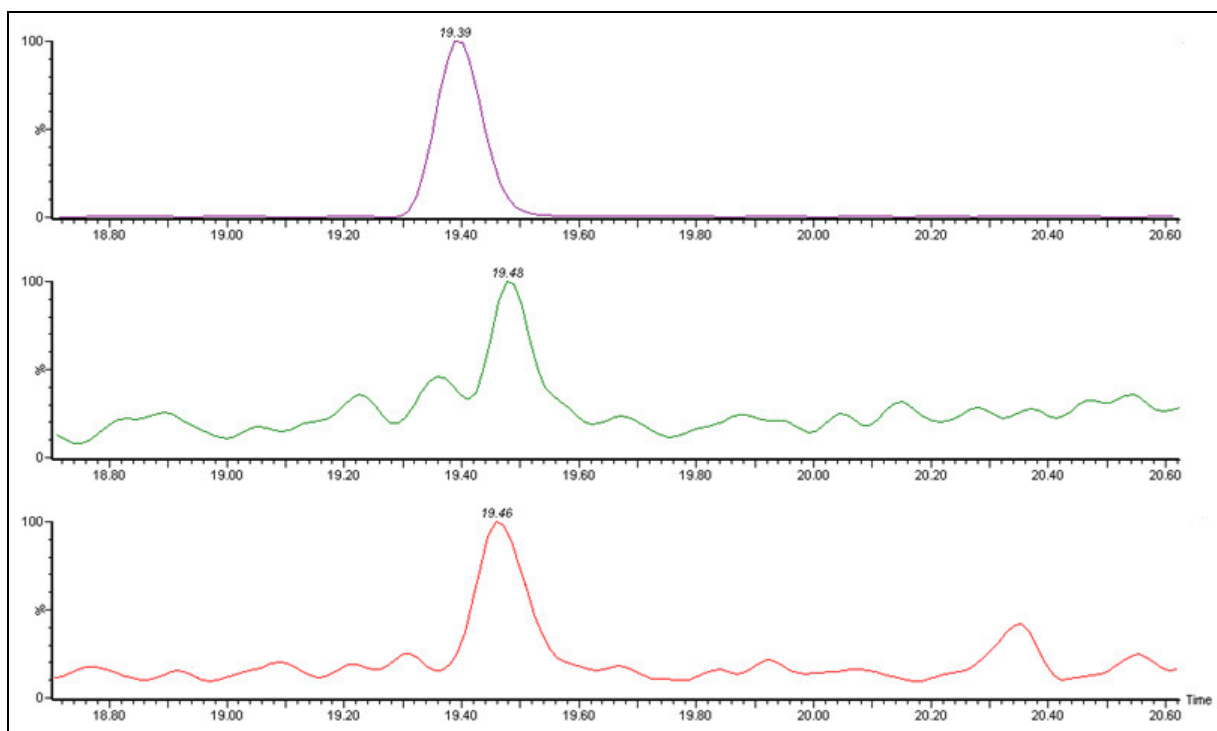


Abb. 2. Chromatogram einer aufgearbeiteten Harnprobe mit dem internen Standard (BPA-d₁₆, violett) und dem 'Qualifier/Quantifier'-Paar für BPA (grün/rot)

4.2 Glykolether

4.2.1 Substanzspezifische Hintergrundinformation

Glykolether (GE, siehe [Abb. 3](#)) werden in vielen Industriezweigen in zunehmendem Maße als Lösungsmittel und Emulgierhilfen oder als Ersatz für halogenierte Kohlenwasserstoffe eingesetzt.

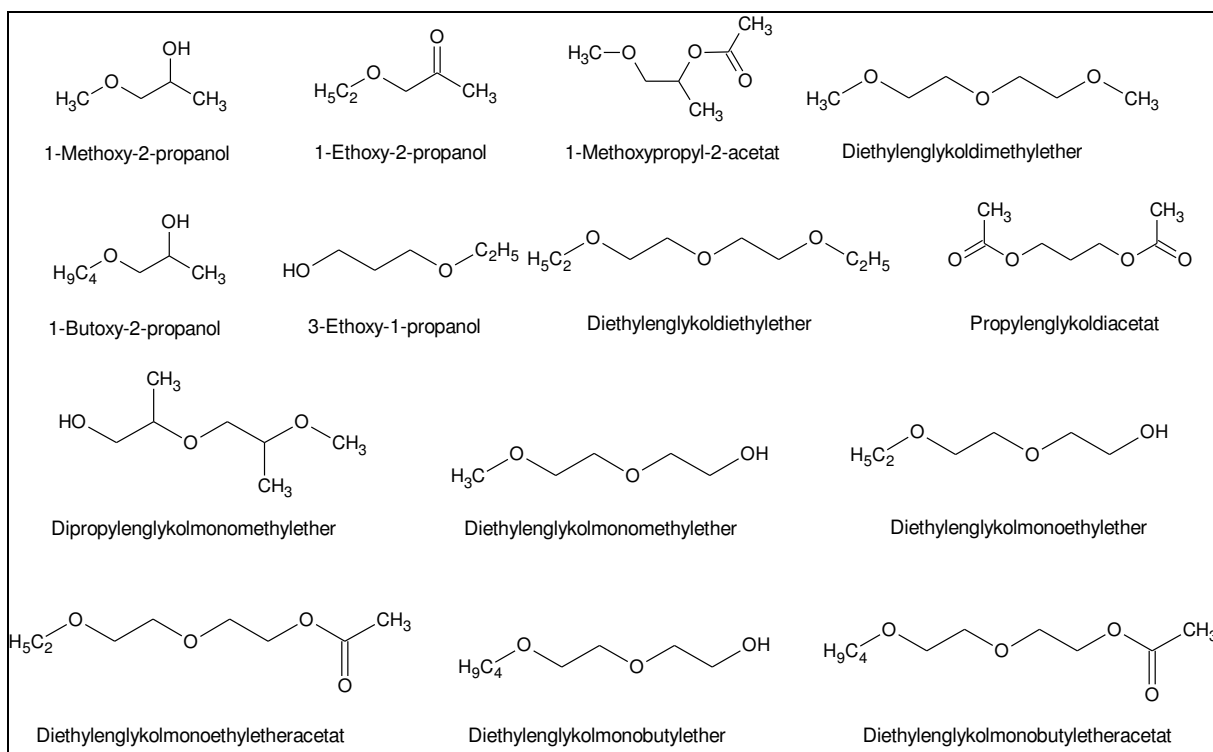


Abb. 3. Die Gruppe der in dieser Studie mit einem Biomonitoring erfassten Glykolether (Screening-Verfahren)

Bei GE handelt es sich um farblose Flüssigkeiten, die sowohl mit anderen Lösungsmitteln als auch Wasser gut mischbar sind. Im Bereich der Automobilindustrie werden GE im Bereich der Lackierung als auch in Bremsflüssigkeiten eingesetzt. Während in einzelnen industriellen Branchen eine Exposition gegenüber einer oder mehrerer Substanzen aus der Gruppe der GE als gesichert gilt, ist die Datenlage in der Allgemeinbevölkerung ohne beruflichen Umgang uneinheitlich. Weder seitens des UBA noch durch die amerikanischen Behörden des Centers for Disease Control & Prevention (CDC) wurden Referenzwerte für die Allgemeinbevölkerung publiziert. Einzelne Vertreter aus der Gruppe der GE (*u.a.* Methoxy- und Ethoxyethanol) gelten nachgewiesenermaßen als reproduktionstoxisch im Tierversuch und werden deshalb nur noch in Ausnahmefällen eingesetzt, *u.a.* in Fällen bei denen kein adäquates Ersatzprodukt zur Verfügung steht.

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse am Arbeitsplatz existieren aufgrund fehlender Untersuchungen sowohl für die unveränderten Propylen als auch Diethylenglykolether derzeit weder Arbeitsplatzgrenzwerte in biologischem Material (BGW) noch Beurteilungswerte, z.B. BLW oder Biologische Arbeitsplatztoleranzwerte (BAT). Weiterhin liegen weder deutsche noch US-amerikanische Untersuchungen zur Belastung der Allgemeinbevölkerung durch GE vor. In Abhängigkeit ihrer Toxizität sind GE in unterschiedlichen Schwangerschaftskategorien (B-C) der DFG eingruppiert (DFG, 2008a).

4.2.2 Prinzip des analytischen Verfahrens

Das hier beschriebene analytische Verfahren auf Basis der Gaschromatographie in Kombination mit der Flammenionisationsdetektion (GC-FID) ermöglicht die Bestimmung von insgesamt 14 GE im Urin von beruflich exponierten Personen. Als Grundlage diene eine bestehende Methodik der im Arbeitskreis AiBM erarbeiteten und publizierten Methode der DFG (DFG, 2008b). Das GC-FID-Verfahren stellt eine Screening-Methode dar und erfasst die unveränderten GE im Urin.

Zum Nachweis der GE im Urin wird die zu untersuchende Probe zunächst mit Natriumchlorid gesättigt. Die Trennung der Analyten von der Matrix wird mittels einer flüssig/flüssig-Extraktion unter Verwendung einer Mischung von Dichlormethan und Aceton an Diatomenerde durchgeführt. Nach Zugabe von *n*-Dekan (Keeper) und des internen Standards werden die Extrakte unter einem Stickstoffstrom aufkonzentriert. Die abschließende sensitive Detektion der GE erfolgt mittels GC-FID. Zur Kalibrierung werden mit GE dotierte Standardlösungen in Urin eingesetzt, die wie die Proben aufgearbeitet und analysiert werden.

4.2.3 Interne & Externe Qualitätssicherung

Standardisierung und Qualitätskontrollmaterial

Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Richtlinien der BÄK (BÄK, 2003) und gemäß der im Arbeitskreis AiBM der DFG erarbeiteten und publizierten Anforderungen an arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen durchgeführt (Angerer und Lehnert, 1997). Da zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial weder durch die DGAUM noch durch das FIOH kommerziell erhältlich ist, konnte an keinem externen Ringversuch zum Nachweis von GE in Urinproben teilgenommen werden. Aus diesem Grund wurde eine interne Qualitätskontrollprobe mit einer definierten Menge an den jeweiligen GE (4 mg/L) im Labor

hergestellt und zusammen mit einer Leerprobe (hochreines Wasser) in jede Analysensequenz eingeschlossen.

Kalibrierung

Zur quantitativen Auswertung wurden Kalibriergeraden unter Benutzung der Isotopenverdünnungsanalyse erstellt. Dazu wurden Lösungen von Kalibrierstandards im Bereich 1-100 mg/L hergestellt, indem Urinproben mit entsprechend definierten Mengen an GE versetzt wurden. Die Probenvorbereitung und Analyse dieser Standardlösungen wurde gemäß Abschnitt 4.2.2 durchgeführt. Die erhaltenen Kalibriergeraden für die einzelnen GE sind linear im Bereich zwischen 1 und 100 mg/L.

Präzision des Verfahrens

Die Präzision in der Serie wurde bei einer Konzentration von 4 mg/L an den jeweiligen GE in jeweils 10 Bestimmungen untersucht (**Tab. 3**).

Glykolether	Rel. Standardabweichung [%]	Streubereich [%]
1-Methoxy-2-propanol	8,83	19,96
1-Ethoxy-2-propanol	4,37	9,89
1-Methoxypropyl-2-acetat	1,99	4,51
Diethylenglykoldimethylether	2,08	4,71
1-Butoxy-2-propanol	1,72	3,88
3-Ethoxy-1-propanol	2,10	4,74
Diethylenglykoldiethylether	1,08	2,45
Propylenglykoldiacetat	3,05	6,89
Dipropylenglykolmonomethylether	5,99	13,54
Diethylenglykolmonomethylether	2,03	4,60
Diethylenglykolmonoethylether	2,34	5,29
Diethylenglykolmonoethyletheracetat	1,57	3,56
Diethylenglykolmonobutylether	3,24	7,33
Diethylenglykolmonobutyletheracetat	5,99	13,54

Tab. 3. Präzision in der Serie für Glykolether im Urin (n=10)

Die Präzision von Tag zu Tag wurde ebenfalls bei einer Konzentrationen von 4 mg/L an GE und an insgesamt 22 unterschiedlichen Tagen untersucht (**Tab. 4**).

Glykolether	Rel. Standardabweichung [%]	Streubereich [%]
1-Methoxy-2-propanol	8,03	16,69
1-Ethoxy-2-propanol	6,00	12,48
1-Methoxypropyl-2-acetat	4,42	9,18
Diethylenglykoldimethylether	3,13	6,50
1-Butoxy-2-propanol	2,95	6,13
3-Ethoxy-1-propanol	4,15	8,64
Diethylenglykoldiethylether	5,70	11,86
Propylenglykoldiacetat	8,49	17,67
Dipropylenglykolmonomethylether	7,41	15,41
Diethylenglykolmonomethylether	5,14	10,96
Diethylenglykolmonoethylether	2,93	6,09
Diethylenglykolmonoethyletheracetat	2,47	5,15
Diethylenglykolmonobutylether	4,11	8,55
Diethylenglykolmonobutyletheracetat	5,21	10,83

Tab. 4. Präzision von Tag zu Tag für GE im Urin ($n=22$)

Genauigkeit des Verfahrens

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde über die Bestimmung der Wiederfindung bei 4 mg/L und insgesamt 12 Wiederholungen bestimmt (**Tab. 5**).

Glykolether	Wiederfindung [%]	Nachweisgrenze [mg/L]
1-Methoxy-2-propanol	99,56	1,00
1-Ethoxy-2-propanol	99,94	0,25
1-Methoxypropyl-2-acetat	100,83	0,25
Diethylenglykoldimethylether	99,74	0,25
1-Butoxy-2-propanol	100,76	0,25
3-Ethoxy-1-propanol	100,41	0,25
Diethylenglykoldiethylether	96,46	0,25
Propylenglykoldiacetat	100,16	0,25
Dipropylenglykolmonomethylether	96,68	0,25
Diethylenglykolmonomethylether	100,58	0,25
Diethylenglykolmonoethylether	100,85	0,25
Diethylenglykolmonoethyletheracetat	100,99	0,25
Diethylenglykolmonobutylether	100,10	0,25
Diethylenglykolmonobutyletheracetat	99,87	0,25

Tab. 5. Wiederfindungsraten und Nachweisgrenzen für GE im Urin

Nachweisgrenzen

Die NWG für GE im Urin wurde auf Basis eines S/N von 3:1 bestimmt (**Tab. 5**). Die Methode ist zum Nachweis einer Exposition gegenüber GE am Arbeitsplatz geeignet (DFG, 2008a).

Zusammenfassung Qualitätskontrolle – Glykolether

Mit dem dargestellten analytischen Verfahren auf Basis der Gaschromatographie und Flammenionisationsdetektion, Nachweisgrenzen von $\leq 1,0$ mg/L, Präzisionen von $<10\%$ in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von $>95\%$ lassen sich alle Glykolether sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

Beispielchromatogramm

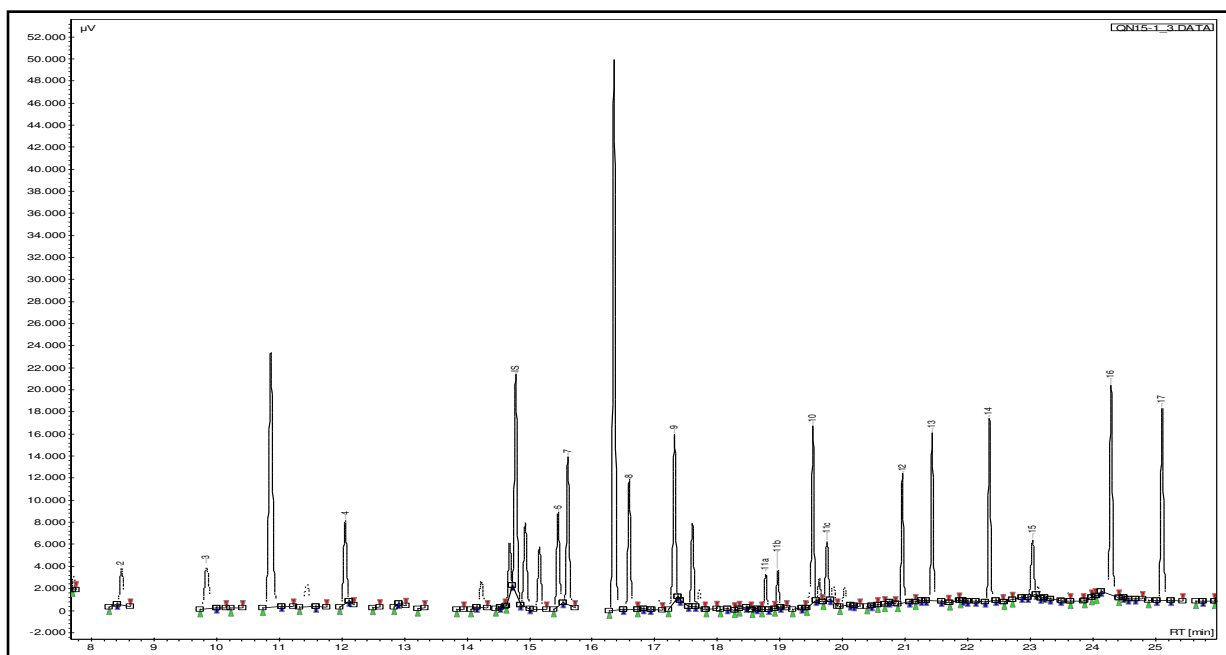
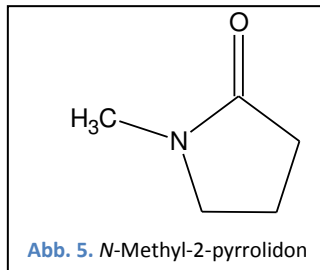


Abb. 4. Chromatogram einer Standard-Urinprobe mit Glykolethern: 1-Methoxy-2-propanol (2), 1-Ethoxy-2-propanol (3), 1-Methoxypropyl-2-acetat (4), Diethylenglykoldimethylether (6), 1-Butoxy-2-propanol (7), 3-Ethoxy-1-propanol (8), Diethylenglycoldiethylether (9), Propyleneglykoldiacetat (10), Dipropylenglykolmonomethylether (11), Diethylenglykolmonomethylether (12), Diethyleneglykolmonoethylether (13), Diethyleneglykolmonoethyl-etheracetat (14), Diethyleneglykoldibutylether (15), Diethyleneglykolmonobutylether (16), Diethylenglykolmono-butyletheracetat (17)

4.3 N-Methyl-2-pyrrolidon

4.3.1 Substanzspezifische Hintergrundinformation



N-Methyl-2-pyrrolidon (NMP, CAS 872-50-4, m/z 99.1, [Abb. 5](#)) ist in nahezu jedem Verhältnis sowohl mit Wasser als auch mit anderen organischen Lösungsmitteln mischbar und wird aufgrund dieser Eigenschaften in einer Vielzahl unterschiedlicher Industriezweige eingesetzt. Es besitzt darüber hinaus eine hohe thermische Stabilität (hohen Siedepunkt). NMP ist im Vergleich zu

anderen organischen Lösungsmitteln gut über die Haut resorbierbar. Durch das Tragen geeigneter Schutzausrüstungen (*u.a.* Handschuhe, Spritzschutz) kann eine Exposition jedoch nahezu vollständig verhindert werden. NMP wird hauptsächlich bei der Produktion von Kunststoffen wie Polyurethanen, Polyvinylchlorid, Epoxyharzen und Acrylaten eingesetzt. Darüber hinaus ist es in wasserhaltigen Polyurethantinkturen enthalten, mit denen PKW/LKW-Gummidichtungen während der Extrusion und Aushärtung behandelt werden. Es wird ebenfalls zur Entfernung von Lacken angewandt. Hier besteht auch für die Allgemeinbevölkerung ein geringes Risiko gegenüber NMP exponiert zu sein, *u.a.* bei Abbeiz-Tätigkeiten im Privatbereich. Daten zur Belastung der Allgemeinbevölkerung liegen jedoch nicht vor. NMP verursacht im Tierversuch bei hohen Expositionen teratogene und entwicklungstoxische Schädigungen, die vermutlich durch NMP selbst sowie einen seiner Metabolite, dem 5-Hydroxy-N-methyl-pyrrolidon (5-HNMP), verursacht werden (Flick *et al.*, 2009). Im Gegensatz dazu ergaben die Mehrzahl der *in-vitro* Untersuchungen zur Mutagenität negative Testergebnisse und auch im Tierversuch konnte kein eindeutiger Hinweis auf eine kanzerogene Wirkung von NMP gefunden werden. Lediglich bei den höchsten angewandten Konzentrationen (18,000 ppm) wurde eine gegenüber nicht-exponierten Versuchstieren erhöhte Inzidenz an Lebertumoren beobachtet (Malley *et al.*, 2001).

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse am Arbeitsplatz können folgende Beurteilungswerte *bzw.* Kategorisierungen berücksichtigt werden:

- Der BAT-Wert beträgt für 5-HNMP 150 mg/L (DFG, 2008a).
- NMP ist in Schwangerschaftskategorie C der DFG eingruppiert, *d.h.* eine fruchtschädigende Wirkung braucht bei Einhaltung des BAT-Wertes nicht befürchtet zu werden (DFG, 2008a).

4.3.2 Prinzip des analytischen Verfahrens

Das hier beschriebene analytische Verfahren auf Basis der Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS) ermöglicht die Bestimmung von 5-HNMP und 2-Hydroxy-*N*-methylsuccinimid (2-HMSI) im Urin von beruflich exponierten Personen. Als Grundlage diente eine bestehende Methodik der im Arbeitskreis AiBM erarbeiteten und publizierten Methode der DFG (DFG, 2008b).

Nach Zugabe der internen Standards (5-HNMP-d₄ und 2-HMSI-d₃) werden die Analyten im Rahmen der Probenvorbereitung mittels Festphasenextraktion von der Matrix getrennt. Die angereicherten Analyten werden mittels Ethylacetat und Methanol von der Festphasensäule gespült und das Eluat zur Trockene unter einem Stickstoffstrom eingeeengt. Nach Zugabe des Derivatisierungsmittels (Silylierung), erwärmen der Proben und versetzen mit organischem Lösungsmittel (Ethylacetat) erfolgt die abschließende sensitive und spezifische Detektion von 5-HNMP und 2-HMSI mittels GC-MS. Zur Kalibrierung werden mit 5-HNMP und 2-HMSI sowie internen Standards dotierte Standardlösungen in gepoolten Urinproben eingesetzt, die wie die Proben aufgearbeitet und analysiert werden.

4.3.3 Interne & Externe Qualitätssicherung

Standardisierung und Qualitätskontrollmaterial

Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Richtlinien der BÄK (BÄK, 2003) und gemäß der im Arbeitskreis AiBM der DFG erarbeiteten und publizierten Anforderungen an arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen durchgeführt (Angerer und Lehnert, 1997). Für die Analyse der Metaboliten 5-HNMP und 2-HMSI liegt zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial der DGAUM vor. Vor der Durchführung der Analysen wurde die erfolgreiche Teilnahme am Ringversuch (G-EQAS) zu NMP bescheinigt ([Anhang 1](#)). Zusätzlich zur externen Qualitätssicherung wurde aus Gründen einer internen Qualitätssicherung auch eine Qualitätskontrollprobe mit einer definierten Menge an 5-HNMP sowie 2-HMSI im Labor hergestellt und zusammen mit einer Leerprobe (hochreines Wasser) in jede Analysensequenz eingeschlossen.

Kalibrierung

Zur quantitativen Auswertung wurden Kalibriergeraden unter Benutzung der Isotopenverdünnungsanalyse erstellt. Dazu wurden Lösungen von Kalibrierstandards im Bereich 1-250 mg/L hergestellt, indem Urinproben mit entsprechend definierten Mengen an Metaboliten des NMP versetzt wurden. Die Probenvorbereitung und Analyse dieser

Standardlösungen wurde gemäß Abschnitt 4.3.2 durchgeführt. Die erhaltenen Kalibriergeraden für die beiden Metabolite des NMP sind linear im Bereich zwischen 1 und 250 mg/L.

Präzision des Verfahrens

Die Präzision in der Serie wurde bei zwei Konzentrationen von 7,50 und 75,0 mg/L in jeweils 10 Bestimmungen untersucht (Tab. 6).

	Konzentration [mg/L]	Rel. Standardabweichung [%]	Streubereich [%]
5-HNMP	7,50	1,2	2,7
	75,0	0,9	2,0
2-HMSI	7,50	1,4	3,1
	75,0	1,7	3,8

Tab. 6. Präzision in der Serie für Metabolite des *N*-Methyl-2-pyrrolidon im Urin ($n=10$)

Die Präzision von Tag zu Tag wurde ebenfalls bei zwei Konzentrationen von 7,50 und 75,0 mg/L in jeweils 10 Bestimmungen untersucht (Tab. 7).

	Konzentration [mg/L]	Rel. Standardabweichung [%]	Streubereich [%]
5-HNMP	7,50	1,3	2,9
	75,0	2,3	5,1
2-HMSI	7,50	3,7	8,2
	75,0	4,1	9,1

Tab. 7. Präzision von Tag zu Tag für Metabolite des *N*-Methyl-2-pyrrolidon im Urin ($n=10$)

Genauigkeit des Verfahrens

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde neben der erfolgreichen Teilnahme an externen Ringversuchen (G-EQAS) zusätzlich auch über die Bestimmung der Wiederfindung bei 150,0 mg/L für 5-HNMP sowie bei 75,0 mg/L für 2-HMSI bestimmt (Tab. 8).

Nachweisgrenzen

Die NWG für 5-HNMP und 2-HMSI wurden auf Basis eines S/N von 3:1 bestimmt (Tab. 8). Die Methode ist zum Nachweis einer Exposition gegenüber NMP am Arbeitsplatz geeignet (DFG, 2008a).

	Konzentration [mg/L]	Wiederfindung [%]	Nachweisgrenze [mg/L]
5-HNMP	150,0	97,0	1,0
2-HMSI	75,0	101,0	1,0

Tab. 8. Wiederfindungsraten und Nachweisgrenzen für Metabolite des *N*-Methyl-2-pyrrolidon im Urin ($n=10$)

Zusammenfassung Qualitätskontrolle – *N*-Methyl-2-pyrrolidon

Mit dem dargestellten analytischen Verfahren auf Basis der Gaschromatographie und Massenspektrometrie, Nachweisgrenzen von 1,0 mg/L, Präzisionen von <5% in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von >95% lassen sich zwei Metabolite des *N*-Methyl-2-pyrrolidon sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

Beispielchromatogramm

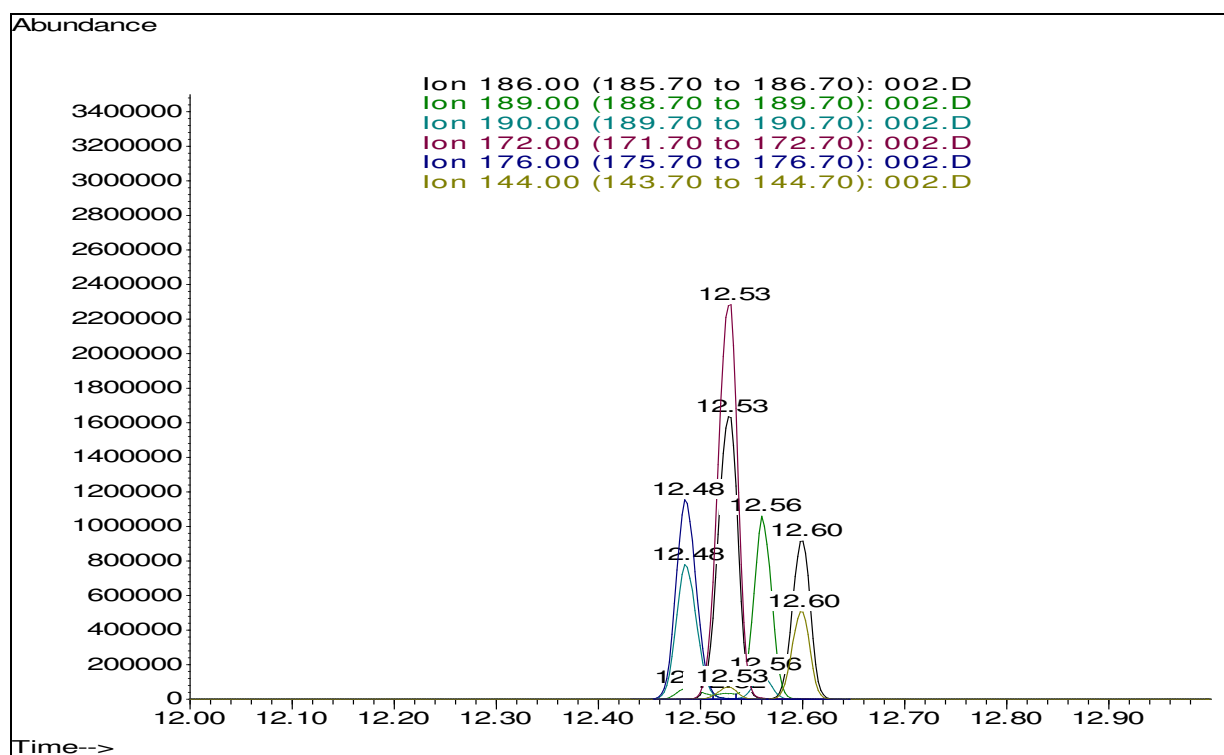


Abb. 6. Gaschromatogramm mit Ionenspuren der NMP-Metabolite 5-HNMP ($t_R = 12.53$) und 2-HMSI ($t_R = 12.60$) sowie der internen Standards 5-HNMP- d_4 (12,48 min) und 2-HMSI- d_3 (12,56 min)

4.4 Phthalate

4.4.1 Substanzspezifische Hintergrundinformation

Phthalate (Ester der Phthalsäure, [Abb. 7](#)) werden in der Industrie vor allem als Weichmacher für PVC-Kunststoffe verwendet. Im Automobilbau werden PVC-haltige Kunststoffe überwiegend im Unterbodenschutz, für Innenraumverkleidungen und als Dichtungen eingesetzt. Phthalate finden sich jedoch auch in der Bauindustrie (Kabel, Fußbodenbeläge, Folien, *etc.*), in der Elektro- und Kabelindustrie (Ummantelung) und in Sport und Freizeitartikeln. Zusätzlich können sie als Bestandteile von Körperpflegeprodukten und Kosmetika sowie in frei verkäuflichen pharmazeutischen Produkten eingesetzt werden. Ein wichtiger Vertreter in Kosmetika und pharmazeutischen Produkten ist Di-*n*-butylphthalat (DnBP, CAS 84-74-2, *m/z* 278,3) während Benzylbutylphthalat (BBP, CAS 85-68-7, *m/z* 312,4) und Diethylhexylphthalat (DEHP, CAS 117-81-7, *m/z* 390,6) vor allem im industriellen Bereich und PVC-haltigen Produkten eingesetzt werden.

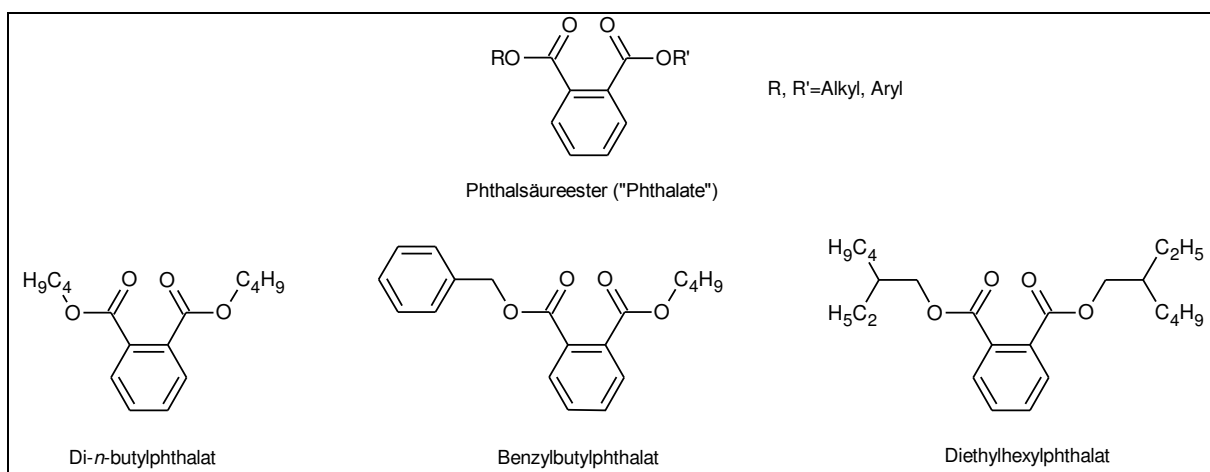


Abb. 7. Ester der Phthalsäure ('Phthalate') und drei Ihrer wichtigsten Vertreter, für die in dieser Studie die Exposition der Arbeitnehmer in der Automobilindustrie untersucht wurde

Aufgrund Ihrer weiten industriellen Anwendung und Einsatzes sind vor allem Arbeitnehmer in der PVC-produzierenden Industrie höheren Expositionen gegenüber Phthalaten ausgesetzt. Da Phthalate als Weichmacher im Kunststoff jedoch nicht gebunden sind, können auch Arbeitnehmer in der weiterverarbeitenden Industrie sowie der Endverbraucher exponiert sein. Aufgrund ihrer weiten Verbreitung ist auch die Allgemeinbevölkerung einer ubiquitär vorhandenen Hintergrundexposition ausgesetzt. Alle drei im Rahmen dieser Studien untersuchten Phthalate (DnBP, BBP und DEHP) sind als fortpflanzungsgefährdend in der Europäischen Union eingestuft und wurden intensiv hinsichtlich Ihres reproduktionstoxischen

Risikos untersucht (EC, 2004; 2007; 2008). Die entwicklungstoxischen Schädigungen werden dabei *u.a.* auch von den Sekundärmetaboliten, *d.h.* den oxidierten Stoffwechselprodukten der Monoester hervorgerufen. Es existieren derzeit weder Arbeitsplatzgrenzwerte (BGW) noch Beurteilungswerte (BAT, BLW) für eine Arbeitsplatzexposition seitens der DFG.

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse am Arbeitsplatz können folgende Beurteilungswerte *bzw.* Kategorisierungen berücksichtigt werden:

- a) DEHP ist in Schwangerschaftskategorie C der DFG eingruppiert, *d.h.* eine fruchtschädigende Wirkung braucht bei Einhaltung des MAK-Wertes (Maximale Arbeitsplatzkonzentration in der Luft) nicht befürchtet zu werden (DFG, 2008a). Für DBP und BBP liegen keine Einstufungen vor
- b) Die Belastungen der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung seitens des CDC ($n=2.782$; Alter ≥ 6 Jahre) sind für
 - Mono-(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)phthalat (5-OH-MEHP, *Metabolit des DEHP*)
20,1 µg/L (Median); 192,0 (95. Perzentil)
 - Monobenzylphthalat (MBzP, *Metabolit des BBP*)
15,7 µg/L (Median); 122,0 (95. Perzentil)
 - Mono-*n*-butylphthalat (MnBP, *Metabolit des DnBP*)
20,4 µg/L (Median); 108,0 (95. Perzentil)

4.4.2 Prinzip des analytischen Verfahrens

Das hier beschriebene analytische Verfahren auf Basis der zweidimensionalen HPLC-MS/MS ermöglicht die Bestimmung von Metaboliten unterschiedlicher Phthalate, *u.a.* die als fortpflanzungsgefährdend eingestuften DEHP, BBP und DnBP im Urin von beruflich als auch umweltbedingt exponierten Personen. Als Grundlage diene eine bestehende Methodik der im Arbeitskreis AiBM erarbeiteten und publizierten Methode der DFG (DFG, 2008b). Das 2D-HPLC-MS/MS-Verfahren stellt eine automatisierte on-line Methode dar und erfasst die Metaboliten der genannten Phthalate als die Summe aus freiem und konjugiert vorliegendem Metaboliten im Urin.

Nach Zugabe der internen Standards (jeweils d_4 -markierte Metabolite) werden die gepufferten Urinproben (pH 6,0) enzymatisch hydrolysiert. Die weitere Probenverarbeitung sowie die Trennung der Analyten von der Matrix erfolgen on-line. Zunächst erfolgt eine Anreicherung der Phthalatmetaboliten an einer Polymersäule, während höhermolekulare Bestandteile des Urins (wie Proteine) eluiert und verworfen werden. Im zweiten Schritt

werden die Metabolite durch eine ventilgesteuerte Umkehr des Lösemittelflusses auf eine zweite analytische Säule überführt und chromatographisch von weiteren Matrixbestandteilen getrennt. Die abschließende sensitive und spezifische Detektion erfolgt mittels der Tandem-Massenspektrometrie. Zur Kalibrierung werden die mit den jeweiligen Metaboliten und internem Standards dotierten wässrigen Standardlösungen wie die Proben aufgearbeitet und analysiert.

4.4.3 Interne & Externe Qualitätssicherung

Standardisierung und Qualitätskontrollmaterial

Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Richtlinien der BÄK (BÄK, 2003) und gemäß der im Arbeitskreis AiBM der DFG erarbeiteten und publizierten Anforderungen an arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen durchgeführt (Angerer und Lehnert, 1997). Für die Analyse der Metaboliten 5-OH-MEHP und MnBP liegt zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial der DGAUM im Rahmen des G-EQAS vor. Vor der Durchführung der Analysen wurde die erfolgreiche Teilnahme am Ringversuch zu 5-OH-MEHP und MnBP bescheinigt ([Anhang 2](#)). Für MBzP liegt kein zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial vor. Zusätzlich zur externen Qualitätssicherung wurde aus Gründen einer zusätzlichen internen Qualitätssicherung auch eine Qualitätskontrollprobe mit einer definierten Menge an 5-OH-MEHP, MnBP und MBzP im Labor hergestellt und zusammen mit einer Leerprobe (hochreines Wasser) in jede Analysensequenz eingeschlossen.

Kalibrierung

Zur quantitativen Auswertung wurden Kalibriergeraden unter Benutzung der Isotopenverdünnungsanalyse erstellt. Dazu wurden Lösungen von Kalibrierstandards im Bereich 0,1-500 µg/L hergestellt, indem Urinproben mit entsprechend definierten Mengen an Metaboliten der einzelnen Phthalate versetzt wurden. Die Probenvorbereitung und Analyse dieser Standardlösungen wurde gemäß Abschnitt 4.4.2 durchgeführt. Die erhaltene Kalibriergerade ist linear im Bereich zwischen 0,1 und 500 µg/L.

Präzision des Verfahrens

Die Präzision in der Serie wurde bei einer Konzentration von 15 µg/L in jeweils 8 Bestimmungen untersucht ([Tab. 9](#)).

	Rel. Standardabweichung [%]	Streubereich [%]
5-OH-MEHP	4,9	11,4
MnBP	5,1	12,8
MBzP	3,9	9,7

Tab. 9. Präzision in der Serie für Metabolite der Phthalate DEHP, DBP und BBP im Urin ($n=8$)

Die Präzision von Tag zu Tag wurde ebenfalls bei einer Konzentration von 35 µg/L in jeweils 8 Bestimmungen untersucht (**Tab. 10**).

	Rel. Standardabweichung [%]	Streubereich [%]
5-OH-MEHP	8,1	17,4
MnBP	5,9	11,2
MBzP	9,6	20,2

Tab. 10. Präzision von Tag zu Tag für Metabolite der Phthalate DEHP, DBP und BBP im Urin ($n=8$)

Genauigkeit des Verfahrens

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde neben der erfolgreichen Teilnahme an externen Ringversuchen (G-EQAS) zusätzlich auch über die Bestimmung der Wiederfindung bei 50 µg/L in insgesamt 8 Proben bestimmt (**Tab. 11**).

Nachweisgrenzen

Die NWG der Methode wurden auf Basis eines S/N von 3:1 bestimmt (**Tab. 11**). Die Methode ist zum Nachweis einer Exposition gegenüber DEHP, BBP und DnBP sowohl am Arbeitsplatz als auch über die Umwelt geeignet (DFG, 2008a).

	Wiederfindung [%]	Nachweisgrenze [%]
5-OH-MEHP	90,9	0,05
MnBP	97,2	0,50
MBzP	95,7	0,10

Tab. 11. Wiederfindungsraten und Nachweisgrenzen für Metabolite der Phthalate DEHP, DBP und BBP im Urin ($n=8$)

Zusammenfassung Qualitätskontrolle – Phthalate

Mit dem dargestellten analytischen Verfahren auf Basis der zweidimensionalen Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und der Tandem-Massenspektrometrie, Nachweisgrenzen von $\leq 0,50$ $\mu\text{g/L}$, Präzisionen von $<10\%$ in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von $>90\%$ lassen sich die Metabolite des Di-(2-ethylhexyl)phthalats, Di-*n*-butylphthalats und Benzylbutylphthalats sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide sowohl im arbeitsmedizinisch als auch umweltmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

Beispielchromatogramm

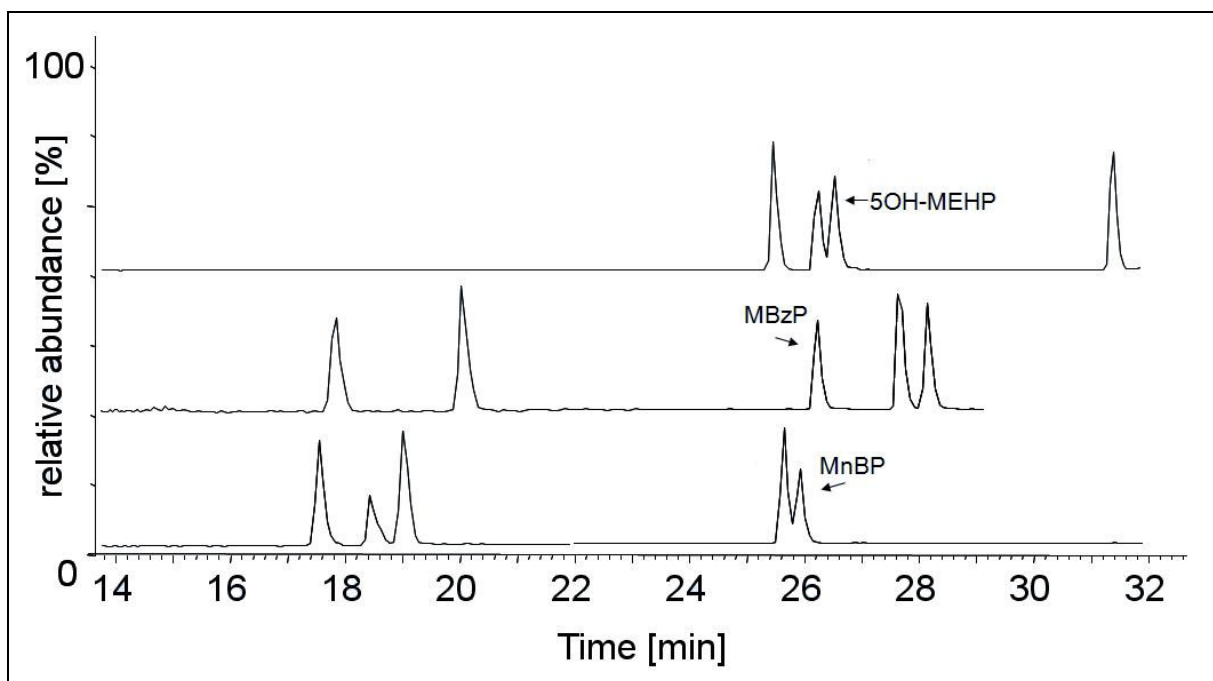


Abb. 8. Chromatogram einer aufgearbeiteten Harnprobe zum Nachweis von Metaboliten des Di-*n*-butylphthalats (MnBP), Di-(2-ethylhexyl)phthalats (5-OH-MEHP) und Benzylbutylphthalats (MBzP).

5. Anorganische Parameter

5.1 Blei

5.1.1 Substanzspezifische Hintergrundinformation

Blei (Pb, CAS 7439-92-1) kommt am Arbeitsplatz und in der Umwelt in metallischer als auch organischer (z.B. Tetraethylblei) sowie anorganischer Form (z.B. Bleisulfid, Bleisulfat, *etc.*) vor. Pb ist ein wichtiges industriell genutztes Metall zur Herstellung von Batterien, Lötmetallen Metall-Legierungen, bei der Produktion von Blei- und Keramikglas sowie Schutzvorrichtungen (*u.a.* bei elektrischen Komponenten und Automobilkühlsystemen). In der Vergangenheit war es Bestandteil von Rohrleitungen und KFZ-Kraftstoffen. Neben einer beruflichen Exposition ist eine Bleibelastung auch in der Allgemeinbevölkerung nachweisbar, wobei durch den Verzicht an Pb in Kraftstoffen und Nahrungsmitteldosen (Lötmaterial) sowie den Ersatz bleihaltiger Rohrleitungen mit Alternativmaterialien die Exposition in den letzten Jahren und Jahrzehnten gesunken ist. Einzelne dieser Expositionsquellen existieren jedoch noch immer (*u.a.* Installationstechnik, bleihaltiges Glas- und Keramikmaterial, *etc.*) so dass bei höheren Pb-Werten neben einer beruflichen Belastung vor allem auch Expositionsquellen im persönlichen Umfeld berücksichtigt werden müssen. Pb ist systemisch toxisch, besitzt unterschiedliche Zielorgane beim erwachsenen Menschen (*u.a.* Blut, Niere, Gehirn) und gilt als toxisch für die neuronale Entwicklung bei Expositionen *in utero*. Die potenziellen reproduktionstoxischen sowie kanzerogenen Effekte von Pb sind aufgrund einer derzeit unzureichenden Datenlage beim Menschen Gegenstand aktueller Forschung (Alexander *et al.*, 1996; Telisman *et al.*, 2000; Jemal *et al.*, 2002).

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse können folgende Kategorisierungen und Beurteilungswerte berücksichtigt werden, die für Blei und seine anorganischen Verbindungen (mit Ausnahme von Bleiarsenat und –chromat) gelten:

a) Pb ist durch die DFG

- in Kategorie 2 der krebserzeugenden Arbeitsstoffe eingestuft, *d.h.* Stoffe, die für den Menschen als krebserzeugend anzusehen sind, da auf Basis von Tierversuchen davon auszugehen ist, dass sie einen nennenswerten Beitrag zum Krebsrisiko des Menschen leisten (DFG, 2008a).
- in Kategorie 3A der Keimzellmutagene eingestuft, *d.h.* Stoffe, für die eine Schädigung des genetischen Materials der Keimzellen beim Menschen oder im Tierversuch nachgewiesen wurde

- b) Für Pb im Urin nach beruflicher Exposition existieren weder Arbeitsplatzgrenzwerte (BGW) noch Beurteilungswerte (BAT, BLW) seitens der DFG.
- c) Daten zur ubiquitären Hintergrundbelastung an Pb im Urin der Allgemeinbevölkerung liegen in Deutschland seitens des UBA nicht vor. Der Median der Belastung der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung im Urin liegt bei 0,60 µg/L (95. Perzentil: 2,60 µg/L, $n=2.690$, Alter: ≥ 6 Jahre) (CDC, 2005).

5.1.2 Prinzip des analytischen Verfahrens

Das hier beschriebene analytische Verfahren auf Basis der Plattformgraphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) ermöglicht die Bestimmung von Pb im Urin von beruflich exponierten Personen. Als Grundlage diente eine bestehende Methodik der im Arbeitskreis AiBM erarbeiteten und publizierten Methode der DFG (DFG, 1985), die entsprechend dem Stand der Gerätetechnik als auch hinsichtlich Pyrolyse- und Atomisierungstemperatur angepasst wurde. Die Messung der Absorption bei einer Wellenlänge von 283,3 nm erfasst den Gesamtbleigehalt im Urin.

5.1.3 Interne & Externe Qualitätssicherung

Standardisierung und Qualitätskontrollmaterial

Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Richtlinien der BÄK (BÄK, 2003) und gemäß der im Arbeitskreis AiBM der DFG erarbeiteten und publizierten Anforderungen an arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen durchgeführt (Angerer und Lehnert, 1997). Für die Analyse von Pb liegt zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial der DGAUM im Rahmen des G-EQAS vor. Vor der Durchführung der Analysen wurde die erfolgreiche Teilnahme am Ringversuch zu Pb im Blut bescheinigt ([Anhang 3](#)). Die Analytik für Urin läuft dabei analog der Methode für Blut. Zusätzlich zur externen Qualitätssicherung wurde aus Gründen der internen Qualitätssicherung auch eine zertifizierte Qualitätskontrollprobe der *Fa. Recipe* (München) mit einer definierten Menge an Pb analysiert und zusammen mit einer Leerprobe (hochreines Wasser) in jede Analysensequenz eingeschlossen.

Präzision des Verfahrens

Die Präzision in der Serie wurde bei einer Konzentration von 25,0 µg/L in jeweils 12 Bestimmungen untersucht. Die relative Standardabweichung beträgt 1,24% mit einem Streubereich von 2,73%. Die Präzision von Tag zu Tag wurde ebenfalls bei einer Konzentration von 25,0 µg/L in jeweils 14 Bestimmungen untersucht. Die relative Standardabweichung und der Streubereich lag bei jeweils 5,34% und 11,45%.

Genauigkeit des Verfahrens

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde neben der erfolgreichen Teilnahme an externen Ringversuchen (G-EQAS) zusätzlich auch über eine weitere externe Qualitätssicherung mittels einer zertifizierten Qualitätskontrollprobe der *Fa. Recipe* (München) durchgeführt. Die in diesen Proben analysierten Werte an Pb von $24,4 \pm 3,4 \mu\text{g/L}$ liegen im durch die Firma angegebenen Mittelwert ($25,0 \mu\text{g/L}$) sowie Streubereich ($20,0\text{-}30,0 \mu\text{g/L}$). Die Wiederfindung betrug 97,4 %.

Nachweisgrenzen

Die NWG der Methode wurden auf Basis eines S/N von 3:1 zu $2,0 \mu\text{g/L}$ bestimmt. Die Methode ist zum Nachweis einer Exposition gegenüber Pb am Arbeitsplatz und teilweise auch über die Umwelt geeignet.

Zusammenfassung Qualitätskontrolle – Blei

Mit dem dargestellten analytischen Verfahren auf Basis der Plattformgraphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie, einer Nachweisgrenze von $2,0 \mu\text{g/L}$, Präzisionen von $<6\%$ in der Serie *bzw.* von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von $>97\%$ lässt sich Blei sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

Beispiels-Spektrum

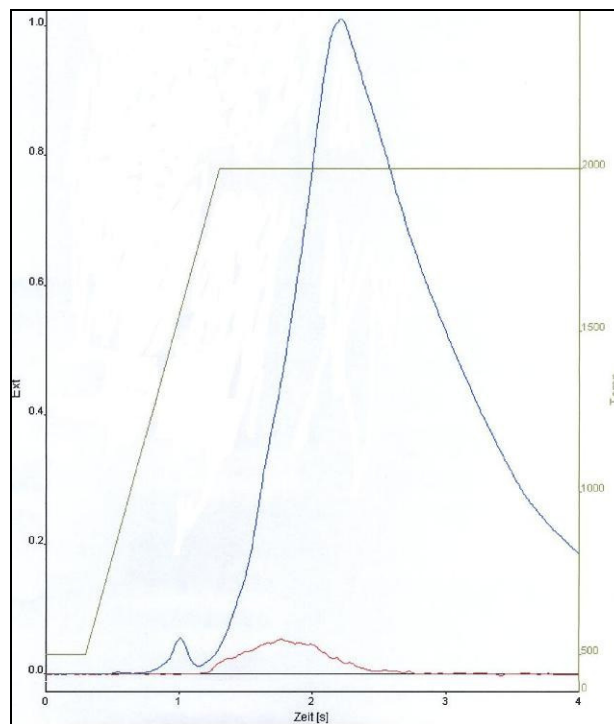


Abb. 9. AAS-Spektrum einer Urinprobe mit Blei (λ 283,3 nm) im Vergleich zum Hintergrund-Spektrum

5.2 Eisen

5.2.1 Substanzspezifische Hintergrundinformation

Eisen (Fe, CAS 7439-89-6) spielt als funktionelle Komponente sowohl beim Sauerstofftransport als auch in zahlreichen enzymatischen Systemen wie z.B. dem Cytochrom-P450-Enzymsystem eine wesentliche Rolle. Vor dem Hintergrund, dass sowohl zelluläre Eisenüberladung als auch Eisenmangel zu kritischen, klinisch relevanten Zuständen führen kann, gibt es eine Vielzahl regulierender Mechanismen im Körper um ein physiologisch optimales Gleichgewicht zwischen freien (Fe^{2+}) und gebundenen Fe (u.a. an Ferritin oder Transferin) zu erhalten. Eine berufliche Belastung, z.B. durch Schweißrauch, kann zu einer höheren inneren Belastung mit Fe führen. Störungen im Fe-Stoffwechsel, insbesondere die Eisenüberladung bzw. eine zu große Menge an freien Fe sind mit einer Vielzahl unterschiedlicher Erkrankungen assoziiert, u.a. in der Leber, im Herz und des endokrinen Systems (Kohgo *et al.*, 2008; Whittaker *et al.*, 1997), wobei über die zu Grunde liegenden Mechanismen (oxidativer Stress, Verdrängung anderer biologisch wichtiger Metalle, etc.) derzeit lediglich spekuliert werden kann.

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse gibt es derzeit – wie für nahezu alle endogen vorhandenen Metalle und Spurenelemente – kein Arbeitsplatzgrenzwerte oder sonstige Beurteilungswerte. Im klinischen Bereich wird Fe in der Regel in 24h-Urinproben gemessen. Die Referenzwerte gesunder Personen werden hier zu $<100 \mu\text{g/L}$ angegeben. Referenzwerte für die Allgemeinbevölkerung in der Art wie Referenzwerte für Schwermetalle (z.B. Pb) liegen für (Spuren)Elemente und damit Fe seitens des UBA nicht vor.

5.2.2 Prinzip des analytischen Verfahrens

Das hier beschriebene analytische Verfahren auf Basis der Wandgraphitrohr-AAS ermöglicht die Bestimmung von Fe im Urin von beruflich exponierten Personen als auch dem Nachweis des Eisens als ubiquitär vorhandenes Element im Körper des Menschen. Da durch den Arbeitskreis AiBM keine Methode für ein HBM vorgegeben ist, diente als Grundlage des hier dargestellten Verfahrens eine selbst entwickelte und nach den Prinzipien der AiBM standardisierte Methode, bei der auch gerätetypische Applikationen des AAS-Herstellers *Analytik Jena* Berücksichtigung fanden. Die Messung der Absorption bei einer Wellenlänge von 248,3 nm erfasst den Gesamteisengehalt im Urin.

5.2.3 Interne & Externe Qualitätssicherung

Standardisierung und Qualitätskontrollmaterial

Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Richtlinien der BÄK (BÄK, 2003) und gemäß der im Arbeitskreis AiBM der DFG erarbeiteten und publizierten Anforderungen an arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen durchgeführt (Angerer und Lehnert, 1997). Für die Analyse von Fe liegt kein zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial der DGAUM im Rahmen des G-EQAS vor. Aus diesem Grund wurde zur externen Qualitätssicherung eine zertifizierte Qualitätskontrollprobe der Fa. Recipe (München) mit einer definierten Menge an Fe analysiert und zusammen mit einer Leerprobe (hochreines Wasser) in jede Analysensequenz eingeschlossen.

Präzision des Verfahrens

Die Präzision in der Serie wurde bei einer Konzentration von 42,0 µg/L in jeweils 14 Bestimmungen untersucht. Die relative Standardabweichung beträgt 2,05% mit einem Streubereich von 4,39%. Die Präzision von Tag zu Tag wurde ebenfalls bei einer Konzentration von 25,0 µg/L in jeweils 20 Bestimmungen untersucht. Die relative Standardabweichung und der Streubereich lag bei jeweils 5,15% und 10,78%.

Genauigkeit des Verfahrens

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde mittels einer zertifizierten Qualitätskontrollprobe der Fa. Recipe (München) überprüft. Die in diesen Proben analysierten Werte an Fe von $42,6 \pm 6,6$ µg/L liegen im durch die Firma angegebenen Mittelwert (42,0 µg/L) sowie Streubereich (34,0-50,0 µg/L). Die Wiederfindung betrug 101,42 %.

Nachweisgrenzen

Die NWG der Methode wurden auf Basis eines S/N von 3:1 zu 5,0 µg/L bestimmt. Die Methode ist zum Nachweis einer Exposition gegenüber Fe am Arbeitsplatz geeignet. Gleichzeitig kann die endogen vorhandene Ausscheidung an Fe mit dem Verfahren diagnostisch valide bestimmt werden.

Zusammenfassung Qualitätskontrolle – Eisen

Mit dem dargestellten analytischen Verfahren auf Basis der Wandgraphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie, einer Nachweisgrenze von 5,0 µg/L, Präzisionen von <5% in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von ca. 100% lässt sich Blei sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch als auch umweltmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

Beispiels-Spektrum

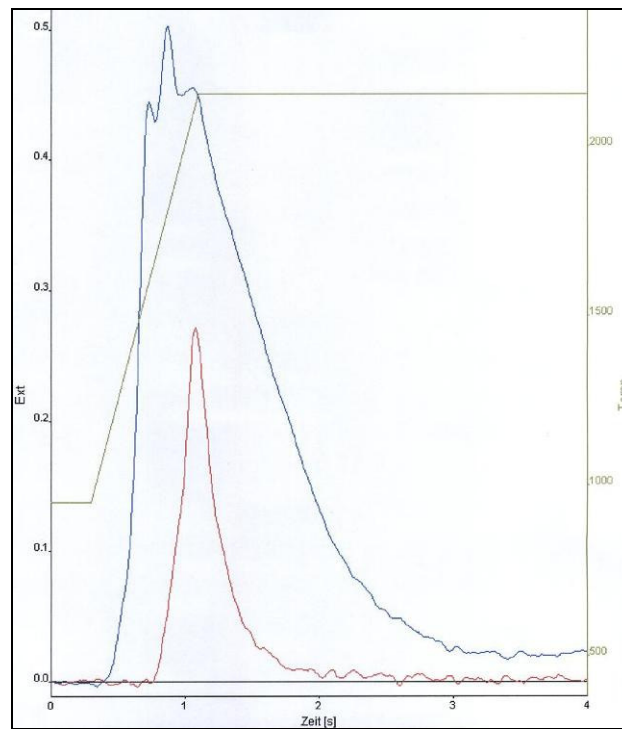


Abb. 10. AAS-Spektrum einer Urinprobe mit Eisen (λ 248,3 nm) im Vergleich zum Hintergrund-Spektrum

5.3 Kobalt

5.3.1 Substanzspezifische Hintergrundinformation

Metallisches Kobalt (Co, CAS 7440-48-4) bzw. Co in seinen unterschiedlichen Verbindungen wird für die deutsche Industrie entweder importiert oder durch Recycling-Prozesse aus Co-haltigem Altmetall zurück gewonnen. Das Anwendungsgebiet von Co und seinen Verbindungen umfasst überwiegend die Herstellung von Superlegierungen für Gas- und Flugzeugturbinen. Es wird jedoch auch als Trocknungsmittel für Farben und Lacke bzw. als Bestandteil von blauen Pigmentfarben selbst sowie bei der Herstellung von Batterieelektroden, Stahlgürtelreifen, Airbags, magnetischen Aufzeichnungsmedien und als Polymerisationskatalysator für Polyester eingesetzt (ATSDR, 2004). Die außerberufliche Exposition des Menschen wird maßgeblich durch die Nahrung beeinflusst. Co kann darüber hinaus aus Co-haltigen Prothesen freigesetzt werden (Lhotka *et al.*, 2003).

Bei der Interpretation der erhaltenen Humanbiomonitoring-Werte können folgende Kategorisierungen und Beurteilungswerte berücksichtigt werden:

- a) Die einatembaren Fraktionen von Co und Co-Verbindungen sind seitens der Deutschen Forschungsgemeinschaft in Kategorie 2 der krebserzeugenden Arbeitsstoffe eingestuft, *d.h.* Stoffe, die für den Menschen als krebserzeugend anzusehen sind, da auf Basis von Tierversuchen davon auszugehen ist, dass sie einen nennenswerten Beitrag zum Krebsrisiko des Menschen leisten (DFG, 2008).
- b) Bis zum Inkrafttreten der neuen Gefahrstoffverordnung 2005 galt für die Herstellung von Co-Pulver und Katalysatoren, Hartmetall- und Magnetherstellung (Pulveraufbereitung, Pressen und mechanische Bearbeitung nichtgesinterter Werkstücke) ein Expositionsäquivalent für kanzerogene Arbeitsstoffe (EKA-Wert) von 300 µg/L im Urin, für übrige Anwendungen von 60 µg/L (DFG, 2008a). Derzeit existieren keine Arbeitsplatzgrenzwerte (BGW) oder andere Beurteilungswerte seitens der DFG.
- c) Die US-amerikanische Gesellschaft „American Conference of Governmental Industrial Hygienists“ empfiehlt einen BEI-Wert („Biological Exposure Indice“) von 15 µg/L im Urin exponierter Beschäftigter (ACGIH, 2009)

Daten zur ubiquitären Hintergrundbelastung der Allgemeinbevölkerung liegen seitens des Umweltbundesamtes in Deutschland nicht vor. Der Median der Belastung der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung liegt bei 0,41 µg/L (95. Perzentil: 1,27 µg/L, *n*=2690) (CDC, 2005).

5.3.2 Prinzip des analytischen Verfahrens

Das hier beschriebene analytische Verfahren auf Basis der Plattformgraphitrohr-AAS ermöglicht die Bestimmung von Co im Urin von beruflich exponierten Personen. Als Grundlage diente eine bestehende Methodik der im Arbeitskreis AiBM erarbeiteten und publizierten Methode der DFG (DFG, 1985), die entsprechend dem Stand der Gerätetechnik als auch hinsichtlich Pyrolyse- und Atomisierungstemperatur angepasst wurde. Die Messung der Absorption bei einer Wellenlänge von 240,7 nm erfasst den Gesamtkobaltgehalt im Urin.

5.3.3 Interne & Externe Qualitätssicherung

Standardisierung und Qualitätskontrollmaterial

Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Richtlinien der BÄK (BÄK, 2003) und gemäß der im Arbeitskreis AiBM der DFG erarbeiteten und publizierten Anforderungen an arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen durchgeführt (Angerer und Lehnert, 1997). Für die Analyse von Co im Urin liegt zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial der DGAUM im Rahmen des G-EQAS vor. Vor der Durchführung der Analysen wurde die erfolgreiche Teilnahme am Ringversuch zu Co im Urin bescheinigt ([Anhang 4](#)). Zusätzlich zur externen Qualitätssicherung wurde aus Gründen der internen Qualitätssicherung auch eine zertifizierte Qualitätskontrollprobe der Fa. Recipe (München) mit einer definierten Menge an Co analysiert und zusammen mit einer Leerprobe (hochreines Wasser) in jede Analysensequenz eingeschlossen.

Präzision des Verfahrens

Die Präzision in der Serie wurde bei einer Konzentration von 6,0 µg/L in jeweils 11 Bestimmungen untersucht. Die relative Standardabweichung beträgt 3,68% mit einem Streubereich von 8,20%. Die Präzision von Tag zu Tag wurde ebenfalls bei einer Konzentration von 6,0 µg/L in jeweils 19 Bestimmungen untersucht. Die relative Standardabweichung und der Streubereich lag bei jeweils 5,96% und 12,52%.

Genauigkeit des Verfahrens

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde neben der erfolgreichen Teilnahme an externen Ringversuchen (G-EQAS) zusätzlich auch über eine weitere externe Qualitätssicherung mittels einer zertifizierten Qualitätskontrollprobe der Fa. Recipe (München) durchgeführt. Die in diesen Proben analysierten Werte an Co von $5,74 \pm 1,03$ µg/L liegen im durch die Firma angegebenen Mittelwert (5,8 µg/L) sowie Streubereich (4,3-7,3 µg/L). Die Widerfindung betrug 99,0 %.

Nachweisgrenzen

Die NWG der Methode wurden auf Basis eines S/N von 3:1 zu 2,0 µg/L bestimmt. Die Methode ist zum Nachweis einer Exposition gegenüber Co am Arbeitsplatz geeignet.

Zusammenfassung Qualitätskontrolle – Kobalt

Mit dem dargestellten analytischen Verfahren auf Basis der Plattformgraphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie, einer Nachweisgrenze von 2,0 µg/L, Präzisionen von <6% in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von 99% lässt sich Kobalt sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

Beispiels-Spektrum

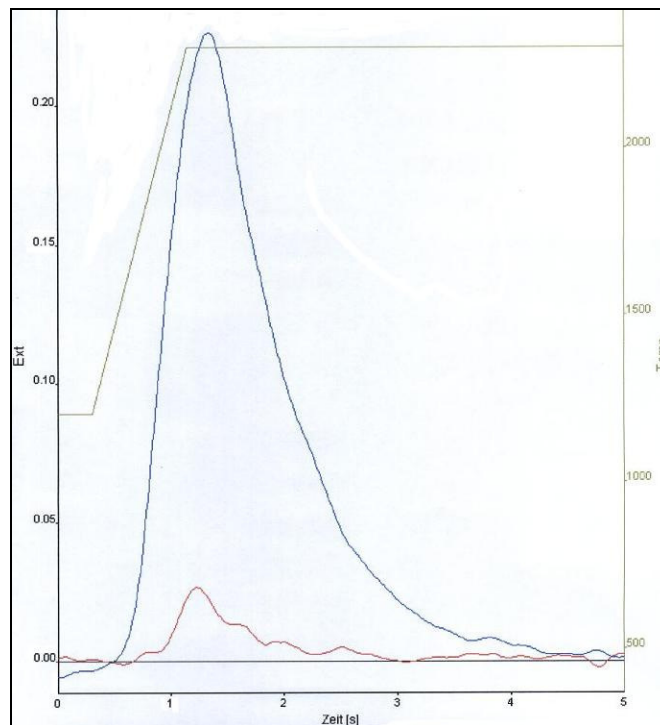


Abb. 11. AAS-Spektrum einer Urinprobe mit Kobalt (λ 240,7 nm) im Vergleich zum Hintergrund-Spektrum

5.4 Mangan

5.4.1 Substanzspezifische Hintergrundinformation

Mangan (Mn, CAS 7439-96-5) bzw. Mn in seinen unterschiedlichen Verbindungen sind eine der häufigsten Verbindungen in der Erdkruste. Industriell wird es aus den entsprechenden Erzen (vor allem Braunstein) und über die Elektrolyse von Mangan(II)sulfat hergestellt. Das Anwendungsgebiet von Mn liegt aufgrund seiner hohen Affinität zu Schwefel und Sauerstoff sowie seiner werkstoffhärtenden Eigenschaften überwiegend in der Metallindustrie. Es bildet damit einen preisgünstigen Ersatz für Nickel, kann jedoch aufgrund seiner Versprödung nur bis zu einem Gehalt zu 2,5% in Sonderwerkstoffen eingesetzt werden. Weitere Anwendungsgebiete umfassen die Herstellung von Widerständen, Bimetallen, Trockenbatterien und Farben bzw. Farbpigmente. Gebundenes Mn ist ein essentielles Spurenelement beim Menschen, Kofaktor unterschiedlicher Enzyme (u.a. der Mn-Superoxiddismutase, Antioxidans) und ist an der Insulinproduktion in der Bauchspeicheldrüse beteiligt. Das Meiste im menschlichen Körper vorhandene Mn ist in den Knochen gebunden. Chemisch verhält sich Mn^{2+} ähnlich dem Calcium(II)-Ion (Ca^{2+}) und kann dieses im Knochen ersetzen. Endpunkte von Mn verursachten Erkrankungen sind das Zentralnervensystem sowie aufgrund seines Einflusses auf die Ca-Homöostase und Insulinproduktion das neuroendokrine (Dopamin-abhängige) System (Wright und Baccarelli, 2007, Kim *et al.*, 2007). Für Mn im Urin nach beruflicher Exposition existieren weder Arbeitsplatzgrenzwerte (BGW) noch Beurteilungswerte (BAT, BLW) seitens der DFG. Daten zur ubiquitären Hintergrundbelastung an Mn im Urin der Allgemeinbevölkerung liegen weder in Deutschland in der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung vor.

Bei der Interpretation der erhaltenen Humanbiomonitoring-Werte kann berücksichtigt werden, Mn und seine anorganischen Verbindungen seitens der DFG in die Schwangerschaftskategorie C eingruppiert sind, d.h. eine fruchtschädigende Wirkung braucht bei Einhaltung des MAK- oder BAT-Wertes (20 µg/L im Blut) nicht befürchtet zu werden (DFG, 2008a).

5.4.2 Prinzip des analytischen Verfahrens

Das hier beschriebene analytische Verfahren auf Basis der Plattformgraphitrohr-AAS ermöglicht die Bestimmung von Mn im Urin von beruflich exponierten Personen. Als Grundlage diente eine bestehende Methodik der im Arbeitskreis AiBM erarbeiteten und

publizierten Methode der DFG für Mangan im Blut (DFG, 2006), die entsprechend der Analytik im Urin angepasst wurde. Die Messung der Absorption bei einer Wellenlänge von 279,5 nm erfasst den Gesamtmangangehalt im Urin.

5.4.3 Interne & Externe Qualitätssicherung

Standardisierung und Qualitätskontrollmaterial

Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Richtlinien der BÄK (BÄK, 2003) und gemäß der im Arbeitskreis AiBM der DFG erarbeiteten und publizierten Anforderungen an arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen durchgeführt (Angerer und Lehnert, 1997). Für die Analyse von Mn im Blut liegt zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial der DGAUM im Rahmen des G-EQAS vor. Vor der Durchführung der Analysen wurde die erfolgreiche Teilnahme am Ringversuch bescheinigt ([Anhang 5](#)). Die Analytik im Urin läuft dabei analog der Methode für Blut. Zusätzlich zur externen Qualitätssicherung wurde aus Gründen der internen Qualitätssicherung auch eine zertifizierte Qualitätskontrollprobe der Fa. Recipe (München) mit einer definierten Menge an Mn analysiert und zusammen mit einer Leerprobe (hochreines Wasser) in jede Analysensequenz eingeschlossen.

Präzision des Verfahrens

Die Präzision in der Serie wurde bei einer Konzentration von 6,5 µg/L in jeweils 12 Bestimmungen untersucht. Die relative Standardabweichung beträgt 3,10% mit einem Streubereich von 6,81%. Die Präzision von Tag zu Tag wurde ebenfalls bei einer Konzentration von 6,5 µg/L in jeweils 20 Bestimmungen untersucht. Die relative Standardabweichung und der Streubereich lag bei jeweils 7,07% und 14,80%.

Genauigkeit des Verfahrens

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde neben der erfolgreichen Teilnahme an externen Ringversuchen (G-EQAS) zusätzlich auch über eine weitere externe Qualitätssicherung mittels einer zertifizierten Qualitätskontrollprobe der Fa. Recipe (München) durchgeführt. Die in diesen Proben analysierten Werte an Co von $6,5 \pm 1,3$ µg/L liegen exakt am durch die Firma angegebenen Mittelwert (6,5 µg/L) sowie Streubereich (5,2-7,8 µg/L). Die Wiederfindung betrug 100%.

Nachweisgrenzen

Die NWG der Methode wurden auf Basis eines S/N von 3:1 zu 0,5 µg/L bestimmt. Die Methode ist zum Nachweis einer Exposition gegenüber Mn am Arbeitsplatz geeignet.

Zusammenfassung Qualitätskontrolle – Mangan

Mit dem dargestellten analytischen Verfahren auf Basis der Plattformgraphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie, einer Nachweisgrenze von $0,5 \mu\text{g/L}$, Präzisionen von $<8\%$ in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von 100% lässt sich Mangan sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

Beispiels-Spektrum

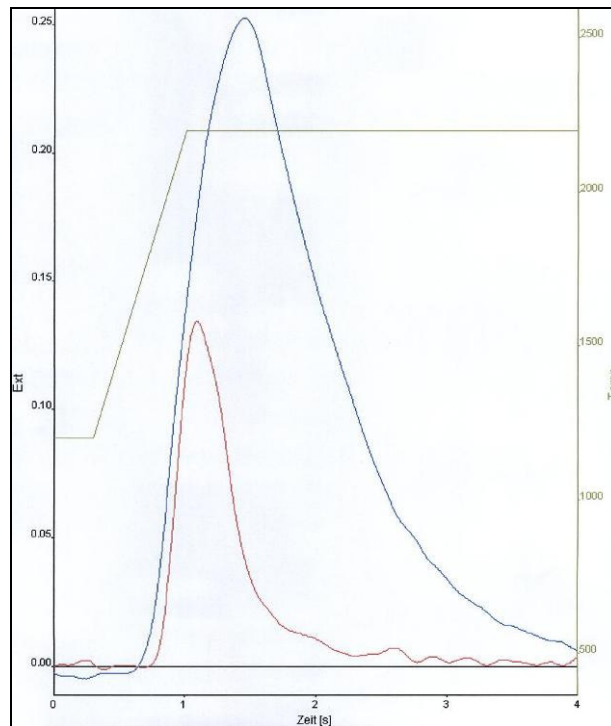


Abb. 12. AAS-Spektrum einer Urinprobe mit Mangan (λ 279,5 nm) im Vergleich zum Hintergrund-Spektrum

6. Literatur

Alexander BH, Checkoway H, van Netten C, Muller CH, Ewers TG, Kaufman JD, Mueller BA, Vaughan TL, Faustman EM (1996). Semen quality of men employed at a lead smelter. *Occup. Environ. Med.* 53: 411-416.

Angerer J, Lehnert G (1997). Anforderungen an arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen – Stand der Technik. *Dtsch. Ärztebl.* 37: C1753-C1760.

ACGIH (2009). TLVs and BEIs. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), Cincinnati, OH, USA.

ATSDR (2004). Toxicological Profile for Cobalt. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Center for Disease Control & Prevention (CDC), US Department of Health and Human Services (DHHS). Atlanta, GA, USA.

BÄK (2003). Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. *Dtsch. Ärztebl.* 100: A3335-A3338.

Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL (2008). Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ. Health Perspect.* 116: 39-44.

CDC (2005). Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Centers for Disease Control & Prevention (CDC), US Department of Health and Human Services (DHHS). Atlanta, GA, USA.

DFG (1985). Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials, vol. 1, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

DFG (2006). The MAK Collection for Occupational Health and Safety, Part IV: Biomonitoring Methods, vol. 10, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

DFG (2008a). MAK- und BAT-Werte Liste 2008. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Mitteilung 44, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

DFG (2008b). The MAK Collection for Occupational Health and Safety, Part IV: Biomonitoring Methods, vol. 11, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

EC (2004). Dibutylphthalat, Hansen BG, Munn SJ, Allanou R, Berthault F, de Bruijn J, Luotamo M, Musset C, Pakalin S, Pellegrini G, Scheer S, Vegro S (Eds.), Institute for Health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau, European Union Risk Assessment Report, vol. 29, Luxemburg.

EC (2007). Benzylbutylphthalat, Pakalin S, Munn SJ, Aschberger K, Cosgrove O, Paya-Perez A, Vegro S (Eds.), Institute for Health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau, European Union Risk Assessment Report, vol. 76, Luxemburg.

EC (2008). Diethylhexylphthalat, Pakalin S, Aschberger K, Cosgrove O, Lund BO, Paya-Perez A, Vegro S (Eds.), Institute for Health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau, European Union Risk Assessment Report, vol. 80, Luxemburg.

Flick B, Talsness CE, Jäckh R, Buesen R, Klug S (2009). Embryotoxic potential of *N*-methylpyrrolidone (NMP) and three of its metabolites using the rat whole embryo culture system. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 237: 154-167.

Jemal A, Graubard BI, Devesa SS, Flegal KM (2002). The association of blood lead level and cancer mortality among whites in the United States. *Environ. Health Perspect.* 110: 325-329.

Kim EA, Cheong HK, Joo KD, Shin JH, Lee JS, Choi SB, Kim MO, Lee IuJ, Kang DM (2007). Effect of manganese exposure on the neuroendocrine system in welders. *Neurotoxicology* 28: 263-269.

Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J (2008). Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int. J. Hematol.* 88: 7-15.

Lhotka C, Szekeres T, Steffan I, Zhuber K, Zweymuller K (2003). Four-year study of cobalt and chromium blood levels in patients managed with two different metal-on-metal total hip replacements. *J. Orthop. Res.* 21: 189-195.

Malley LA, Kennedy GL, Elliott GS, Slone TW, Mellert W, Deckardt K, Kuttler K, Hildebrand B, Banton MI, Parod RJ, Griffiths JC (2001). Chronic toxicity and oncogenicity of *N*-methylpyrrolidone (NMP) in rats and mice by dietary administration. *Drug Chem. Toxicol.* 24: 315-338.

NIH (2008). NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Bisphenol A, Center For The Evaluation of Risks To Human Reproduction (CERHR), National Toxicology Program (NTP), National Institutes of Health (NIH), US Department of Health and Human Services (DHHS), NIH Publication No. 08-5994, Research Triangle Park, NC, USA (<http://cerhr.niehs.nih.gov/chemicals/bisphenol/bisphenol-eval.html>).

Telisman S, Cvitković P, Jurasović J, Pizent A, Gavella M, Rocić B (2000). Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men. *Environ. Health Perspect.* 108: 45-53.

Whittaker P, Dunkel VC, Bucci TJ, Kusewitt DF, Thurman JD, Warbritton A, Wolff GL (1997). Genome-linked toxic responses to dietary iron overload. *Toxicol. Pathol.* 25: 556-564.

Wright RO, Baccarelli A (2007) Metals and neurotoxicology. *J. Nutr.* 137: 2809-2813.

Anhang 1.

G-EQAS Zertifikat zur erfolgreichen Teilnahme an der externen Qualitätssicherung im Rahmen der Analysen von Metaboliten des **N-Methyl-2-pyrrolidon** (5-HNMP und 2-HMSI)



German External Quality Assessment Scheme

40. Ringversuch 2007

für toxikologische Analysen in biologischem Material

Prof. Dr. med. H. Drexler

im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V.

Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg

Schillerstr. 25 D - 91054 Erlangen

Externe Qualitätssicherung gem. Richtlinien der Bundesärztekammer

Teilnehmer: Prof. Dr. R. Wrbitzky / Dr. M. Bader
MHH - Abteilung Arbeitsmedizin
Carl-Neuberg-Str. 1
D - 30623 Hannover
Deutschland

181

Zertifikat

gültig bis 30. Januar 2009

Wir bescheinigen hiermit, dass Sie am Ringversuch 40 im Jahr 2007 für arbeits- / umweltmedizinisch-toxikologische Analysen teilgenommen haben. Nach den Richtlinien der Bundesärztekammer vom 16.01.1987 und 16.10.1987 sowie vom 24.08.2001 zur Durchführung von Ringversuchen im Bereich der Heilkunde haben Sie die Anforderungen für die nachfolgend genannten Parameter erfüllt:

Arbeitsmedizinischer Bereich

HA im Urin
MA im Urin

MHA im Urin
Kreatinin im Urin

5-HNMP im Urin
2-HMSI im Urin

Erlangen, 15.01.2008

Prof. Dr. med. H. Drexler

PD Dr. rer. nat. Th. Göen



Anhang 2.

G-EQAS-Zertifikat zur erfolgreichen Teilnahme an der externen Qualitätssicherung im Rahmen der Analysen von Metaboliten der **Phthalate** Di-(2-ethylhexyl)phthalat (5-OH-MEHP) und Di-*n*-butylphthalat (MnBP).



German External Quality Assessment Scheme

42. Ringversuch 2008

für toxikologische Analysen in biologischem Material

Prof. Dr. med. H. Drexler

im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V.
Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg
Schillerstr. 25 D - 91054 Erlangen

Externe Qualitätssicherung gem. Richtlinien der Bundesärztekammer

Teilnehmer: BGFA, Abteilung Biomonitoring
Dr. Tobias Weiss
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1
D - 44789 Bochum
Deutschland

139

Zertifikat

gültig bis 31. Januar 2010

Wir bescheinigen hiermit, dass Sie am Ringversuch 42 im Jahr 2008 für arbeits- / umweltmedizinisch-toxikologische Analysen teilgenommen haben. Nach den Richtlinien der Bundesärztekammer vom 16.01.1987 und 16.10.1987 sowie vom 24.08.2001 zur Durchführung von Ringversuchen im Bereich der Heilkunde haben Sie die Anforderungen für die nachfolgend genannten Parameter erfüllt:

Umweltmedizinischer Bereich

Cd im Blut
Hg im Blut
Hg im Urin
Cotinin im Urin

Nikotin im Urin
5-OH-MEHP im Urin
5-oxo-MEHP im Urin
5-carboxy-MEPP im Urin

MnBP im Urin
HEV an Globin
CEV an Globin
AAV an Globin

Erlangen, 12.01.2009

Prof. Dr. med. H. Drexler

PD Dr. rer. nat. Th. Göen



Anhang 3.

G-EQAS-Zertifikat zur erfolgreichen Teilnahme an der externen Qualitätssicherung im Rahmen der Analysen von **Blei**.



German External Quality Assessment Scheme

41. Ringversuch 2008

für toxikologische Analysen in biologischem Material

Prof. Dr. med. H. Drexler

im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V.
Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg
Schillerstr. 25 D - 91054 Erlangen

Externe Qualitätssicherung gem. Richtlinien der Bundesärztekammer

Teilnehmer: BGFA, Abteilung Biomonitoring
Dr. Tobias Weiss
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1
D - 44789 Bochum
Deutschland

139

Zertifikat

gültig bis 31. Juli 2009

Wir bescheinigen hiermit, dass Sie am Ringversuch 41 im Jahr 2008 für arbeits- / umweltmedizinisch-toxikologische Analysen teilgenommen haben. Nach den Richtlinien der Bundesärztekammer vom 16.01.1987 und 16.10.1987 sowie vom 24.08.2001 zur Durchführung von Ringversuchen im Bereich der Heilkunde haben Sie die Anforderungen für die nachfolgend genannten Parameter erfüllt:

Umweltmedizinischer Bereich

Pb im Blut

Cd im Blut

Hg im Blut
Cd im Urin

Cr im Urin
Ni im Urin

Erlangen, 6.06.2008

Prof. Dr. med. H. Drexler

PD Dr. rer. nat. Th. Göen



Anhang 4.

G-EQAS-Zertifikat zur erfolgreichen Teilnahme an der externen Qualitätssicherung im Rahmen der Analysen von **Cobalt**.



German External Quality Assessment Scheme

42. Ringversuch 2008

für toxikologische Analysen in biologischem Material

Prof. Dr. med. H. Drexler

im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V.

Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg

Schillerstr. 25 D - 91054 Erlangen

Externe Qualitätssicherung gem. Richtlinien der Bundesärztekammer

Teilnehmer: BGFA, Abteilung Biomonitoring
Dr. Tobias Weiss
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1
D - 44789 Bochum
Deutschland

139

Zertifikat

gültig bis 31. Januar 2010

Wir bescheinigen hiermit, dass Sie am Ringversuch 42 im Jahr 2008 für arbeits- / umweltmedizinisch-toxikologische Analysen teilgenommen haben. Nach den Richtlinien der Bundesärztekammer vom 16.01.1987 und 16.10.1987 sowie vom 24.08.2001 zur Durchführung von Ringversuchen im Bereich der Heilkunde haben Sie die Anforderungen für die nachfolgend genannten Parameter erfüllt:

Arbeitsmedizinischer Bereich

Co im Urin
Cu im Urin

Ni im Urin
Zn im Urin

SPMA im Urin

Erlangen, 12.01.2009

Prof. Dr. med. H. Drexler

PD Dr. rer. nat. Th. Göen



Anhang 5.

G-EQAS-Zertifikat zur erfolgreichen Teilnahme an der externen Qualitätssicherung im Rahmen der Analysen von **Mangan**.



German External Quality Assessment Scheme

41. Ringversuch 2008

für toxikologische Analysen in biologischem Material

Prof. Dr. med. H. Drexler

im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V.
Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg
Schillerstr. 25 D - 91054 Erlangen

Externe Qualitätssicherung gem. Richtlinien der Bundesärztekammer

Teilnehmer: BGFA, Abteilung Biomonitoring
Dr. Tobias Weiss
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1
D - 44789 Bochum
Deutschland

139

Zertifikat

gültig bis 31. Juli 2009

Wir bescheinigen hiermit, dass Sie am Ringversuch 41 im Jahr 2008 für arbeits- / umweltmedizinisch-toxikologische Analysen teilgenommen haben. Nach den Richtlinien der Bundesärztekammer vom 16.01.1987 und 16.10.1987 sowie vom 24.08.2001 zur Durchführung von Ringversuchen im Bereich der Heilkunde haben Sie die Anforderungen für die nachfolgend genannten Parameter erfüllt:

Arbeitsmedizinischer Bereich

Cr im Blut

Mn im Blut

Ni im Blut

Erlangen, 6.06.2008

Prof. Dr. med. H. Drexler

PD Dr. rer. nat. Th. Göen



Humanbiomonitoring – TESCAR

Abschlussbericht



BGFA– Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin

der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV), Institut der Ruhr-Universität Bochum

Bürkle-de-la-Camp Platz 1, D-44789 Bochum, Germany

Inhaltsverzeichnis

1.	Verwendete Abkürzungen	3
2.	Einleitung	5
3.	Organische Parameter	5
3.1	Bisphenol A	5
3.1.1	Substanzinformation & Analytik	5
3.1.2	Ergebnisse	6
3.2	Glykolether	7
3.2.1	Substanzinformation & Analytik	7
3.2.2	Ergebnisse	8
3.3	N-Methyl-2-pyrrolidon	9
3.3.1	Substanzinformation & Analytik	9
3.3.2	Ergebnisse	11
3.4	Phthalate	11
3.4.1	Substanzinformation & Analytik	11
3.4.2	Ergebnisse	12
4.	Anorganische Parameter	15
4.1	Blei	15
4.1.1	Substanzinformation & Analytik	15
4.1.2	Ergebnisse	16
4.2	Eisen	17
4.2.1	Substanzinformation & Analytik	17
4.2.2	Ergebnisse	18
4.3	Kobalt	18
4.3.1	Substanzinformation & Analytik	18
4.3.2	Ergebnisse	19
4.4	Mangan	20
4.4.1	Substanzinformation & Analytik	20
4.4.2	Ergebnisse	21
5.	Literatur	22

1. Verwendete Abkürzungen

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists [USA]
AGW	Arbeitsplatzgrenzwert
BAT	Biologischer Arbeitsplatz-Toleranzwert
BBP	Benzylbutylphthalat
BEI	Biological Exposure Indices [USA]
BGFA	BGFA - Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der DGUV
BGW	Biologischer Grenzwert
BIPS	Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin
BLW	Biologischer Leitwert
BPA	Bisphenol A
CDC	Centers for Disease Control & Prevention
CERHR	Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction [USA]
Co	Kobalt
DnBP	Di- <i>n</i> -butylphthalat
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DGUV	Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung
DEHP	Di-(2-ethylhexyl)phthalat
EKA	Expositionsäquivalent für kanzerogene Arbeitsstoffe
Fe	Eisen
FID	Flammenionisationsdetektion
GC	Gaschromatographie
GE	Glykolether
HBM	Humanbiomonitoring
2-HMSI	2-Hydroxy- <i>N</i> -methylsuccinimid
5-HNMP	5-Hydroxy- <i>N</i> -methyl-pyrrolidon
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MnBP	Mono- <i>n</i> -butylphthalat
MBzP	Monobenzylphthalat
5-OH-MEHP	Mono-(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)-phthalat
Mn	Mangan
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie

NIH	National Institutes of Health [USA]
NMP	<i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidon
NTP	National Toxicology Program [USA]
NWG	Nachweisgrenze
Pb	Blei
PU	Polyurethan
PVC	Polyvinylchlorid

2. Zusammenfassung

Im Rahmen eines Humanbiomonitorings (HBM) hat das BGFA – Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV), Institut der Ruhr-Universität Bochum, ein von der Vereinigung der Metallberufsgenossenschaften und der DGUV gefördertes Projekt des Bremer Instituts für Präventionsforschung und Sozialmedizin (BIPS) zu beruflichen Risikofaktoren von Hodentumoren bei Beschäftigten in der metallverarbeitenden Industrie unterstützt. Hierzu wurde an rund 200 Beschäftigten ein HBM gegen Bisphenol A, ausgewählten Substanzen aus der Gruppe der Glykolether und Phthalate, N-Methyl-2-pyrrolidon sowie Blei, Eisen, Kobalt und Mangan durchgeführt. Einzelheiten zu den angewandten analytischen Verfahren sowie der Qualitätssicherung können dem Qualitätssicherungsbericht (Stand: Juli 2009) entnommen werden.

Um dem Leser ein vom Qualitätssicherungsbericht unabhängiges Lesen des Abschlussberichtes zu gewährleisten, wurden die substanzspezifischen Hintergrundinformationen zu den untersuchten Parametern sowie eine Kurzbeschreibung der analytischen Verfahren aus dem Qualitätssicherungsbericht übernommen und zusammen mit den erhaltenen Ergebnissen dargestellt. Die gewonnenen Daten des HBM können zur Überprüfung der Expositionseinstufung und zur wissenschaftlichen Objektivierung, inwiefern eine berufliche Tätigkeit in der Automobilindustrie eine umweltbedingte Exposition übersteigt, genutzt werden.

3. Organische Parameter

3.1 Bisphenol A

3.1.1 Substanzinformation und Analytik

Bisphenol A (BPA) ist ein wichtiges industrielles Zwischenprodukt bei der Produktion von Epoxyharzen und Plastikmaterialien auf Polycarbonatbasis. Diese finden breiten Einsatz in der Industrie, *u.a.* als Beschichtungsmaterial und Verbundwerkstoffe aber auch als Verpackungsmaterialien im Consumer-Bereich. Dementsprechend ist BPA auch in Humanproben der beruflich nicht exponierten Allgemeinbevölkerung regelmäßig nachzuweisen (Calafat *et al.*, 2008). Gleichzeitig wird BPA als Biozid und Antioxidans eingesetzt. BPA gilt nachgewiesenermaßen als reproduktionstoxisch im Tierversuch, wobei die Datenlage beim Menschen unzureichend beschrieben ist. In der neuesten

Risikoevaluierung (September 2008) kommt das „Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction“ (CERHR) der „National Institutes of Health“ (NIH) zu dem Schluss, dass – je nach Endpunkt – lediglich von einem vernachlässigbar geringen („negligible“) bis hin zu etwas Bedenken („some concern“) für das reproduktionstoxische Risiko beim Menschen auszugehen ist (NIH, 2008).

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse am Arbeitsplatz können folgende Beurteilungswerte bzw. Kategorisierungen berücksichtigt werden:

- a) Der Biologische Leitwert (BLW) beträgt 80 mg/L (DFG, 2008).
- b) BPA ist in Schwangerschaftskategorie C der DFG eingruppiert, d.h. eine fruchtschädigende Wirkung braucht bei Einhaltung des BLW-Wertes nicht befürchtet zu werden (DFG, 2008).
- c) Daten zur ubiquitären Hintergrundbelastung der Allgemeinbevölkerung in Deutschland liegen seitens des Umweltbundesamtes (UBA) nicht vor. Der Median der Belastung der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung liegt bei 2,7 µg/L (95. Perzentil: 15,9 µg/L, $n=2.517$, Alter: ≥ 6 Jahre) (Calafat *et al.*, 2008).

Im Rahmen des in der Studie durchgeführten HBM wurde BPA mittels der zweidimensionalen Hochleistungsflüssigkeitschromatographie in Kombination mit der Tandem-Massenspektrometrie (2D-HPLC-MS/MS) bestimmt. Mit dem dargestellten Verfahren lässt sich BPA mit einer Nachweisgrenze von 0,1 µg/L, einer Präzision von <15% in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von >95% sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide sowohl im arbeitsmedizinisch als auch umweltmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

3.1.2 Ergebnisse

Insgesamt wurden 195 Proben von Beschäftigten auf ihren Gehalt an BPA im Urin nach der Schicht kontrolliert. Der Median betrug 1,3 µg/L mit einem Bereich von <0,1 µg/L bis 12,9 µg/L. Das 95. Perzentil der Proben betrug 4,78 µg/L (siehe [Abb. 1](#)). Es konnte keine Überschreitung des derzeit gültigen BLW-Wertes der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) von 80 mg/L festgestellt werden. Die Werte in allen Proben lagen im Bereich der allgemeinen Hintergrundbelastung. Der Median als auch das 95. Perzentil lagen dabei niedriger als derjenige der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung (2,7 µg/L bzw. 15,9 µg/L). Deutsche Vergleichsdaten liegen nicht vor.

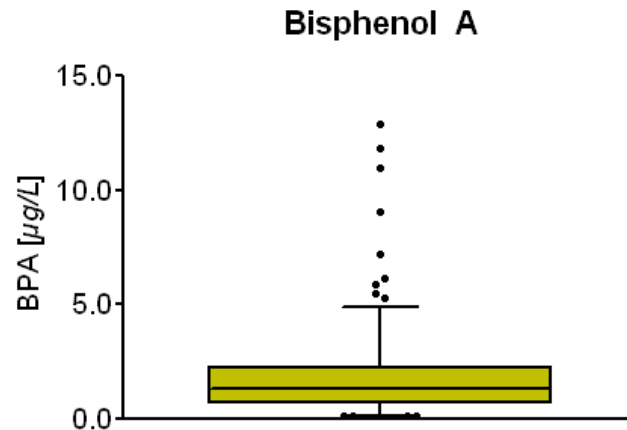


Abb. 1. Box-Plot-Darstellung der Verteilung an BPA im untersuchten Kollektiv. Dargestellt sind die 25-75%-Intervalle mit dem Median als mittlerer Linie. Die unteren und oberen Grenzen geben das 5. und 95. Perzentil an. Punkte unter- bzw. oberhalb sind jeweils darunter bzw. darüber liegende Meßergebnisse einzelner Beschäftigter.

3.2 Glykolether

3.2.1 Substanzinformationen und Analytik

Glykolether (GE) werden in vielen Industriezweigen in zunehmendem Maße als Lösungsmittel und Emulgierhilfen oder als Ersatz für halogenierte Kohlenwasserstoffe eingesetzt. Bei GE handelt es sich um farblose Flüssigkeiten, die sowohl mit anderen Lösungsmitteln als auch Wasser gut mischbar sind. Im Bereich der Automobilindustrie werden GE im Bereich der Lackierung als auch in Bremsflüssigkeiten eingesetzt. Während in einzelnen industriellen Branchen eine Exposition gegenüber einer oder mehrerer Substanzen aus der Gruppe der GE als gesichert gilt, ist die Datenlage in der Allgemeinbevölkerung ohne beruflichen Umgang uneinheitlich. Weder seitens des UBA noch durch die amerikanischen Behörden des Centers for Disease Control & Prevention (CDC) wurden Referenzwerte für die Allgemeinbevölkerung publiziert. Einzelne Vertreter aus der Gruppe der GE (*u.a.* Methoxy- und Ethoxyethanol) gelten nachgewiesenermaßen als reproduktionstoxisch im Tierversuch und werden deshalb nur noch in Ausnahmefällen eingesetzt, *u.a.* in Fällen bei denen kein adäquates Ersatzprodukt zur Verfügung steht.

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse am Arbeitsplatz existieren aufgrund fehlender Untersuchungen sowohl für die unveränderten Propylen als auch Diethylenglykolether derzeit weder Arbeitsplatzgrenzwerte in biologischem Material (BGW) noch Beurteilungswerte, *z.B.* BLW oder Biologische Arbeitsplatztoleranzwerte (BAT). Weiterhin liegen weder deutsche noch US-amerikanische Untersuchungen zur Belastung der

Allgemeinbevölkerung durch GE vor. In Abhängigkeit ihrer Toxizität sind GE in unterschiedlichen Schwangerschaftskategorien (B-C) der DFG eingruppiert (DFG, 2008).

Insgesamt wurden im Rahmen eines Screening-Verfahrens 14 GE im Urin mittels Gaschromatographie in Kombination mit der Flammenionisationsdetektion (GC-FID) bestimmt. Mit diesem analytischen Verfahren, Nachweisgrenzen von $\leq 1,0$ mg/L, Präzisionen von $<10\%$ in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von $>95\%$ lassen sich alle GE sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen. Eine umweltbedingte Glykolether-Exposition – teilweise in der Literatur beschrieben – lässt sich mit dem Verfahren nicht nachweisen.

3.2.2 Ergebnisse

Insgesamt wurden 198 Proben von Beschäftigten auf ihren Gehalt an 14 unterschiedlichen Glykolethern im Urin nach der Schicht kontrolliert. Die Ergebnisse sind in [Tab. 1](#) und [Abb. 2](#) dargestellt. Einzelexpositionen von sieben Glykolethern konnten nachgewiesen. Insgesamt lagen jedoch $>95\%$ der Messergebnisse unterhalb der Nachweisgrenze.

Glykolether	Median	Bereich	5%	95%
1-Methoxy-2-propanol (1M2P)	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG
1-Ethoxy-2-propanol (1E2P)	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG
1-Methoxypropyl-2-acetat (1MP2A)	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG
Diethylenglykoldimethylether (DGDE)	<NWG	<NWG-0,41	<NWG	0,28
1-Butoxy-2-propanol (1B2P)	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG
3-Ethoxy-1-propanol (3E1P)	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG
Diethylenglykoldiethylether (DEGDE)	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG
Propylenglykoldiacetat (PGDA)	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG
Diethylenglykolmonomethylether (DGME)	<NWG	<NWG-1,96	<NWG	0,33
Diethylenglykolmonoethylether (DGMEE)	<NWG	<NWG-0,42	<NWG	<NWG
Diethylenglykolmonobutylether (DGMBE)	<NWG	<NWG-0,64	<NWG	0,40
Diethylenglykolmonobutyletheracetat (DGMBEA)	<NWG	<NWG-2,15	<NWG	0,32
Dipropylenglykolmonomethylether (DPGME)	<NWG	<NWG-0,53	<NWG	<NWG
Diethylenglykolmonoethyletheracetat (DGMEA)	<NWG	<NWG-0,55	<NWG	0,38

Tab. 1. Ergebnisse des Screenings auf Glykolether bei Beschäftigten in der Automobilindustrie. Alle Angaben in mg/L; 5% = 5. Perzentil; 95% = 95. Perzentil., Glykolether mit positiven Befunden sind rot markiert.

Die am Häufigsten nachgewiesenen Glykolether waren Diethylenglykolmonomethylether (DGME) in 22 Proben (11,1%), Diethylenglykolmonobutylether (DGMBE) in 26 (13,1%),

Diethylenglykolmonobutyl-etheracetat (DGMBEA) in 20 (10,1%) und Diethylenglykolmonoethyletheracetat (DGMEA) in 15 (7,6%) von 198 Proben.

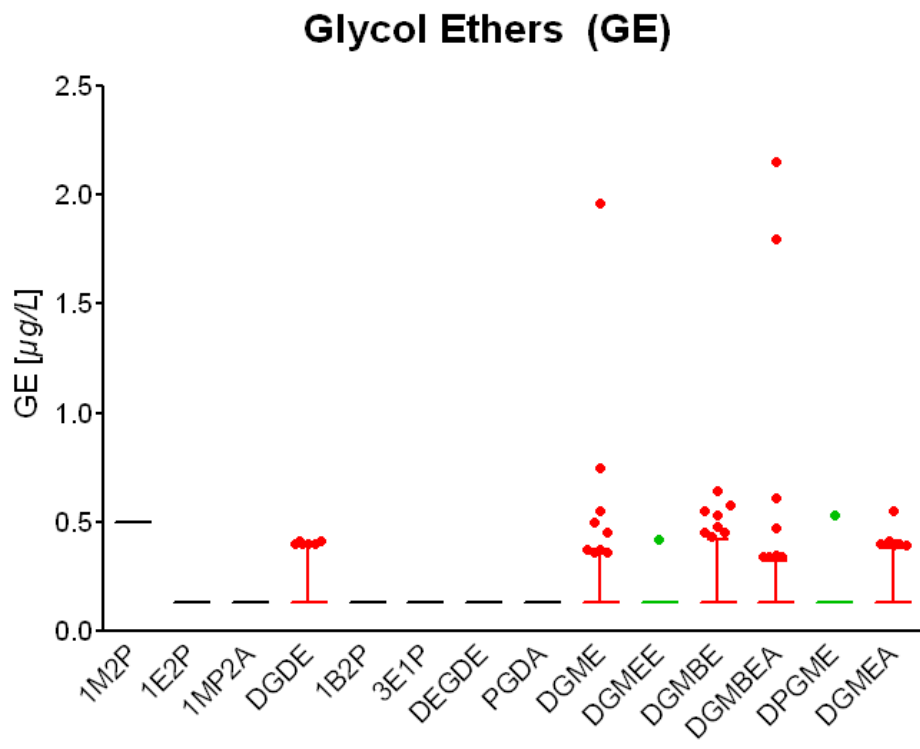


Abb. 2. Box-Plot-Darstellung der Verteilung an 14 unterschiedlichen Glykolethern im untersuchten Kollektiv. Dargestellt sind die 25-75%-Intervalle mit dem Median als mittlerer Linie. Die unteren und oberen Grenzen geben das 5. und 95. Perzentil an. Punkte unter- bzw. oberhalb sind jeweils darunter bzw. darüber liegende Messergebnisse einzelner Beschäftigter.

Zur Bewertung der ermittelten Konzentrationen liegen in der Literatur keine Referenzwerte aus der Allgemeinbevölkerung oder Arbeitsplatzgrenzwerte bei Beschäftigten aus der Industrie vor. Insgesamt liegen in den wenigen Proben mit positiven Befunden die ermittelten Konzentrationen nur geringfügig oberhalb der entsprechenden Nachweisgrenzen und unterliegen damit einer gewissen analytisch-diagnostischen Unsicherheit.

3.3 N-Methyl-2-pyrrolidon

3.3.1 Substanzinformationen und Analytik

N-Methyl-2-pyrrolidon (NMP) ist in nahezu jedem Verhältnis sowohl mit Wasser als auch mit anderen organischen Lösungsmitteln mischbar und wird aufgrund dieser Eigenschaften in einer Vielzahl unterschiedlicher Industriezweige eingesetzt. Es besitzt darüber hinaus eine hohe thermische Stabilität (hohen Siedepunkt). NMP ist im Vergleich zu anderen

organischen Lösungsmitteln gut über die Haut resorbierbar. Durch das Tragen geeigneter Schutzausrüstungen (*u.a.* Handschuhe, Spritzschutz) kann eine Exposition jedoch nahezu vollständig verhindert werden. NMP wird hauptsächlich bei der Produktion von Kunststoffen wie Polyurethanen, Polyvinylchlorid, Epoxyharzen und Acrylaten eingesetzt. Darüber hinaus ist es in wasserhaltigen Polyurethantinkturen enthalten, mit denen PKW/LKW-Gummidichtungen während der Extrusion und Aushärtung behandelt werden. Es wird ebenfalls zur Entfernung von Lacken angewandt. Hier besteht auch für die Allgemeinbevölkerung ein geringes Risiko gegenüber NMP exponiert zu sein, *u.a.* bei Abbeiz-Tätigkeiten im Privatbereich. Daten zur Belastung der Allgemeinbevölkerung liegen jedoch nicht vor. NMP verursacht im Tierversuch bei hohen Expositionen teratogene und entwicklungstoxische Schädigungen, die vermutlich durch NMP selbst sowie einen seiner Metabolite, dem 5-Hydroxy-*N*-methyl-pyrrolidon (5-HNMP), verursacht werden (Flick *et al.*, 2009). Im Gegensatz dazu ergaben die Mehrzahl der *in-vitro* Untersuchungen zur Mutagenität negative Testergebnisse und auch im Tierversuch konnte kein eindeutiger Hinweis auf eine kanzerogene Wirkung von NMP gefunden werden. Lediglich bei den höchsten angewandten Konzentrationen (18,000 ppm) wurde eine gegenüber nicht-exponierten Versuchstieren erhöhte Inzidenz an Lebertumoren beobachtet (Malley *et al.*, 2001).

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse am Arbeitsplatz können folgende Beurteilungswerte *bzw.* Kategorisierungen berücksichtigt werden:

- a) Der BAT-Wert beträgt für 5-HNMP 150 mg/L (DFG, 2008).
- b) NMP ist in Schwangerschaftskategorie C der DFG eingruppiert, *d.h.* eine fruchtschädigende Wirkung braucht bei Einhaltung des BAT-Wertes nicht befürchtet zu werden (DFG, 2008).

Das eingesetzte analytische Verfahren auf Basis der Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS) ermöglichte die Bestimmung von 5-HNMP und 2-Hydroxy-*N*-methylsuccinimid (2-HMSI) im Urin von beruflich exponierten Personen. Mit diesem Verfahren, Nachweisgrenzen von 1,0 mg/L, Präzisionen von <5% in der Serie *bzw.* von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von >95% konnten zwei Metabolite des *N*-Methyl-2-pyrrolidon sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen. Eine umweltbedingte NMP-Exposition – wenn überhaupt vorhanden – lässt sich mit dem Verfahren nicht nachweisen.

3.3.2 Ergebnisse

Insgesamt wurden 199 Proben von Beschäftigten auf Ihren Gehalt an Metaboliten des NMP im Urin nach der Schicht kontrolliert. Alle Ergebnisse waren unterhalb der Nachweisgrenze.

3.4 Phthalate

3.4.1 Substanzinformationen und Analytik

Phthalate werden in der Industrie vor allem als Weichmacher für PVC-Kunststoffe verwendet. Im Automobilbau werden PVC-haltige Kunststoffe überwiegend im Unterbodenschutz, für Innenraumverkleidungen und als Dichtungen eingesetzt. Phthalate finden sich jedoch auch in der Bauindustrie (Kabel, Fußbodenbeläge, Folien, *etc.*), in der Elektro- und Kabelindustrie (Ummantelung) und in Sport und Freizeitartikeln. Zusätzlich können sie als Bestandteile von Körperpflegeprodukten und Kosmetika sowie in frei verkäuflichen pharmazeutischen Produkten eingesetzt werden. Ein wichtiger Vertreter in Kosmetika und pharmazeutischen Produkten ist Di-*n*-butylphthalat (DnBP, CAS 84-74-2, *m/z* 278,3) während Benzylbutylphthalat (BBP, CAS 85-68-7, *m/z* 312,4) und Di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP, CAS 117-81-7, *m/z* 390,6) vor allem im industriellen Bereich und PVC-haltigen Produkten eingesetzt werden. Aufgrund Ihrer weiten industriellen Anwendung und Einsatzes sind vor allem Arbeitnehmer in der PVC-produzierenden Industrie höheren Expositionen gegenüber Phthalaten ausgesetzt. Da Phthalate als Weichmacher im Kunststoff jedoch nicht gebunden sind, können auch Arbeitnehmer in der weiterverarbeitenden Industrie sowie der Endverbraucher exponiert sein. Aufgrund ihrer weiten Verbreitung ist auch die Allgemeinbevölkerung einer ubiquitär vorhandenen Hintergrundexposition ausgesetzt. Alle drei im Rahmen dieser Studien untersuchten Phthalate (DnBP, BBP und DEHP) sind als fortpflanzungsgefährdend in der Europäischen Union eingestuft und wurden intensiv hinsichtlich Ihres reproduktionstoxischen Risikos untersucht (EC, 2004; 2007; 2008). Die entwicklungstoxischen Schädigungen werden dabei *u.a.* auch von den Sekundärmetaboliten, *d.h.* den oxidierten Stoffwechselprodukten der Monoester hervorgerufen. Es existieren derzeit weder Arbeitsplatzgrenzwerte (BGW) noch Beurteilungswerte (BAT, BLW) für eine Arbeitsplatzexposition seitens der DFG.

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse am Arbeitsplatz können folgende Beurteilungswerte *bzw.* Kategorisierungen berücksichtigt werden:

- a) DEHP ist in Schwangerschaftskategorie C der DFG eingruppiert, *d.h.* eine fruchtschädigende Wirkung braucht bei Einhaltung des MAK-Wertes (Maximale Arbeitsplatzkonzentration in der Luft) nicht befürchtet zu werden (DFG, 2008). Für DBP und BBP liegen keine Einstufungen vor
- b) Die Belastungen der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung seitens des CDC ($n=2.782$; Alter ≥ 6 Jahre) sind für
- Mono-(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)phthalat (5-OH-MEHP, *Metabolit des DEHP*)
20,1 µg/L (Median); 192,0 (95. Perzentil)
 - Monobenzylphthalat (MBzP, *Metabolit des BBP*)
15,7 µg/L (Median); 122,0 (95. Perzentil)
 - Mono-*n*-butylphthalat (MnBP, *Metabolit des DnBP*)
20,4 µg/L (Median); 108,0 (95. Perzentil)

Das eingesetzte analytische Verfahren auf Basis der zweidimensionalen HPLC-MS/MS ermöglichte die Bestimmung von Metaboliten unterschiedlicher Phthalate, *u.a.* die als fortpflanzungsgefährdend eingestuften DEHP, BBP und DnBP im Urin von exponierten Personen. Mit diesem Verfahren, Nachweisgrenzen von $\leq 0,50$ µg/L, Präzisionen von $<10\%$ in der Serie *bzw.* von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von $>90\%$ lassen sich die Metabolite des Di-(2-ethylhexyl)phthalats, Di-*n*-butylphthalats und Benzylbutylphthalats sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide sowohl im arbeitsmedizinisch als auch umweltmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

3.4.2 Ergebnisse

Insgesamt wurden 195 Proben von Beschäftigten auf ihren Gehalt an Metaboliten der Phthalate DEHP, BBP und DnBP im Urin untersucht. Die Ergebnisse sind in **Tab. 2** dargestellt. Eine Person war beruflich gegenüber DnBP exponiert. Die Ausscheidung an MnBP im Urin betrug 1951,13 µg/L. Der Rest der Personen zeigte Expositionen, die im Bereich der Hintergrundbelastung der Allgemeinbevölkerung liegen und damit umweltverursacht *bzw.* durch Life-Style-Faktoren verursacht sind.

Phthalate (Metabolit)	Median	Bereich	5%	95%
Diethylhexylphthalat – DEHP (5OHMEHP)	15,90	0,72-232,90	2,72	56,19
Butylbenzylphthalat – BBP (MBzP)	4,52	0,25-81,78	0,60	21,46
Di- <i>n</i> -butylphthalat (MnBP)	12,88	0,25-1951,13	0,45	65,98

Tab. 2. Ergebnisse der Messungen auf Phthalatmetabolite bei Beschäftigten in der Automobilindustrie. Alle Angaben in µg/L; 5% = 5. Perzentil; 95% = 95. Perzentil.

Aufgrund der Aufnahme über die Nahrung findet sich in umweltexponierten Personen in der Regel eine Assoziation zwischen den unterschiedlichen Phthalaten und Phthalatmetaboliten. Sie ist von moderatem Ausmaß, da eine weitere außerberufliche Exposition auch über Medikamente stattfinden kann. Damit fallen nicht nahrungsmittelbedingte Expositionen in einem Kollektiv sofort bei der Betrachtung der Assoziationen zwischen den unterschiedlichen Phthalatmetaboliten auf (siehe [Abb. 3](#)).

MnBP vs. 5-OHMEHP

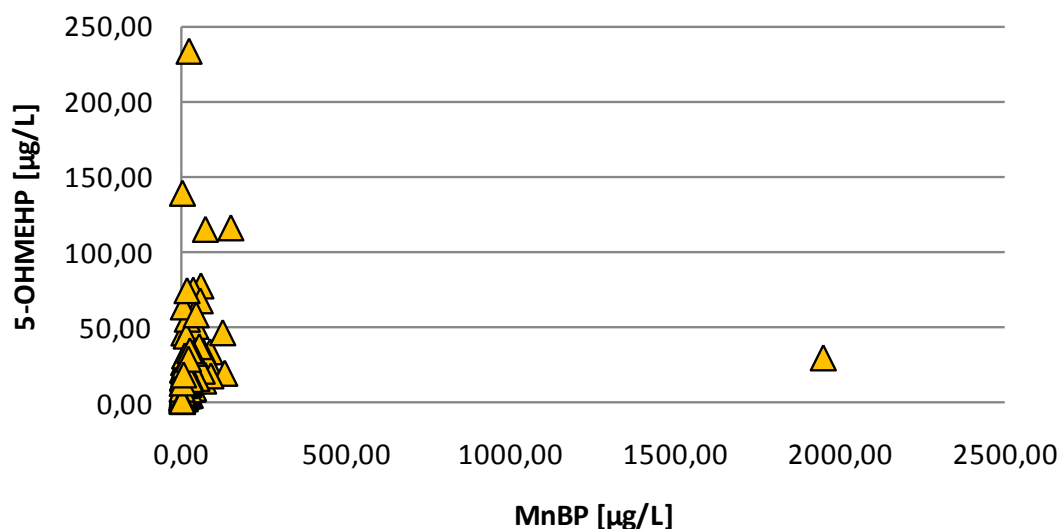


Abb. 3. Assoziation zwischen MnBP und 5-OHMEHP als Metabolite des DnBP und DEHP. Die Betrachtung der Assoziationen zwischen Phthalatmetaboliten untereinander lässt in dem hier betrachteten ansonsten lediglich über die Nahrung exponierten Kollektiv sofort eine potenziell exponierte Person erkennen.

Die höhere Exposition des in diesen Kollektiv Beschäftigten bedarf der arbeitsmedizinischer Abklärung inwiefern er an seinem Arbeitsplatz tatsächlich Umgang mit DnBP hatte. Speziell im Falle des DnBP muss auch geprüft werden, ob die zu untersuchende Person im Vorfeld frei verkäufliche Erkältungsmedikamente oder ähnliches eingenommen hat, da DnBP auch in magensäureresistenten Kapseln und Dragees zum Einsatz kommt. Werden die Werte der

potenziell exponierten Person bzw. Personen aus der Korrelationsgeraden entfernt, findet sich die in umweltexponierten Kollektiven überwiegend vorhandene moderate Assoziation zwischen den Metaboliten ([Abb. 4](#)).

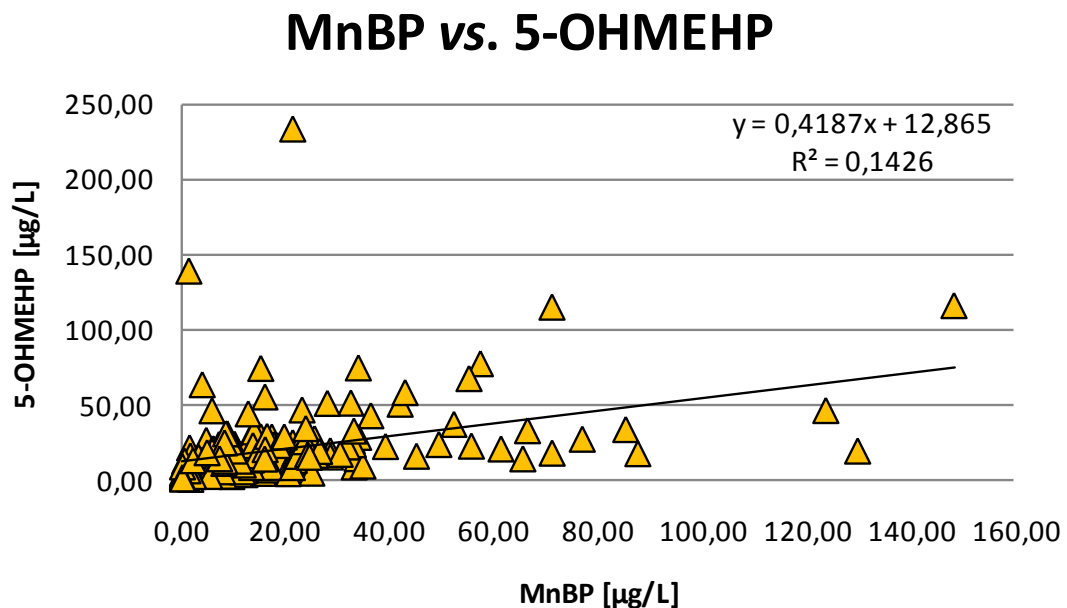


Abb. 4. Assoziation zwischen MnBP und 5-OHMEHP als Metabolite des DnBP und DEHP nach Herausnahme der Daten der vermutlich nicht ausschließlich über die Nahrung exponierten Person. Mögliche weitere Konfounder (z.B. Medikamente) siehe Text.

Mit Ausnahme einer Person (siehe oben) lagen alle Proben im Bereich der allgemeinen Hintergrundbelastung. Die Mediane waren sowohl für 5-OHMEHP, MBzP und MnBP niedriger als diejenigen der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung (2,7 µg/L bzw. 15,9 µg/L). Entsprechende niedrigere Werte wurden auch für die 95. Perzentile im Vergleich zur amerikanischen Allgemeinbevölkerung gefunden. Deutsche Vergleichsdaten liegen nicht vor.

4. Anorganische Parameter

4.1 Blei

4.1.1 Substanzinformationen und Analytik

Blei (Pb) kommt am Arbeitsplatz und in der Umwelt in metallischer als auch organischer (z.B. Tetraethylblei) sowie anorganischer Form (z.B. Bleisulfid, Bleisulfat, *etc.*) vor. Pb ist ein wichtiges industriell genutztes Metall zur Herstellung von Batterien, Lötmetallen, Metall-Legierungen, bei der Produktion von Blei- und Keramikglas sowie Schutzvorrichtungen (*u.a.* bei elektrischen Komponenten und Automobilkühlsystemen). In der Vergangenheit war es Bestandteil von Rohrleitungen und KFZ-Kraftstoffen. Neben einer beruflichen Exposition ist eine Bleibelastung auch in der Allgemeinbevölkerung nachweisbar, wobei durch den Verzicht an Pb in Kraftstoffen und Nahrungsmitteldosen (Lötmaterial) sowie den Ersatz bleihaltiger Rohrleitungen mit Alternativmaterialien die Exposition in den letzten Jahren und Jahrzehnten gesunken ist. Einzelne dieser Expositionsquellen existieren jedoch noch immer (*u.a.* Installationstechnik, bleihaltiges Glas- und Keramikmaterial, *etc.*) so dass bei höheren Pb-Werten neben einer beruflichen Belastung vor allem auch Expositionsquellen im privaten Umfeld berücksichtigt werden müssen. Pb ist systemisch toxisch, besitzt unterschiedliche Zielorgane beim erwachsenen Menschen (*u.a.* Blut, Niere, Gehirn) und gilt als toxisch für die neuronale Entwicklung bei Expositionen *in utero*. Die potenziellen reproduktionstoxischen sowie kanzerogenen Effekte von Pb sind aufgrund einer derzeit unzureichenden Datenlage beim Menschen Gegenstand aktueller Forschung (Alexander *et al.*, 1996; Telisman *et al.*, 2000; Jemal *et al.*, 2002).

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse können folgende Kategorisierungen und Beurteilungswerte berücksichtigt werden, die für Blei und seine anorganischen Verbindungen (mit Ausnahme von Bleiarsenat und –chromat) gelten:

a) Pb ist durch die DFG

- in Kategorie 2 der krebserzeugenden Arbeitsstoffe eingestuft, *d.h.* Stoffe, die für den Menschen als krebserzeugend anzusehen sind, da auf Basis von Tierversuchen davon auszugehen ist, dass sie einen nennenswerten Beitrag zum Krebsrisiko des Menschen leisten (DFG, 2008).
- in Kategorie 3A der Keimzellmutagene eingestuft, *d.h.* Stoffe, für die eine Schädigung des genetischen Materials der Keimzellen beim Menschen oder im Tierversuch nachgewiesen wurde

- b) Für Pb im Urin nach beruflicher Exposition existieren weder Arbeitsplatzgrenzwerte (BGW) noch Beurteilungswerte (BAT, BLW) seitens der DFG.
- c) Daten zur ubiquitären Hintergrundbelastung an Pb im Urin der Allgemeinbevölkerung liegen in Deutschland seitens des UBA nicht vor. Der Median der Belastung der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung im Urin liegt bei 0,60 µg/L (95. Perzentil: 2,60 µg/L, $n=2.690$, Alter: ≥ 6 Jahre) (CDC, 2005).

Das eingesetzte analytische Verfahren auf Basis der Plattformgraphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) ermöglichte die Bestimmung von Pb im Urin von beruflich exponierten Personen. Die Messung der Absorption bei einer Wellenlänge von 283,3 nm erfasst den Gesamtbleigehalt im Urin. Mit dem dargestellten Verfahren, einer Nachweisgrenze von 2,0 µg/L, Präzisionen von <6% in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Widerfindung von >97% lässt sich Blei sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen. Eine umweltbedingte Bleiexposition ist mit dem Verfahren nicht möglich.

4.1.2 Ergebnisse

Insgesamt wurden 199 Proben von Beschäftigten auf ihren Gehalt an Pb im Urin nach der Schicht kontrolliert. Der Median lag unterhalb der NWG mit einem Bereich von <NWG µg/L bis 10,0 µg/L. Das 95. Perzentil der Proben betrug 2,03 µg/L (siehe [Abb. 5](#)) und lag damit im Bereich der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung (2,60 µg/L). Deutsche Vergleichsdaten liegen nicht vor.

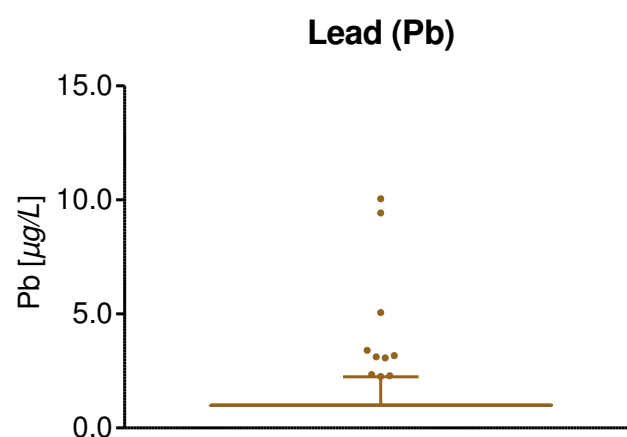


Abb. 5. Box-Plot-Darstellung der Verteilung von Blei im Urin im untersuchten Kollektiv. Dargestellt sind die 25-75%-Intervalle mit dem Median als mittlerer Linie. Die unteren und oberen Grenzen geben das 5. und 95. Perzentil an. Punkte unter- bzw. oberhalb sind jeweils darunter bzw. darüber liegende Messergebnisse einzelner Beschäftigter.

Insgesamt waren lediglich 11 der 199 Proben (5,5%) positiv für Blei.

4.2 Eisen

4.2.1 Substanzinformationen und Analytik

Eisen (Fe) spielt als funktionelle Komponente sowohl beim Sauerstofftransport als auch in zahlreichen enzymatischen Systemen wie z.B. dem Cytochrom-P450-Enzymsystem eine wesentliche Rolle. Vor dem Hintergrund, dass sowohl eine zelluläre Eisenüberladung als auch ein Eisenmangel zu kritischen, klinisch relevanten Zuständen führen kann, gibt es eine Vielzahl regulierender Mechanismen im Körper um ein physiologisch optimales Gleichgewicht zwischen freien (Fe^{2+}) und gebundenen Fe (u.a. an Ferritin oder Transferin) zu erhalten. Eine berufliche Belastung, z.B. durch Schweißrauch, kann zu einer höheren inneren Belastung mit Fe führen. Störungen im Fe-Stoffwechsel, insbesondere die Eisenüberladung bzw. eine zu große Menge an freien Fe sind mit einer Vielzahl unterschiedlicher Erkrankungen assoziiert, u.a. in der Leber, im Herz und des endokrinen Systems (Kohgo *et al.*, 2008; Whittaker *et al.*, 1997), wobei über die zu Grunde liegenden Mechanismen (oxidativer Stress, Verdrängung anderer biologisch wichtiger Metalle, etc.) derzeit lediglich spekuliert werden kann.

Für die Interpretation der erhaltenen HBM-Ergebnisse gibt es derzeit – wie für nahezu alle endogen vorhandenen Metalle und Spurenelemente – kein Arbeitsplatzgrenzwerte oder sonstige Beurteilungswerte. Im klinischen Bereich wird Fe in der Regel in 24h-Urinproben gemessen. Die Referenzwerte gesunder Personen werden hier zu $<100 \mu\text{g/L}$ angegeben. Referenzwerte für die Allgemeinbevölkerung in der Art wie Referenzwerte für Schwermetalle (z.B. Pb) liegen für (Spuren)Elemente und damit Fe seitens des UBA nicht vor.

Das eingesetzte analytische Verfahren auf Basis der Wandgraphitrohr-AAS ermöglichte die Bestimmung von Fe im Urin von beruflich exponierten Personen als auch dem Nachweis des Eisens als ubiquitär vorhandenes Element im Körper des Menschen. Die Messung der Absorption bei einer Wellenlänge von 248,3 nm erfasst den Gesamteisengehalt im Urin. Mit dem genannten Verfahren, einer Nachweisgrenze von $5,0 \mu\text{g/L}$, Präzisionen von $<5\%$ in der Serie bzw. von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von ca. 100% lässt sich Eisen sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch als auch umweltmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

4.2.2 Ergebnisse

Insgesamt wurden 199 Proben von Beschäftigten auf ihren Gehalt an Fe im Urin nach der Schicht untersucht. Der Median betrug 8,02 µg/L mit einem Bereich von <NWG bis 61,45 µg/L. Das 95. Perzentil der Proben betrug 23,05 µg/L (siehe [Abb. 6](#)). Keine der Proben lieferte einen klinisch auffälligen Befund oberhalb von ca. 100 µg/L. Werte zur Beurteilung einer Exposition am Arbeitsplatz liegen nicht vor.

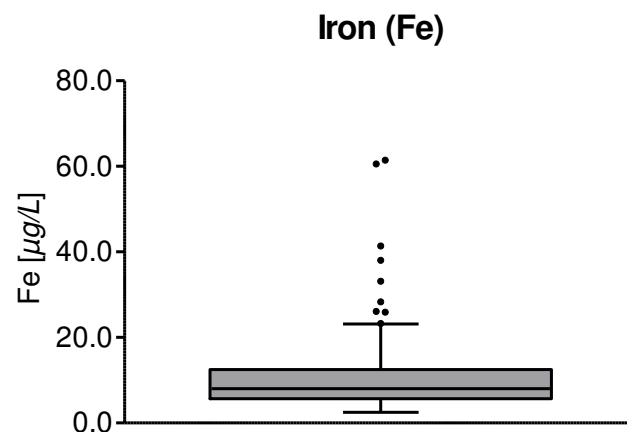


Abb. 6. Box-Plot-Darstellung der Verteilung von Eisen im Urin im untersuchten Kollektiv. Dargestellt sind die 25-75%-Intervalle mit dem Median als mittlerer Linie. Die unteren und oberen Grenzen geben das 5. und 95. Perzentil an. Punkte unter- bzw. oberhalb sind jeweils darunter bzw. darüber liegende Messergebnisse einzelner Beschäftigter.

4.3 Kobalt

4.3.1 Substanzinformationen und Analytik

Metallisches Kobalt (Co) bzw. Co in seinen unterschiedlichen Verbindungen wird für die deutsche Industrie entweder importiert oder durch Recycling-Prozesse aus Co-haltigem Altmetall zurück gewonnen. Das Anwendungsgebiet von Co und seinen Verbindungen umfasst überwiegend die Herstellung von Superlegierungen für Gas- und Flugzeugturbinen. Es wird jedoch auch als Trocknungsmittel für Farben und Lacke bzw. als Bestandteil von blauen Pigmentfarben selbst sowie bei der Herstellung von Batterieelektroden, Stahlgürtelreifen, Airbags, magnetischen Aufzeichnungsmedien und als Polymerisationskatalysator für Polyester eingesetzt (ATSDR, 2004). Die außerberufliche Exposition des Menschen wird maßgeblich durch die Nahrung beeinflusst. Co kann darüber hinaus aus Co-haltigen Prothesen freigesetzt werden (Lhotka *et al.*, 2003).

Bei der Interpretation der erhaltenen Humanbiomonitoring-Werte können folgende Kategorisierungen und Beurteilungswerte berücksichtigt werden:

- a) Die einatembaren Fraktionen von Co und Co-Verbindungen sind seitens der Deutschen Forschungsgemeinschaft in Kategorie 2 der krebserzeugenden Arbeitsstoffe eingestuft, *d.h.* Stoffe, die für den Menschen als krebserzeugend anzusehen sind, da auf Basis von Tierversuchen davon auszugehen ist, dass sie einen nennenswerten Beitrag zum Krebsrisiko des Menschen leisten (DFG, 2008).
- b) Bis zum Inkrafttreten der neuen Gefahrstoffverordnung 2005 galt für die Herstellung von Co-Pulver und Katalysatoren, Hartmetall- und Magnetherstellung (Pulveraufbereitung, Pressen und mechanische Bearbeitung nichtgesinterter Werkstücke) ein Expositionsäquivalent für kanzerogene Arbeitsstoffe (EKA-Wert) von 300 µg/L im Urin, für übrige Anwendungen von 60 µg/L (DFG, 2008). Derzeit existieren keine Arbeitsplatzgrenzwerte (BGW) oder andere Beurteilungswerte seitens der DFG.
- c) Die US-amerikanische Gesellschaft „American Conference of Governmental Industrial Hygienists“ empfiehlt einen BEI-Wert („Biological Exposure Indices“) von 15 µg/L im Urin exponierter Beschäftigter (ACGIH, 2009)

Daten zur ubiquitären Hintergrundbelastung der Allgemeinbevölkerung liegen seitens des Umweltbundesamtes in Deutschland nicht vor. Der Median der Belastung der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung liegt bei 0,41 µg/L (95. Perzentil: 1,27 µg/L, $n=2690$) (CDC, 2005).

Das eingesetzte analytische Verfahren auf Basis der Plattformgraphitrohr-AAS ermöglicht die Bestimmung von Co im Urin von beruflich exponierten Personen. Die Messung der Absorption bei einer Wellenlänge von 240,7 nm erfasst den Gesamtkobaltgehalt im Urin. Mit dem dargestellten Verfahren, einer Nachweisgrenze von 2,0 µg/L, Präzisionen von <6% in der Serie *bzw.* von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von 99% lässt sich Kobalt sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen. Eine Erfassung von Kobalt im umweltmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich ist nicht möglich.

4.3.2 Ergebnisse

Insgesamt wurden 199 Proben von Beschäftigten auf ihren Gehalt an Co im Urin nach der Schicht kontrolliert. Der Median lag unterhalb der NWG mit einem Bereich von <NWG bis 5,91 µg/L. Das 95. Perzentil der Proben lag ebenfalls unterhalb der NWG ([Abb. 7](#)). Lediglich zwei der 199 Proben (1%) lagen mit Werten von 3,59 und 5,91 µg/L oberhalb der NWG. Beide Ergebnisse lagen jedoch unterhalb der von der ACGIH als Grenze vorgeschlagenen

15 µg/L und deutlich unterhalb des bis zum Inkrafttreten der Gefahrstoffverordnung gültigen EKA-Wertes von 60 µg/L im Urin.

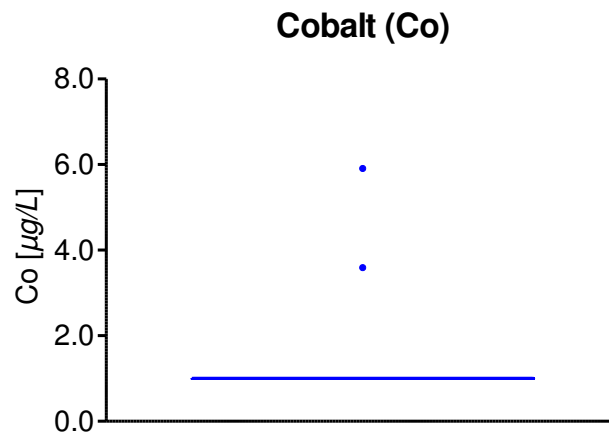


Abb. 7. Box-Plot-Darstellung der Verteilung von Kobalt im Urin im untersuchten Kollektiv. Lediglich zwei Proben waren positiv.

4.4 Mangan

4.4.1 Substanzinformationen und Analytik

Mangan (Mn) bzw. Mn in seinen unterschiedlichen Verbindungen sind eine der häufigsten Verbindungen in der Erdkruste. Industriell wird es aus den entsprechenden Erzen (vor allem Braunstein) und über die Elektrolyse von Mangan(II)sulfat hergestellt. Das Anwendungsgebiet von Mn liegt aufgrund seiner hohen Affinität zu Schwefel und Sauerstoff sowie seiner werkstoffhärtenden Eigenschaften überwiegend in der Metallindustrie. Es bildet damit einen preisgünstigen Ersatz für Nickel, kann jedoch aufgrund seiner Versprödung nur bis zu einem Gehalt zu 2,5% in Sonderwerkstoffen eingesetzt werden. Weitere Anwendungsgebiete umfassen die Herstellung von Widerständen, Bimetallen, Trockenbatterien und Farben bzw. Farbpigmente. Gebundenes Mn ist ein essentielles Spurenelement beim Menschen, Kofaktor unterschiedlicher Enzyme (*u.a.* der Mn-Superoxiddismutase, Antioxidans) und ist an der Insulinproduktion in der Bauchspeicheldrüse beteiligt. Das Meiste im menschlichen Körper vorhandene Mn ist in den Knochen gebunden. Chemisch verhält sich Mn^{2+} ähnlich dem Calcium(II)-Ion (Ca^{2+}) und kann dieses im Knochen ersetzen. Endpunkte von Mn verursachten Erkrankungen sind das Zentralnervensystem sowie aufgrund seines Einflusses auf die Ca-Homöostase und Insulinproduktion das neuroendokrine (Dopamin-abhängige) System (Wright und Baccarelli, 2007, Kim *et al.*, 2007). Für Mn im Urin nach beruflicher Exposition existieren weder Arbeitsplatzgrenzwerte (BGW) noch Beurteilungswerte (BAT, BLW) seitens der DFG. Daten

zur ubiquitären Hintergrundbelastung an Mn im Urin der Allgemeinbevölkerung liegen weder in Deutschland in der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung vor.

Bei der Interpretation der erhaltenen HBM-Werte kann berücksichtigt werden, dass Mn und seine anorganischen Verbindungen seitens der DFG in die Schwangerschaftskategorie C eingruppiert sind, *d.h.* eine fruchtschädigende Wirkung braucht bei Einhaltung des BAT-Wertes (20 µg/L, Blut) nicht befürchtet zu werden (DFG, 2008).

Das eingesetzte analytische Verfahren auf Basis der Plattformgraphitrohr-AAS ermöglicht die Bestimmung von Mn im Urin von beruflich exponierten Personen. Die Messung der Absorption bei einer Wellenlänge von 279,5 nm erfasst den Gesamtmengehalt im Urin. Mit dem genannten Verfahren, einer Nachweisgrenze von 0,5 µg/L, Präzisionen von <8% in der Serie *bzw.* von Tag zu Tag und einer relativen Wiederfindung von 100% lässt sich Mangan sensitiv, spezifisch und diagnostisch valide im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich nachweisen.

4.4.2 Ergebnisse

Insgesamt wurden 199 Proben von Beschäftigten auf ihren Gehalt an Mn im Urin nach der Schicht kontrolliert. Der Median lag unterhalb der NWG mit einem Bereich von <NWG bis 3,13 µg/L. Das 95. Perzentil lag ebenfalls unterhalb der NWG (siehe [Abb. 8](#)). Deutsche als auch US-amerikanische Vergleichsdaten zur Bewertung der Ergebnisse liegen nicht vor. Insgesamt waren lediglich 9 der 199 Proben (4,5%) positiv für Mn.

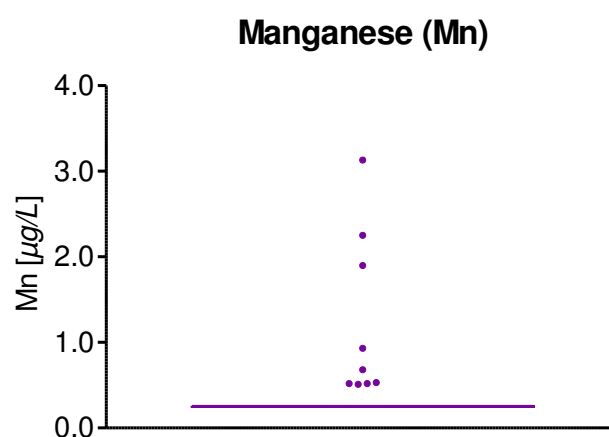


Abb. 8. Box-Plot-Darstellung der Verteilung von Blei im Urin im untersuchten Kollektiv. Dargestellt sind die 25-75%-Intervalle mit dem Median als mittlerer Linie. Die unteren und oberen Grenzen geben das 5. und 95. Perzentil an. Punkte unter- bzw. oberhalb sind jeweils darunter bzw. darüber liegende Messergebnisse einzelner Beschäftigter.

5. Literatur

Alexander BH, Checkoway H, van Netten C, Muller CH, Ewers TG, Kaufman JD, Mueller BA, Vaughan TL, Faustman EM (1996). Semen quality of men employed at a lead smelter. *Occup. Environ. Med.* 53: 411-416.

ACGIH (2009). TLVs and BEIs. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), Cincinnati, OH, USA.

ATSDR (2004). Toxicological Profile for Cobalt. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Center for Disease Control & Prevention (CDC), US Department of Health and Human Services (DHHS). Atlanta, GA, USA.

Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL (2008). Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ. Health Perspect.* 116: 39-44.

CDC (2005). Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Centers for Disease Control & Prevention (CDC), US Department of Health and Human Services (DHHS). Atlanta, GA, USA.

DFG (2008). MAK- und BAT-Werte Liste 2008. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Mitteilung 44, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

EC (2004). Dibutylphthalat, Hansen BG, Munn SJ, Allanou R, Berthault F, de Bruijn J, Luotamo M, Musset C, Pakalin S, Pellegrini G, Scheer S, Vegro S (Eds.), Institute for Health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau, European Union Risk Assessment Report, vol. 29, Luxemburg.

EC (2007). Benzylbutylphthalat, Pakalin S, Munn SJ, Aschberger K, Cosgrove O, Paya-Perez A, Vegro S (Eds.), Institute for Health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau, European Union Risk Assessment Report, vol. 76, Luxemburg.

EC (2008). Diethylhexylphthalat, Pakalin S, Aschberger K, Cosgrove O, Lund BO, Paya-Perez A, Vegro S (Eds.), Institute for Health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau, European Union Risk Assessment Report, vol. 80, Luxemburg.

Flick B, Talsness CE, Jäckh R, Buesen R, Klug S (2009). Embryotoxic potential of *N*-methylpyrrolidone (NMP) and three of its metabolites using the rat whole embryo culture system. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 237: 154-167.

Jemal A, Graubard BI, Devesa SS, Flegal KM (2002). The association of blood lead level and cancer mortality among whites in the United States. *Environ. Health Perspect.* 110: 325-329.

Kim EA, Cheong HK, Joo KD, Shin JH, Lee JS, Choi SB, Kim MO, Lee IJ, Kang DM (2007). Effect of manganese exposure on the neuroendocrine system in welders. *Neurotoxicology* 28: 263-269.

Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J (2008). Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int. J. Hematol.* 88: 7-15.

Lhotka C, Szekeres T, Steffan I, Zhuber K, Zweymuller K (2003). Four-year study of cobalt and chromium blood levels in patients managed with two different metal-on-metal total hip replacements. *J. Orthop. Res.* 21: 189-195.

Malley LA, Kennedy GL, Elliott GS, Slone TW, Mellert W, Deckardt K, Kuttler K, Hildebrand B, Banton MI, Parod RJ, Griffiths JC (2001). Chronic toxicity and oncogenicity of *N*-methylpyrrolidone (NMP) in rats and mice by dietary administration. *Drug Chem. Toxicol.* 24: 315-338.

NIH (2008). NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Bisphenol A, Center For The Evaluation of Risks To Human Reproduction (CERHR), National Toxicology Program (NTP), National Institutes of Health (NIH), US Department of Health and Human Services (DHHS), NIH Publication No. 08-5994, Research Triangle Park, NC, USA (<http://cerhr.niehs.nih.gov/chemicals/bisphenol/bisphenol-eval.html>).

Telisman S, Cvitković P, Jurasović J, Pizent A, Gavella M, Rocić B (2000). Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men. *Environ. Health Perspect.* 108: 45-53.

Whittaker P, Dunkel VC, Bucci TJ, Kusewitt DF, Thurman JD, Warbritton A, Wolff GL (1997). Genome-linked toxic responses to dietary iron overload. *Toxicol. Pathol.* 25: 556-564.

Wright RO, Baccarelli A (2007) Metals and neurotoxicology. *J. Nutr.* 137: 2809-2813.



Number of pages: 11

Validation of the extraction and ER α CALUX[®] analysis of human plasma/serum

Compiled by:
Amended by:

Harrie Besselink

Date: 1 Mai 2007

Authorised by:

Approved by:

(Head of Quality)
Emiel Felzel

(Head of Laboratory)
Harrie Besselink

Summary of results

Performance characteristic	Result
Limit of Detection (LOD) (pM/well)	0.7
Limit of Quantitation (LOQ) (pM/well)	2.4
Intralaboratory repeatability (VC_r)	18%
Intralaboratory reproducibility (VC_R)	25%
Correctness (T_v)	4.4%
Measurement uncertainty (μ)	25.4%
Adapted measurement uncertainty (μ)	50.8%
Selectivity (I)	12.4%
Robustness	$VC_r \approx VC_R$

Introduction

Steroid hormones are essential for a number of physiological processes such as reproduction, stress management, and salt and glucose balances. Because of the lipophilic nature of steroid hormones and their relatively simple chemical structure, their regulatory pathways can easily be modified by pharmacological, environmental, and/or dietary agents. Steroid hormones in clinical practice, doping control, environmental samples, and food/feed are commonly analysed using analytical-chemical and immunological methods. Such methods have the drawback that they only quantify the compound of interest and are not able to determine biological activity of unknown compounds or their metabolites, this in contrast to biological assays. Bioassays on the other hand are based on the mechanism of action of compounds and are able to measure activation or inhibition of specific cellular pathways. These in vitro detection systems are ideal for first-line screening, while positive hits can be tested more extensively.

The mechanism of action of steroid hormones is well established. Steroid hormones like estrogens are nuclear hormone receptor ligands that enter cells by diffusion where they bind to their cognate steroid receptors. Upon ligand binding these receptors become activated, and they will enter the nucleus and bind to recognition sequences in promoter regions of target genes, the hormone responsive elements. The DNA-bound receptor will activate transcription of the target gene, leading to new protein synthesis and an altered cellular functioning. The ER α CALUX[®] bioassay is a reporter gene assays developed by BDS for estrogens and estrogen-like compounds interacting with the estrogen receptor. In this reporter gene assay, DNA sequences containing specific estrogen-responsive elements are linked to the gene of an easily measurable protein (the reporter gene); in this case the firefly luciferase.

Before applying the ER α CALUX[®] bioassay for screening of clinical samples, the bioassays has to fulfil certain quality criteria. Therefore, the extraction, clean-up and bio analysis of human plasma/serum samples using the ER α CALUX[®] bioassay have to be validated. In this report, the validation of the ER α CALUX[®] analysis of human plasma/serum samples summarised. The validation protocols followed were based on the validation protocols Netherlands Standardization Institute (NEN) 7777 and (NEN) 7779, incorporating ISO 5725-2/4:1994.

Development of an extraction/clean-up method for plasma samples for the determination of estrogenic activity using the ER α CALUX[®] bioassay.

Various extraction techniques, such as shake-solvent extraction and sonication, were tested and evaluated. Furthermore, various extraction solvents, such as methyltertbutylether (MTBE) and ethylacetate, were tested and evaluated. On the basis of recovery, it was decided to proceed with shake-solvent-extraction using extraction using MTBE as a solvent.

In addition, the possibility of direct exposure of ER α CALUX[®] cells to whole plasma was tested. Although this method showed to give good results comparable to results obtained following extraction, it was decided not to proceed with this procedure. Clean-up of samples was shown not to be required. Using the extraction method of choice, the extracts are sufficiently clean to perform an ER α CALUX[®] bioassay.

Extraction procedure

Human blood is collected using heparinised blood-tubes. Following blood collection, the blood-tubes are centrifuged and the plasma fraction is collected and frozen at a minimal of -20°C. 0.5 ml of plasma is used for extraction. Following addition of water, sodium phosphate buffer, K₂CO₃/KHCO₃ buffer and MTBE, the plasma is shake-extracted (vortex) for 2 minutes. The organic MTBE layer is collected following centrifuging the incubation tube. MTBE is evaporated under a gentle stream of nitrogen after which the remaining extract is redissolved in 40 µl of DMSO (Appendix A).

ERα CALUX® cells are cultivated in optimal and controlled conditions. To obtain these conditions, cells are kept in a CO₂ incubator at 37°C in a humidified atmosphere (7.5% CO₂ and 100% humidity). Cells are subcultured to a new culture flask when 85-95% confluence has been reached since alterations in characteristics and performance of ERα CALUX® cells may occur if the cells are not subcultured in time. Prior to subculturing, cells are rinsed with PBS to remove debris. After this the cells are trypsinated. Once the cells are trypsinated, the cells are diluted in growth medium and subcultured in a new culture flask (appendix A).

For the determination of estrogenic activity in plasma extracts redissolved in DMSO, ERα CALUX® cells are seeded in microtiter plates using assay medium when 85-95% confluence has been reached. After 24 hours of incubation, cells are exposed to serial dilutions of the plasma extracts redissolved in DMSO. Standard dilutions of plasma extracts to be tested are 0.4, 1, 5, and 10-fold dilutions. Dose medium is directly prepared before exposure of the cells. All analyses are performed in triplicate and in each series of 8 samples, a procedure blank and (spiked) reference sample is included. After 24 hours of incubation the dose medium is removed and cells are lysed to release formed luciferase. Luminescence is detected in a luminometer after addition of luciferin. When performing an ERα CALUX® bioassay, every 96 well microtiterplate contains a calibration concentration series of 17β-estradiol. After measuring luminescence, the 17β-estradiol calibration concentrations are used for constructing a calibration line. Data is corrected for DMSO RLU of the assay (determined by cells that are only exposed to DMSO). By interpolation of the DMSO corrected sample in the calibration curve the sample result is expressed in an ERα CALUX® EEQ. Finally the ERα CALUX® EEQ of the sample is expressed in pg 17β-estradiol EEQ per unit processed material (appendix A).

Field of application of the ERα CALUX® bioassay and definitions

<i>Field of application</i>	The field of application of the present validation study is the analysis of estrogens and estrogen-like compounds in human plasma/serum using the ERα CALUX® bioassay.
<i>Analysis procedure</i>	The procedures used for the determination of estrogenic activity in human plasma/serum are described in BDS standard operating procedures.
<i>Measuring signal</i>	The ERα CALUX® measuring signal is Relative Light Units: RLU (the light emitted and detected by the luminometer, originating from 1 well from the 96-wells microtiterplate).
<i>Measuring result</i>	The average measuring signal of 3 wells (triplicate analysis, RLU) is intrapolated in a 17β-estradiol calibration range. As a result, the corresponding measuring result (pM EEQ; 17β-estradiol equivalents) is obtained.
<i>Measurant</i>	The ERα CALUX® measurant is pM EEQ.
<i>Range of analysis</i>	The range of analysis of the ERα CALUX® bioassay is limited by the limit of detection and the EC ₅₀ : 4 pM/well - 16 pM/well (17β-estradiol)
<i>EC₅₀</i>	The EC ₅₀ is defined as the concentration of estradiol equivalents (EEQ) at which 50% of the maximum response is observed.
<i>Analysis result sample</i>	The final results of ERα CALUX® analyses in human plasma samples are expressed either as pg EEQ/g plasma or as pg EEQ/g plasma fat. In either case, the measurant is recalculated using dilution factors applied, molecular weight of 17β-estradiol and plasma lipid content.

Validation of the extraction and ERα CALUX® bio analysis of human plasma samples.

Following the determination of the appropriate extraction/clean-up procedure and ERα CALUX® analysis, the ERα CALUX® bioassay is validated (inclusive extraction). For the validation of the analysis of human plasma for the presence of estrogens using the ERα CALUX® bioassay, the following parameters are determined:

- Limit of Detection (LOD) (pM/well)
- Limit of Quantitation (LOQ) (pM/well)
- Intralaboratory repeatability
- Intralaboratory reproducibility
- Correctness
- (adapted) measurement uncertainty
- Selectivity
- Robustness
- Specificity

For validation, the following official (Dutch) guidelines for validation were followed: NEN:7777, NEN:7778. In principle, 8 plasma samples are extracted and analysed 3 times each (a duplicate analysis on day 1; a single analysis 14 days later). In Appendix B, an exposure/analysis scheme for the validation of the ERα CALUX® is given.

a) Limit of detection (LOD)

The limit of detection (LOD) is determined using the standard deviation of the DMSO blank. Ten analysis result of the DMSO blank, in triplicate, are determined under reproducibility conditions. The standard deviation of each triplicate analysis is calculated and multiplied with a factor of 3. Next, the obtained value (RLU) is intrapolated into the E₂ calibration curve resulting into a LOD per plate. Next, the average LOD for 10 plates is calculated.

b) Limit of quantitation

The limit of quantitation (LOQ) is determined using the standard deviation of the DMSO blank. Ten analysis result of the DMSO blank, in triplicate, are determined under reproducibility conditions. The standard deviation of each triplicate analysis is calculated and multiplied with a factor of 10. Next, the obtained value (RLU) is intrapolated into the E₂ calibration curve resulting into a LOQ per plate. Next, the average LOQ for 10 plates is calculated.

c) Intralaboratory repeatability

Repeatability is the variation in measurements taken by a single person or instrument on the same item and under the same conditions.

Eight human plasma samples are extracted and analysed using the ERα CALUX® bioassay in duplicate by the same technician. The extraction/analysis schedule is given in Appendix A. Following analysis, the repeatability standard deviation S_r and repeatability variation coefficient (VC_r) are calculated according to the formulas given below.

- (1)
$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_{i1} - X_{i2})^2}{2n}}$$

S_r	= repeatability standard deviation
X_{i1}	= measuring result i^{th} determination first observation
X_{i2}	= measuring result i^{th} determination second (duplo) observation
n	= number of determinations
- (2)
$$VC_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left(\frac{X_{i1} - X_{i2}}{0.5(X_{i1} + X_{i2})} \right)^2}{2n}}$$

VC_r	= repeatability variation coefficient
X_{i1}	= measuring result i^{th} determination first observation
X_{i2}	= measuring result i^{th} determination second (duplo) observation
n	= number of determinations

d) Intralaboratory reproducibility

Reproducibility is the variation in measurements taken by a single/multiple persons or instruments on the same item at different time-points.

Eight human plasma samples are extracted and analysed using the ER α CALUX[®] bioassay in duplicate by the different technicians at various days. The extraction/analysis schedule is given in Appendix A. Following analysis, the reproducibility standard deviation S_R and reproducibility variation coefficient (VC_R) are calculated according to the formulas given below.

(3)	$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_{i1} - Y_i)^2}{2n}}$	S_R = reproducibility standard deviation X_{i1} = measuring result i^{th} determination first observation Y_i = measuring result i^{th} determination second (duplo) observation n = number of determinations
(4)	$VC_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left(\frac{X_{i1} - Y_i}{0.5(X_{i1} + Y_i)} \right)^2}{2n}}$	VC_R = reproducibility variation coefficient X_{i1} = measuring result i^{th} determination first observation Y_i = measuring result i^{th} determination second (duplo) observation n = number of determinations

e) Correctness

The correctness (Tv) is determined using 17 β -estradiol spiked and unspiked samples. Analyses are performed under intralaboratory reproducibility conditions. The average correctness is evaluated and compared to a standard value of 20% proposed by BDS.

(5)	$Tv_i = \frac{Z_{c,i} - Z_i}{c}$	Tv_i = correctness i^{th} determination $Z_{c,i}$ = i^{th} analysis result spiked sample (pM/well) Z_i = i^{th} analysis result unspiked sample (pM/well) c = spike concentration (calculated; pM/well)
(6)	$s = \sqrt{\frac{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n}}{n-1}}$	s = standard deviation X_i = measuring result (pM/well) i^{th} determination n = number of determinations
(7)	$\left Tv - Tv_{\text{stand}} \right \leq 2 \frac{s}{\sqrt{n}}$	Tv = correctness (average) Tv_{stand} = standard value correctness s = standard deviation (see formula 5) n = number of determinations

f) Measurement uncertainty

The measurement uncertainty characterizes the variation in analysis results. The measurement uncertainty is based on the intralaboratory reproducibility. The reproducibility variation coefficient (VC_R) is used as a basic estimation of the measurement uncertainty which is then corrected for observed systematic aberrations. The systematic aberration is determined using spiked reference samples (correctness).

(8)	$mu = \sqrt{VC_R^2 + Tv^2}$	mu = measuring uncertainty VC_R = reproducibility variation coefficient Tv = correctness
(9)	$amu = 2 * mo$	amu = adapted measuring uncertainty mu = measuring uncertainty

g) Selectivity

Selectivity characterises the systematic influence of matrix effects on the analysis results. A selectivity of 1 can be interpreted as no influence of the matrix occurring. Selectivity (I) is determined using 17 β -estradiol spiked and unspiked samples. Analyses are performed under intralaboratory repeatability conditions. The average selectivity is evaluated and compared to a standard value of 20% proposed by BDS.

(10)	$I_{c,i} = \frac{X_{c,i} - X_i}{c}$	$I_{c,i}$ = selectivity i^{th} determination
------	-------------------------------------	---

$X_{c,i}$ = i^{th} analysis result spiked sample (pM/well)
 X_i = i^{th} analysis result unspiked sample (pM/well)
 c = spike concentration (calculated; pM/well)

(11)

$$\left| I_c - I_{c,s \tan d} \right| \leq 2s \sqrt{\frac{2}{n}}$$

I_c = selectivity (average)
 $I_{c,stand}$ = standard value selectivity
 s = standard deviation (see formula 5)
 n = number of determinations

h) Robustness

Robustness characterizes the sensitivity of an analysis process to variations. The ratio between reproducibility and repeatability is used as a measure for robustness. Data are robust in case $VC_r \approx VC_R$.

i) Specificity

The specificity of the ER α CALUX[®] bioassay is tested by exposing the ER α CALUX[®] cells to a wide range of compounds/hormones known to either interact or not interact with the estrogen receptor and hence result in an estrogenic response in the ER α CALUX[®] bioassay.

j) Storing conditions

Storing conditions of samples containing estrogenic activity was tested using 17 β -estradiol spiked water samples. The samples are stored either at room temperature or -20°C for 3, 7, 14 and 28 days.

Results**a) LOD**

No.	LOD (pM/well)
1	0.36
2	0.99
3	0.35
4	1.64
5	1.11
6	0.83
7	0.37
8	0.83
9	0.15
10	0.11
Avg	0.7
SD	0.5

b) LOQ

No.	LOQ (pM/well)
1	1.29
2	2.45
3	3.85
4	3.75
5	2.82
6	2.49
7	2.23
8	2.83
9	0.51
10	0.57
Avg	2.4
SD	1.2

c) Intralaboratory repeatability

Sample	X ₁ ng EEQ/g plasma	X ₂ ng EEQ/g plasma	X ₃ ng EEQ/g plasma	$(X_2 - X_3)$	$(X_2 - X_3)^2$	$(X_2 + X_3)$	$\left(\frac{X_{j1} - X_{j2}}{0.5(X_{j1} + X_{j2})} \right)^2$
1	9.27	7.59	6.98	0.61	0.372	14.57	0.01
2	2.61	2.15	1.77	0.38	0.144	3.92	0.04
3	1.90	1.96	1.77	0.19	0.036	3.73	0.01
4	1.68	4.07	3.23	0.84	0.706	7.30	0.05
5	3.70	3.51	3.52	-0.01	0.000	7.03	0.00
6	4.44	3.52	2.45	1.07	1.145	5.97	0.13
7	2.20	3.19	2.50	0.69	0.476	5.69	0.06
8	1.90	2.06	1.26	0.80	0.640	3.32	0.23
sum					3.52	sum	0.53
n					8	n	8
S _r					0.47	VC _r	0.18
						VC _r (%)	18

Repeatability = 18%

d) Intralaboratory reproducibility

Sample	X ₁ ng EEQ/g plasma	X ₂ ng EEQ/g plasma	X ₃ ng EEQ/g plasma	$(X_1 - X_2)$	$(X_1 - X_2)^2$	$(X_1 + X_2)$	$\left(\frac{X_1 - X_2}{0.5(X_1 + X_2)} \right)^2$
1	9.27	7.59	6.98	1.68	2.822	16.86	0.04
2	2.61	2.15	1.77	0.46	0.212	4.76	0.04
3	1.90	1.96	1.77	-0.06	0.004	3.86	0.00
4	1.68	4.07	3.23	-2.39	5.712	5.75	0.69
5	3.70	3.51	3.52	0.19	0.036	7.21	0.00
6	4.44	3.52	2.45	0.92	0.846	7.96	0.05
7	2.20	3.19	2.50	-0.99	0.980	5.39	0.13
8	1.90	2.06	1.26	-0.16	0.026	3.96	0.01
sum $(X_1 - X_2)^2$					10.64		0.97
n					8	n	8
S _R (ng/g prod)					0.82	VC _R	0.25
						VC _R (%)	25

Reproducibility = 25%

e) Correctness

No	c E2 (ng/ml)	Zi E2 (ng/ml)	Zc,i E2 (ng/ml)	Zc,i-Zi	Tv,i
1	20	0.5	24.2	23.7	1.19
2	20	0.3	21.5	21.2	1.06
3	20	0.2	20.2	20.0	1.00
4	60	0.2	69.8	69.6	1.16
5	60	0.2	49.8	49.6	0.83
6	60	0.1	55.4	55.3	0.92
7	20	0.2	20.2	19.9	1.00
8	20	0.2	23.6	23.5	1.17
9	20	0.1	21.5	21.4	1.07
				avg Tv	1.04
				%Tv	4.37

Correctness = 4.37%

The determined correctness is below the standard selectivity proposed by BDS and complies to quotation (11)

$$|T_v - T_{v_{\text{stand}}}| \leq 2 \frac{s}{\sqrt{n}}$$

f) Measurement uncertainty

T_V	T_V^2	VC_R	VC_R^2	$\sqrt{VC_R^2 + TV^2}$	$2 * \sqrt{VC_R^2 + TV^2}$
4.37	19.0969	25	625	25.4	50.8

Measurement uncertainty = 25.4%

Expanded measurement uncertainty = 50.8%

g) Selectivity

No	c E2 (ng/ml)	Xi E2 (ng/ml)	Xc,i E2 (ng/ml)	Xc,i-Xi	Ic,i
1	20	0.47	24.2	23.7	1.19
2	20	0.27	21.5	21.2	1.06
avg I					1.12
%I					12.4

Selectivity = 12.4%

The determined selectivity is below the standard selectivity proposed by BDS and complies to quotation (11)

$$\left| I_c - I_{c,s \tan d} \right| \leq 2s \sqrt{\frac{2}{n}}$$

h) Robustness

Data are robust in case $VC_r \approx VC_R$. For ER α CALUX[®] analysis of human plasma, the VC_r and VC_R are found to be 0.18 and 0.25 respectively. Hence, it can be concluded that the methods under investigation for the extraction and analysis of estrogenic activity in human plasma using the ER α CALUX[®] bioassay are robust.

i) Specificity

To determine the specificity of the ER α CALUX[®] bioassay, various pure chemicals were tested in the bioassay. Some of these chemicals are known to have estrogenic potential whereas some chemicals are known not to interact with the estrogen receptor. In the table below, various chemicals and their ability to activate the ER α CALUX[®] bioassay are given.

Compound	ER α CALUX [®] agonist	Compound	ER α CALUX [®] agonist
DHT	-	17- α estradiol	+
Testosterone	-	EE2	+
17- β estradiol	+	Diethylstilbestrol (DES)	+
Progesterone	-	Estrone	+
2,3,7,8-TCDD	-	Nandrolone	-

Appendix A**Protocol list**

Protocol number	Title
P-bds-045a	Cultivation and maintenance of ER α CALUX [®] cells
P-bds-006a	Extraction of plasma for the determination of estrogenic and/or androgenic activity using the ER _(α/β) /AR CALUX [®] bioassay
P-bds-055	Analysis of estrogen receptor mediated luciferase activity in ER α CALUX [®] cells (3 days protocol)

Appendix B

Extraction/exposure/analysis scheme

Sample	Performance characteristic	Week 1		Week2		Week3		Week4	
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8
#1	repeatability / reproducibility	X_1X_2				Y			
#2	repeatability / reproducibility	Y				X_1X_2			
#3	repeatability / reproducibility		X_1X_2				Y		
#4	repeatability / reproducibility		Y				X_1X_2		
#5	repeatability / reproducibility			X_1X_2				Y	
#6	repeatability / reproducibility			Y				X_1X_2	
#7	repeatability / reproducibility				X_1X_2				Y
#8	repeatability / reproducibility				Y				X_1X_2
	correctness	$Z_1, Z_{c,1}$	$Z_2, Z_{c,2}$	$Z_3, Z_{c,3}$	$Z_4, Z_{c,4}$	$Z_5, Z_{c,5}$	$Z_6, Z_{c,6}$	$Z_7, Z_{c,7}$	$Z_8, Z_{c,8}$
	selectivity	$X_1X_{c,1}$ $X_2X_{c,2}$							
	LOD / LOQ	Y_{DMSO}	Y_{DMSO}	Y_{DMSO}	Y_{DMSO}	Y_{DMSO}	Y_{DMSO}	Y_{DMSO}	Y_{DMSO}