

AP 7 – Testung Gefährdungspotential: Human- und Ökotox

Beteiligte Partner: UFZ, BfR, IBE, IME, UBA, WWU

Das Arbeitspaket wird die human- und ökotoxikologischen Gruppierungen aus AP3 experimentell validieren. Dazu werden bestehende, standardisierte Protokolle verwendet, die für neue Materialien überprüft und ggf. angepasst werden. Für Materialien, für die nach AP3 Wissenslücken bestehen, werden diese durch neue experimentelle Daten geschlossen.

Durch die einheitliche, experimentelle Prüfung der Gruppierungskriterien des AP3 werden eine Vergleichbarkeit der eingesetzten Nanomaterialien erreicht und valide Dosis-Wirkungsbeziehungen etabliert. Zur Validierung der Gruppierungen werden ausgewählte Materialien, für die toxikologische Daten bereits vorhanden sind, erneut mit den Methoden des Projektes getestet. Mit den Daten aus AP7 wird die Handhabbarkeit der Gruppierungen geprüft und neue Materialien anhand der neuen toxikologischen Resultate zugeordnet.

AP7a Testung Humantox

Beteiligte Partner: IBE, BfR, WWU

In diesem Teil des Projektes werden die Protokolle zur Testung der Humantoxizität überprüft und auf neue Materialien übertragen bzw. angepasst. Mit den standardisierten Protokollen können in Abstimmung mit AP3a für ausgewählte Materialien Daten zur Humantoxikologie erhoben werden.

Die Herausforderung der Testung von Nanomaterialien bestehen in der Kontamination, Sterilisierung, Dispergierung und Interferenz. Komplexe Materialien können mit unterschiedlichsten Mikroorganismen wie Bakterien, Pilzen oder Hefen kontaminiert sein. Daher müssen Nanomaterialien vor dem Test sterilisiert werden. Auch bakterielle Endotoxine stören den Test und täuschen falsch positive Wirkungen vor. Zur Inkubation von Zellkulturen mit Materialproben muss das Material vollständig in biologisches Medium eingebracht werden. Das erfolgt für pulverförmige Materialien entweder durch Ultraschall oder langsames Einrühren. Dabei können Materialien Wasser aufnehmen, lösliche Bestandteile abgeben und Proteine binden. Dieser Prozess verändert die Materialeigenschaften was wiederum eine Einstufung in eine Gruppierung signifikant beeinflussen kann.

Nach der Dispersion wird die Stabilität der Dispersion geprüft und die Veränderung des Materials durch Dispergierung charakterisiert.

Partikel können Toxizitätsmessungen durch intrinsische optische Eigenschaften oder die Bindung von Proteinen stören. Zum Test der Interferenz werden unterschiedliche Konzentrationen der Materialien mit farbigen oder fluoreszierenden, zellfreien Produkten der toxischen Reaktionen inkubiert und die Messwerte mit unbehandelten Kontrollen verglichen.

In AP7a werden Nanomaterialien mit den etablierten Testsystemen der Partner untersucht. In-vitro Toxizitäts-Untersuchungen von Nanomaterialien der WWU erfolgen durch eine Testmatrix aus drei standardisierten Tests zellulärer Reaktionen wie kurzfristige Stressreaktionen, mittelfristige Beeinträchtigung der Zellviabilität, Expression von Entzündungsmarkern oder Zelltod (Oxidativer Stress/DCF, Zellviabilität/WST-8, Zelltod/LDH) und 5 verschiedenen Zelllinien (NIH 3T3, RLE-6NT, NRK-52E, RAW 264.7, A549). IBE verwendet das Vektormodell zur Analyse der toxischen Belastung von Alveolarmakrophagen und Makrophagen Zelllinien.

AP7a wird konzentrationsabhängige, toxische Effekte der Nanomaterialien liefern. Dabei wird möglichst der Übergangsbereich vom no-effect- zum effect Level abgebildet, so dass ein Ranking der biologischen bzw. toxischen Wirkungen erfolgen kann. Die Ergebnisse werden zur Einordnung und Gruppierung von neuen Materialien mit unzureichenden toxikologischen Daten und zur Validierung der Hypothesen zur Gruppierung ausgewählter Materialien verwendet.

AP 7b – Testung Ökotoxologie

Beteiligte Partner: IME, UFZ, UBA

Zielstellung

Ziel von AP7b ist es, die in AP3b aufgestellten Gruppierungen zur Ökotoxizität von NM experimentell zu überprüfen und ggf. zu modifizieren: Dabei werden die NM aus AP 1 herangezogen und diese nach standardisierten OECD-Testrichtlinien zur Ökotoxikologie untersucht.

Arbeitsplan

Schritt 1: Auswahl der NM und erforderlichen Testsysteme

Die Auswahl richtet sich nach den für die Gruppierung in AP3 als relevant identifizierten physikalisch-chemischen Eigenschaften. Die Untersuchungen umfassen diejenigen Testsysteme, die relevant für die Gruppierung sein sollten.

Schritt 2: Testung und Validierung der Gruppierung

Die Testverfahren wurden unter den Projektpartnern aufgeteilt, so dass eine Beeinflussung der Ergebnisse durch eine unterschiedliche Testdurchführung trotz angestrebter Harmonisierung minimiert ist und die Gruppierungen deutlicher herausgestellt werden sollten. In die Untersuchung werden terrestrische Testsysteme mit Mikroorganismen, Pflanzen und Regenwürmern sowie aquatische Testsysteme mit Algen, Daphnien (akut, Reproduktion), Wasserlinsen (mit und ohne Sediment) und der Fischembryotest einbezogen.



Abbildung 1: Auswahl von Testorganismen