Ye Initial

MILES

8EHQ-1093-12726

93 OCT 14 AM 8:25

Miles Inc.
Mobay Road
Pittsburgh, PA 15205-9741
Phone: 412 777-2000

Contains No CBI

October 7, 1993

Document Processing Center (TS-790)
Attention: Section 8(e) Coordinator
Office of Toxic Substances
U.S. Environmental Protection Agency
401 M Street, SW
Washington, DC 20460

A

Dear Sir:

Miles Inc. is submitting two dermal sensitization reports recently received from our parent company Bayer AG on 2,2'-Dibenzamido diphenyl disulfide (CAS# 135-57-9).

The first study used the Buehler epicutaneous method on male guinea pigs to assess the dermal sensitizing potential of 2,2'-Dibenzamido diphenyl disulfide, with 25% concentrations of the test material used for both the induction and challenge phase doses. As no dermal responses were noted at all, the test material was clearly negative in this assay.

However, the test material was also tested using a Magnusson and Kligman Maximization test. Here, the concentrations used were as follows: Intradermal induction - 2.5%; Topical induction - 50%; First challenge - 50%; Second challenge - 10%. Following the first challenge, 12/20 animals in the treatment group exhibited positive skin reactions compared to 1/10 animals in the control group. After the second challenge, 11/20 animals responded in the treatment group versus 1/10 in the control group. These results indicate that 2,2'-Dibenzamido diphenyl disulfide is a potential dermal sensitizer. A literature search on this compound failed to find any references that mention a dermal sensitizing potential and therefore we are submitting these findings.

We will communicate this information via our hazard communication program.

The information submitted in these reports is not considered Confidential Business Information.

If you have any questions, please contact me.

8EHQ-93-12726
INIT 10/14/93

Sincerely,

Donald W Lamb

RECEIVED 10-01-93

Donald W. Lamb, Ph.D
Vice President
Product Safety and Regulatory Affairs
(412-777-7431)

A:93-2-18.ltr:vmk
Enclosure
Certified Mail: P 921 654 232

88940000012

62 pgs.

Encl. 6(b)

BAYER AG
Fachbereich Toxikologie
Friedrich-Ebert-Str. 217-333
D-5600 Wuppertal 1

Bericht Nr. 20497

Berichtsdatum: 30.7.1991

BAYER AG

2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid

UNTERSUCHUNGEN AUF HAUTSENSIBILISIERENDE WIRKUNG BEI MEERSCHWEINCHEN

(Epikutantest nach Buehler)

BAYER AG

von

Dr. L. Diesing

BAYER AG

Studiennummer: T 7039546

BAYER AG

Solange die in diesem Bericht enthaltenen Ergebnisse nicht publiziert worden sind, dürfen sie nur mit Einverständnis der BAYER AG verwendet werden. Eine weitere Vervielfältigung dieses Berichtes - auch auszugsweise - ist nicht gestattet.

93 OCT 14 AM 8:

Inhaltsverzeichnis

1. UNTERSCHRIFTEN 4

2. ZUSAMMENFASSUNG 5

3. EINLEITUNG 6

4. STUDIENIDENTIFIKATION UND VERANTWORTLICHKEITEN 6

4.1. Studienidentifikation 6
4.2. Verantwortlichkeiten 6

5. MATERIAL UND METHODEN 7

5.1. Prüfmuster 7
5.2. Versuchstiere 8
5.2.1. Spezies und Stamm 8
5.2.2. Eingewöhnung 8
5.2.3. Gesundheitsstatus 8
5.2.4. Alter und Körpergewicht 8
5.3. Haltungsbedingungen 9
5.3.1. Unterbringung der Tiere 9
5.3.2. Räumlichkeiten 9
5.3.3. Reinigung, Desinfektion 9
5.3.4. Klimabedingungen 9
5.3.5. Ernährung 10
5.4. Versuchsmethoden 10
5.4.1. Richtlinien 10
5.5. Versuchsdurchführung 11
5.5.1. Prüfmusterformulierung 11
5.5.2. Gruppierung und Identifikation der Versuchstiere 11
5.5.3. Dosiswahl 11
5.5.4. Induktion der Sensibilisierung 12
5.5.5. Auslösung der Sensibilisierung 12
5.5.6. Befundung der Hautreaktion 13
5.5.7. Bewertung der Ergebnisse 13
5.5.8. Allgemeine Untersuchungen 13

6. ERGEBNISSE 14

6.1. Allgemeine Untersuchungen 14
6.2. Prüfung auf hautsensibilisierende Wirkung 14

7. DISKUSSION UND BEWERTUNG 15

8. LITERATUR 16

BAYER AG

9. ANHANG..... 17

9.1. Einzelbefunde zur Dosisfindung (Vorversuch)..... 17
9.2. Hautbefunde im Hauptversuch..... 18
9.2.1. Einzelbefunde der Induktionen..... 18
9.2.2. Einzelbefunde der Provokation..... 19
9.3. Körpergewichte..... 20

Randomisierungsliste..... 21
Futterzusammensetzung..... 22

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

1. UNTERSCHRIFTEN

Prüfleiter: Dr. L. Diesing — 19. 7. 91 Datum

Abteilungsleiter: Dr. W. Flucke — 19. 7. 91 Datum

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

2. ZUSAMMENFASSUNG

An männlichen Meerschweinchen wurde mit dem Epikutantest nach BUEHLER geprüft, ob das Prüfmuster 2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid hautsensibilisierende Eigenschaften besitzt.

Der Versuch wurde mit folgenden Prüfmusterkonzentrationen durchgeführt:

1. - 3. Induktion:	25 %
Provokation:	25 %

Das Prüfmuster wurde in Propylenglykol (1,2-Propandiol) als Suspension formuliert.

Weder nach den Induktionen noch nach der Provokation traten Hautreaktionen bei den Tieren der Kontrollgruppen und Prüfmustergruppe auf.

Das Prüfmuster besitzt somit unter den Prüfbedingungen des Epikutantests kein hautsensibilisierendes Potential.

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

3. EINLEITUNG

Das Prüfmuster 2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid wurde mit dem Epikutantest nach BUEHLER [1] auf hautsensibilisierende Eigenschaften bei Meerschweinchen untersucht.

Der Versuch wurde im Institut für Toxikologie Landwirtschaft des Fachbereichs Toxikologie der BAYER AG, Wuppertal, Friedrich-Ebert-Str. 217-333, durchgeführt.

4. STUDIENIDENTIFIKATION UND VERANTWORTLICHKEITEN

4.1. Studienidentifikation

Studien-Nr.:	T 7039546
Zeitraum der Untersuchung:	02.10.90 - 02.11.90

4.2. Verantwortlichkeiten

Institutsleiter Toxikologie Landwirtschaft:	Dr. L. Machemer
Abteilungsleiter:	Dr. W. Flucke
Prüfleiter:	Dr. L. Diesing
Archivierung der Versuchsdaten:	Dr. E.A. Löbbecke

BAYER AG

5. MATERIAL UND METHODEN

5.1. Prüfmuster

Prüfmusterbezeichnung: 2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid

Weitere Bezeichnungen: Mastiziermittel DBD; KA OE 11

Hersteller: Bayer AG

Haltbarkeit: unbegrenzt

Aggregatzustand: fest

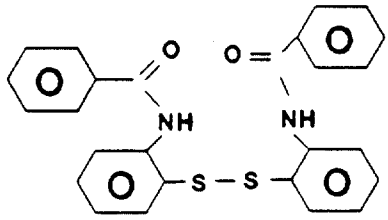
Aussehen: graugrünes Pulver

Aufbewahrung: unter Lichtabschluß bei Zimmertemperatur

Chemische Bezeichnung: N,N'-Dithio-2,1-pheylene-bis-benzamide (CAS)

CAS-Nr.: 135-57-9

Konstitutionsformel:



Summenformel: $C_{26}H_{20}N_2O_2S_2$

Molare Masse: 456.6 g/mol

BAYER AG

5.2. Versuchstiere

5.2.1. Spezies und Stamm

Es wurden SPF-gezüchtete Meerschweinchen des Stammes Bor:DHPW der Versuchstierzucht Winkelmann, Borchen/Kreis Paderborn eingesetzt. Einschließlich eines Dosisfindungsversuchs zur Ermittlung der Induktions- und Provokationskonzentrationen wurden insgesamt 41 männliche Tiere eingesetzt.

Tiere dieses Meerschweinchenstammes werden bei der BAYER AG seit Jahren für toxikologische Studien verwendet. Der Gesundheitsstatus der Zucht wird routinemäßig stichprobenweise auf die wichtigsten spezifischen Infektionserreger untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden bei der BAYER AG aufbewahrt.

Die Empfindlichkeit des Meerschweinchenstammes für Sensibilisierungstests ist bestätigt [2] und wird in regelmäßigen Zeitabständen überprüft. Die entsprechenden Unterlagen werden im Archiv des Fachbereichs Toxikologie der Bayer AG aufbewahrt.

5.2.2. Eingewöhnung

Nach dem Eingang wurden die für diese Studie vorgesehenen Tiere bis zum Behandlungsbeginn mindestens 7 Tage an die Haltungsbedingungen adaptiert; der Gesundheitszustand wurde überwacht.

5.2.3. Gesundheitsstatus

Es wurden nur gesunde, symptomfreie Tiere für den Versuch verwendet. Eine Vakzinierung oder Behandlung der Tiere mit Antiinfektiva fand weder vor der Tierlieferung noch während der Adaptationszeit oder Versuchszeit statt.

5.2.4. Alter und Körpergewicht

Bei Versuchsbeginn hatten die Meerschweinchen ein mittleres Gewicht von 351 g (299 bis 403 g). Dieses Gewicht entspricht einem Alter von 5 bis 8 Wochen.

BAYER AG

5.3. Haltungsbedingungen

5.3.1. Unterbringung der Tiere

Während der Adaptations- und Versuchszeit wurden die Tiere konventionell in Makrolon®-Käfigen Typ IV gehalten [3], während der Adaptationszeit zu 5, während der Versuchszeit zu 4 Tieren pro Käfig. Die Käfige wurden im Abstand von 2 Tagen gegen Käfige mit sauberer Einstreu gewechselt.

Als Einstreumaterial wurde staubarmes Holzgranulat verwendet (Lieferant: Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest). Das Holzgranulat wurde stichprobenweise auf Schadstoffgehalte untersucht. Die Unterlagen über die Untersuchungsergebnisse werden bei der BAYER AG aufbewahrt. Die Analysenergebnisse ergaben keine Anhaltspunkte für eine Beeinflussung des Versuchsziels.

5.3.2. Räumlichkeiten

Alle Tiere dieser Studie waren in demselben Tierraum untergebracht, in dem sich auch Meerschweinchen aus anderen Sensibilisierungsstudien befanden. Durch eine ausreichende räumliche Trennung, Käfigkennzeichnung und entsprechende Organisation der Arbeitsabläufe wurde eine Verwechslung von Tieren ausgeschlossen.

5.3.3. Reinigung, Desinfektion

Der Tierraum wurde täglich mit einem Besen ausgefegt und einmal pro Woche gründlich mit Wasser gereinigt. Mindestens einmal pro Monat wurde der Tierraum mit Zephirol 10 % desinfiziert (10 g Benzalkoniumchlorid pro 100 g; Anwendungsverdünnung: 2 %, d.h. 20 ml auf 1 l Wasser). Dabei wurde eine Kontamination des Futters und der Kontakt mit Versuchstieren ausgeschlossen. Schädlingsbekämpfungen wurden in den Tierräumen nicht durchgeführt.

5.3.4. Klimabedingungen

Die Klimabedingungen in dem Tierraum waren standardisiert:

Raumtemperatur:	22 ± 2 °C
relative Luftfeuchtigkeit:	ca. 50 %
hell/dunkel-Rhythmus:	12-stündig, von 6 bis 18 Uhr MEZ künstliche Beleuchtung
Luftdurchsatz:	ca. 10 mal pro Stunde

Gelegentliche Abweichungen von diesen Vorgaben, z.B. infolge Reinigung des Tierraums, kamen vor. Sie hatten keinen erkennbaren Einfluß auf den Versuchsablauf.

5.3.5. Ernährung

Die Ernährung bestand aus "Altromin®3020 - Haltungsdiät für Meerschweinchen" (Hersteller: Altromin GmbH, Lage) und aus Leitungswasser. Futter und Wasser standen zur ad-libitum-Aufnahme zur Verfügung. Im Anhang auf Seite 22 ist die nutritive Zusammensetzung von Altromin 3020 aufgeführt. Es wurden Pellets mit einem Durchmesser von 3 mm (Altromin 3022) gefüttert.

Zur Tränkung wurden während der Versuchszeit je Käfig zwei 700 ml fassende Polycarbonatflaschen verwendet [3, 4]. Das Leitungswasser hatte Trinkwasserqualität [5]. Unterlagen über die Analysen bzgl. der Einhaltung der Spezifikation des Trinkwassers werden bei der BAYER AG aufbewahrt. Die vorliegenden Daten ergaben keine Anhaltspunkte für eine Beeinflussung des Versuchsziels.

BAYER

5.4. Versuchsmethoden

5.4.1. Richtlinien

OECD-Guideline for Testing of Chemicals; Section 4: Health Effects, No. 406: "Skin Sensitization" [6]

EG-Richtlinie 84/449: Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe, "Akute Toxizität - Sensibilisierung der Haut" [7]

Die Untersuchungen wurden nicht nach den GLP-Grundsätzen der Guten Laborpraxis (GLP) durchgeführt. Abweichend von den GLP-Vorschriften wurden Stabilität und Homogenität des Prüfmusters in der Applikationsformulierung nicht analytisch untersucht.
Überprüfungen der Versuchsdurchführung durch die Qualitätssicherungseinheit fanden nicht statt. Die Bewertung der Ergebnisse ist dadurch nicht eingeschränkt.

Die Untersuchungen wurden in einem Versuchsplan festgelegt, der ebenso wie die weiteren Versuchsunterlagen im Archiv des Instituts für Toxokologie der BAYER AG aufbewahrt wird.

BAYER AG

5.5. Versuchsdurchführung

5.5.1. Prüfmusterformulierung

Das Prüfmuster wurde in Propylenglykol (1,2-Propandiol) als Suspension formuliert. Eine 50%ige Formulierung ließ sich nicht herstellen.

5.5.2. Gruppierung und Identifikation der Versuchstiere

Für den Hauptversuch wurden per random drei Tiergruppen mit je 12 Tieren gebildet: zwei Kontrollgruppen (Tier-Nr. 1 - 12 bzw. 13 - 24) und eine Prüfmustergruppe (Tier- Nr. 25 - 36). Die zweite Kontrollgruppe wurde für eine eventuell notwendige 2. Provokation bereitgehalten, in der gegebenenfalls nicht eindeutige Ergebnisse der 1. Provokation kontrolliert werden können, oder, bei positivem Ausgang der 1. Provokation, Konzentrationsabhängigkeiten untersucht werden können.

Die Erstellung der Randomisierungsliste erfolgte mit Hilfe des "Subprogram Randu" aus dem "Scientific Subroutine Package" von IBM auf einer IBM-Rechenanlage (Randomisierungsliste des Instituts für Biometrie der BAYER AG siehe Seite 21 im Anhang).

Die Identifizierung der Tiere erfolgte durch Käfigkennzeichnung (Käfigkarten, auf denen Prüfmuster, Studiennummer, Tiernummer, Dosis und Geschlecht angegeben wurden) und durch individuelle Markierung mit wäßriger Pikrinsäurelösung.

5.5.3. Dosiswahl

Die Dosiswahl für die Induktions- bzw. Provokationsbehandlung erfolgte aufgrund der im Anhang dargestellten Ergebnisse eines Dosisfindungsversuchs (siehe Seite 17).
Für den Hauptversuch wurden folgende Konzentrationen gewählt:

1. - 3. Induktion:	25 %
Provokation:	25 %

BAYER AG

5.5.4. Induktion der Sensibilisierung

Die Tiere wurden dreimal im Abstand von sieben Tagen mit dem Prüfmuster dermal behandelt.
Das Applikationsvolumen betrug jeweils 0.5 ml pro Tier. Einen Tag (24h) vor jeder Behandlung wurden die entsprechenden Körperstellen geschoren.
Den Tieren der Prüfmustergruppe wurde im Bereich der linken Flanke ein mit 25%iger Prüfmusterformulierung getränktes, hypoallergenes Wundpflaster aufgelegt, das mit einem Fermoflex-Selbstklebeband (Transatlantic GmbH, Schwarzenbach) auf der Haut fixiert wurde.
Die Tiere der Kontrollgruppen wurden in gleicher Weise behandelt, jedoch enthielten die Pflaster kein Prüfmuster, sondern eine entsprechende Menge Formulierungsmittel.
Nach einer Expositionszeit von 6 Stunden wurden die Pflasterverbände entfernt und Prüfmusterreste mit physiolog. Kochsalzlsg. abgewaschen.

Die Behandlungsfelder wurden 24 Stunden nach Beginn der Applikation makroskopisch beurteilt.

5.5.5. Auslösung der Sensibilisierung

Vier Wochen nach der ersten bzw. zwei Wochen nach der dritten (letzten) epikutanen Induktion erfolgte die Provokation.

Einen Tag zuvor wurden die Tiere an Rücken und Flanke geschoren. Den Tieren der 1. Kontrollgruppe und der Prüfmustergruppe wurde ein mit 25%iger Prüfmusterformulierung getränktes hypoallergenes Wundpflaster auf die linke Flanke gelegt und mit einem Fermoflex-Selbstklebeband auf der Haut fixiert. Auf die rechte Flanke wurde zum Vergleich ein mit Formulierungsmittel getränktes Pflaster aufgebracht. Das Applikationsvolumen betrug jeweils 0.5 ml.

Am Ende der sechsstündigen Expositionszeit wurde die Haut der Tiere im Bereich der Behandlungsfelder mit Pilcacreme (Olivin GmbH, Hamburg) chemisch enthaart.

BAYER AG

5.5.6. Befundung der Hautreaktion

Die Befundung der Hautreaktionen wurde 24 Stunden nach den Induktionsexpositionen und 24, 48 und 72 Stunden nach Beginn der Provokation entsprechend folgendem Schema durchgeführt:

0 = keine Reaktion
0.5 = stellenweise leichte Rötung
1 = leichte Rötung
2 = mäßige Rötung
3 = starke Rötung

Gegebenenfalls auftretende, nicht mit diesem Schema erfaßbare Hautbefunde werden deskriptiv protokolliert.

Bei dem Dosisfindungsversuch wurde das Schema ebenfalls verwendet.

5.5.7. Bewertung der Ergebnisse

Zur Bewertung, ob und in welchem Ausmaß eine Sensibilisierung vorlag, wurden in der Prüfmuster- und der Kontrollgruppe die Anzahl der reagierenden Tiere und die Reaktionsstärke festgestellt und miteinander verglichen.
Als Kriterium für eine erfolgte Sensibilisierung wurde das Auftreten von Hautreaktionen bei den Prüfmustertieren in höherer Inzidenz und Intensität als bei den Kontrolltieren gewertet.

5.5.8. Allgemeine Untersuchungen

Die Tiere wurden über die gesamte Versuchsdauer mindestens einmal täglich hinsichtlich klinischer Symptome beobachtet.

Die Körpergewichte wurden vor Versuchsbeginn und am Tag 31 erfaßt.

BAYER AG

6. ERGEBNISSE

6.1. Allgemeine Untersuchungen

Die Behandlung wurde von allen Tieren symptomlos vertragen.

Ein Kontrolltier (Nr. 20) starb am 18. Versuchstag. Es zeigte folgenden Sektionsbefund: Riß in der Leber, Leber fleckig; geronnenes Blut im Bauchraum; Lunge fleckig, von fester Konsistenz.

Ansonsten traten keine Todesfälle auf.

Die Entwicklung des Körpergewichts der Tiere in der Behandlungsgruppe entsprach der der Kontrollgruppen (siehe Seite 20 im Anhang).

6.2. Prüfung auf hautsensibilisierende Wirkung

Die Hautbefunde 24 h nach den Induktionen sind auf der Seite 18 im Anhang aufgeführt.
Die Einzelergebnisse der Provokationsexposition sind auf Seite 19 im Anhang aufgeführt. Weder in der Kontroll- noch in der Prüfmustergruppe traten Hautreaktionen auf.

BAYER AG

7. DISKUSSION UND BEWERTUNG

2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid wurde an Meerschweinchen in einem epidermalen Test nach BUEHLER auf hautsensibilisierende Eigenschaften untersucht. Die Induktionsexpositionen und die Provokation wurde mit einer 25%igen Prüfmusterformulierung durchgeführt. Es traten weder in der Kontroll- noch in der Prüfmustergruppe Hautreaktionen auf.

2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid besitzt somit unter den Prüfbedingungen des Epikutantests kein allergenes Potential.

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

8. LITERATUR

1. BUEHLER, E.V.:
   Delayed contact hypersensititivity in the guinea pig.
   Arch. Dermatol. 91, 171-175 (1965)

2. DIESING, L.:
   1-Chlor-2,4-Dinitrobenzol. Untersuchungen zur Brauchbarkeit des Meerschweinchenstammes DHPW für den Einsatz bei Prüfungen auf hautsensibilisierende Wirkung.
   BAYER-Bericht Nr. 19316 vom 27.7.1990

3. MEISTER, G:
   Versuchstierkäfige für die Haltung und Zucht von Kleinnagern.
   Zschr. Versuchstierkunde 7, 144-153 (1965)

4. SPIEGEL, A., R. GÖNNERT:
   Neue Käfige für Mäuse und Ratten.
   Zschr. Versuchstierkunde 1, 38-46 (1961)

5. Trinkwasser-Verordnung vom 22.5.1986
   Bundesgesetzblatt Nr. 22, herausgegeben am 28.5.1986, Teil 1, Seite 760

6. OECD-Guideline for Testing of Chemicals; Section 4: Health Effects, No. 406: "Skin Sensitisation", adopted: 12th May 1981

7. EG-Richtlinie 84/449: Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe, "Akute Toxizität - Sensibilisierung der Haut".
   Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften
   Nr. L251/113-117 vom 19.9.1984

BAYER AG

9. ANHANG

9.1. Einzelbefunde zur Dosisfindung (Vorversuch)

Es wurden 4 Konzentrationen an 5 Meerschweinchen geprüft. Jedes Tier erhielt 4 mit 0.5 ml Prüfmusterformulierung getränkte Pflaster unter Okklusivbedingungen für 6 Stunden appliziert. Nach 24, 48 und 72 Stunden wurden die Hautreaktionen beurteilt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tier-Nr.	3 %			6 %			12 %			25 %		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Induktionskonzentration: 25 %

Provokationskonzentration: 25 %

BAYER AG

9.2. Hautbefunde im Hauptversuch

9.2.1. Einzelbefunde der Induktionen

Prüfmusterkonzentration: 25 %

Tier-Nr.	Induktion 1	Induktion 2	Induktion 3
1. Kontrollgruppe			
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0
2. Kontrollgruppe			
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0
21	0	0	0
22	0	0	0
23	0	0	0
24	0	0	0
Prüfmustergruppe			
25	0	0	0
26	0	0	0
27	0	0	0
28	0	0	0
29	0	0	0
30	0	0	0
31	0	0	0
32	0	0	0
33	0	0	0
34	0	0	0
35	0	0	0
36	0	0	0

BAYER AG

9.2.2. Einzelbefunde der Provokation

Prüfmusterkonzentration: 25 %

Tier-Nr.	1. Kontrollgruppe					
	Prüfmusterpflaster			Kontrollpflaster		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
	Prüfmustergruppe					
25	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0	0

BAYER AG

9.3. Körpergewichte
(in Gramm)

Kontrollgruppen			Prüfmustergruppe		
Tier Nr.	Tag 0*	Tag 31	Tier Nr.	Tag 0*	Tag 31
1	305	496	22	308	529
2	366	560	26	335	529
3	352	597	27	383	680
4	403	613	28	391	594
5	321	602	29	328	640
6	359	650	30	339	578
7	365	641	31	367	635
8	302	492	32	387	596
9	337	566	33	336	574
10	311	516	34	364	565
11	395	636	35	374	654
12	356	607	36	367	658
13	299	569			
14	314	559			
15	359	643			
16	343	627			
17	349	670			
18	347	615			
19	374	628			
20	384	+			
21	332	572			
22	338	618			
23	372	655			
24	395	697			
x̄	348	601	x̄	357	603
s	30	53	s	27	50

* = Tag der 1. Applikation

\+ = Tier gestorben

BAYER AG

PHARMA BIOMETRIE

WUPPERTAL IXNR. 233
28.SEP.90 SEITE 1

R A N D O M L I S T E 1 FUER 36 T I E R E IN BLOECKEN VON 36 FUER 3 BEHANDLUNGEN

2,2 - DIBENZAMIDODIPHENYLDISULFID STUDIE:T7039546
SENSIBILISIERUNGSVERSUCH AN MNL.MEERSCHWEINCHEN
DR.DIESING,INSTITUT F.TOXIKOLOGIE,BAYER AG,5600 WUPPERTAL-1

TIER-NR.	KOERPER GEWICHT (G)	GE-SCHL.	KAEFIG NR.	LFD. NR.	RANDOM NR.
BEHANDLUNG : KONTROLLGR. 1					
14	279	ML	1	1	1
43	311	ML	1	2	2
18	322	ML	1	3	3
38	334	ML	1	4	4
17	294	ML	2	1	5
15	319	ML	2	2	6
10	326	ML	2	3	7
42	340	ML	2	4	8
1	308	ML	3	1	9
44	320	ML	3	2	10
22	334	ML	3	3	11
23	360	ML	3	4	12
BEHANDLUNG : KONTROLLGR. 2					
6	282	ML	4	1	13
27	308	ML	4	2	14
5	325	ML	4	3	15
4	348	ML	4	4	16
8	296	ML	5	1	17
7	311	ML	5	2	18
32	332	ML	5	3	19
30	352	ML	5	4	20
12	303	ML	6	1	21
33	319	ML	6	2	22
13	333	ML	6	3	23
20	362	ML	6	4	24
BEHANDLUNG : DOSISGRUPPE					
2	287	ML	7	1	25
16	308	ML	7	2	26
26	326	ML	7	3	27
35	344	ML	7	4	28
19	289	ML	8	1	29
36	310	ML	8	2	30
28	341	ML	8	3	31
34	345	ML	8	4	32
31	297	ML	9	1	33
40	325	ML	9	2	34
29	343	ML	9	3	35
37	349	ML	9	4	36

BAYER AG

Futterzusammensetzung

ALTROMIN STANDARD-DIÄTEN
TOTAL-PATHOGEN-FREI-TPF®

3020 altromin international

Maintenance Diet Guinea Pigs

Rohnährstoffe*	Raw nutrients*	
Rohprotein	Crude protein	18,0
Rohfett	Crude fat	4,1
Rohfaser	Crude fiber	14,5
Asche	Ash	8,5
Wasser	Moisture	12,0
N-freie Extraktstoffe	Nitrogen free extract	42,7

Umsetzbare Energie[1]	Metabolizable Energy[1]	
Kcal/kg	Kcal/kg	2.450,0
MJ/kg	MJ/kg	10,2

Mineralstoffe*	Minerals*	
Calcium	Calcium	0,9
Phosphor	Phosphorus	0,7
Magnesium	Magnesium	0,2
Natrium	Sodium	0,2
Kalium	Potassium	1,5

Aminosäuren* Amino Acids*		
Lysine		0,90
Methionine		0,45
Cystine		0,25
Phenylalanine		0,70
Tyrosine		0,60
Arginine		1,00
Histidine		0,40
Tryptophane		0,20
Threonine		0,70
Isoleucine		0,90
Leucine		1,40
Valine		0,90

Spurenelemente** Trace elements**		
Mangan/Manganese		65,0
Eisen	Iron	165,0
Kupfer	Copper	16,0
Zink	Zinc	50,0
Jod	Iodine	0,9
Fluor	Fluorine	10,0

Vitamine*** Vitamins***		Standard Diet		Standard Diet fortified	
Vitamin A	Vitamin A	15.000,0	IU	25.000,0	IU
Vitamin D_3	Vitamin D_3	600,0	IU	1.000,0	IU
Vitamin E	Vitamin E	75,0	mg	125,0	mg
Vitamin K_3	Vitamin K_3	1,0	mg	5,0	mg
Vitamin B_1	Vitamin B_1	10,0	mg	10,0	mg
Vitamin B_2	Vitamin B_2	12,0	mg	20,0	mg
Vitamin B_6	Vitamin B_6	9,0	mg	15,0	mg
Vitamin B_{12}	Vitamin B_{12}	24,0	mcg	40,0	mcg
Nikotinsäure	Nicotinic acid	36,0	mg	60,0	mg
Pantothensäure	Pantothenic acid	21,0	mg	35,0	mg
Folsäure	Folic acid	2,0	mg	3,0	mg
Biotin	Biotin	60,0	mcg	100,0	mcg
Cholin	Choline	600,0	mg	1.000,0	mg
Vitamin C	Vitamin C	1.036,0	mg	1.060,0	mg

* % in der Diät (Mittelwert) / average % content in the diet
** mg in 1 kg Diät (Mittelwert) / average mg content in 1 kg diet
*** Zusatz in 1 kg Diät / additive in 1 kg diet
1) Richtwert / recommended
2) berechnet / calculated

ALTROMIN Standard-Diäten garantieren größte Sicherheit bei Versuchen
ALTROMIN Standard Diets warrant experimental safety

ALTROMIN STANDARD-DIÄTEN
TOTAL-PATHOGEN-FREI-TPF®

3020 altromin international

Haltungsdiät Meerschweinchen

Langjährige Erfahrung empfiehlt ALTROMIN 3020 Haltungsdiät für Meerschweinchen als Alleindiät ohne Einschränkung für die Phase der Haltung ausgewachsener Tiere ab einem Lebensalter von zehn Wochen. Diese Haltungsdiät wird zur freien Aufnahme angeboten. Stetige Frischwasserversorgung ist zu sichern.
In Plastiksäcke verschweißt, ist ALTROMIN 3020 direkt zum Einschleusen in SPF-Bereiche geeignet. Dafür ist lediglich eine Oberflächendesinfektion des verschweißten Plastiksackes erforderlich (z. B. Tauchtank).

ALTROMIN 3020 Guinea Pig Maintenance Diet is an established maintenance diet for animals of ten weeks and older. The diet should be offered ad libitum together with an ample supply of fresh water.
Sealed in polyethylene lined sacks, ALTROMIN 3020 can be passed directly into the SPF facility following surface disinfection.

Raumtemperatur/room temperature 20 - 24° C[1]

relative Luftfeuchtigkeit/relative humidity 50-60%

ø Futteraufnahme g/Tag / Food absorption g/day

	Wachstum growth phase	erwachs. Tiere adult
Meerschweinchen Guinea Pigs	bis 50 g	ca. 60 g

ALTROMIN 3020 ist lieferbar:
ALTROMIN 3020 is available in:

	Mehl/Powder	3021
3,0 mm	Preßlinge/Pellets	3022
15,0 mm	Preßlinge/Pellets	3025

ALTROMIN Standard-Diäten - das Produkt jahrelanger Erfahrung
ALTROMIN Standard Diets - the result of long years' experience

Encl. 4 (b)

BAYER AG
Fachbereich Toxikologie
Friedrich-Ebert-Str. 217-333
D-56 Wuppertal 1

Bericht Nr. 16543

Berichtsdatum: 18.3.1988

2,2´-Dibenzamidodiphenyldisulfid

(KA-OE 11)

UNTERSUCHUNGEN AUF HAUTSENSIBILISIERENDE WIRKUNG BEI MEERSCHWEINCHEN

(Maximierungs-Test)

von

Dr. K.G. Heimann

Studiennummer: T 7025028

Solange die in diesem Bericht enthaltenen Ergebnisse nicht publiziert worden sind, dürfen sie nur mit Einverständnis der BAYER AG verwendet werden. Eine weitere Vervielfältigung dieses Berichtes - auch auszugsweise - ist nicht gestattet.

BAYER AG

03 OCT 13 AM 8:2

LEERSEITE

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

1. QUALITÄTSSICHERUNGS-/GLP-ERKLÄRUNGEN

Prüfsubstanz: 2,2´-Dibenzamidodiphenyldisulfid (KA-OE 11)

Studie-Nr.: T 7025028

1.1. Erklärung der Qualitätssicherungseinheit

Diese Studie wurde durch die Qualitätssicherung zu den untenstehenden Terminen überprüft. Die Ergebnisse der Überprüfungen und Inspektionen wurden dem Versuchsleiter und, wenn notwendig, auch dem Institutsleiter oder weiteren betroffenen Personen schriftlich mitgeteilt.

Datum der Überprüfung/Inspektion	Datum der Weiterleitung des Inspektionsberichts
11.3.87	11.3.87
17.3.87	18.3.87
23.3.87	24.3.87

Die Versuchsergebnisse und Methoden sind im Bericht korrekt wiedergegeben.

Qualitätssicherung
EP-AQ-S/GLP, BAYER AG

Datum 15.3.88 Verantwortlich: DR. H. P. SCHULZ

1.2. GLP-Erklärung des Versuchsleiters

Die Untersuchungen wurden in Übereinstimmung mit den OECD-Grundsätzen der Guten Laborpraxis (GLP) vom 4.2.1983, veröffentlicht im Bundesanzeiger Nr. 42a vom 2.3.1983, durchgeführt.

Dr. R.G. Heimann
(Versuchsleiter)

6.6.87
Datum

Inhaltsverzeichnis

1. QUALITÄTSSICHERUNGS-/GLP-ERKLÄRUNGEN....3

1.1. Erklärung der Qualitätssicherungseinheit....3
1.2. GLP-Erklärung des Versuchsleiters....3

2. UNTERSCHRIFTEN....6

3. ZUSAMMENFASSUNG....7

4. EINLEITUNG....8

5. STUDIENIDENTIFIKATION UND VERANTWORTLICHKEITEN....8

5.1. Studien-Nummer....8
5.2. Verantwortlichkeiten....8

6. MATERIAL UND METHODEN....9

6.1. Prüfmuster....9
6.2. Versuchstiere....10
6.2.1. Spezies und Stamm....10
6.2.2. Eingewöhnung....10
6.2.3. Gesundheitsstatus....10
6.2.4. Alter und Körpergewicht....10
6.3. Haltungsbedingungen....11
6.3.1. Unterbringung der Tiere....11
6.3.2. Räumlichkeiten....11
6.3.3. Reinigung, Desinfektion, Schädlingsbekämpfung....11
6.3.4. Klimabedingungen....11
6.3.5. Ernährung....12
6.4. Versuchsmethoden....12
6.4.1. Richtlinien....12
6.5. Versuchsdurchführung....13
6.5.1. Prüfmusterformulierung....13
6.5.2. Gruppierung und Identifikation der Versuchstiere....13
6.5.3. Dosiswahl und Begründung....14
6.5.4. Intradermale Induktion....15
6.5.5. Topische Induktion....16
6.5.6. Prüfung auf Sensibilisierung....17
6.5.6.1. Erste Auslösung....17
6.5.6.2. Zweite Auslösung....17
6.5.7. Bewertung der Reaktion....17
6.5.8. Allgemeine Untersuchungen....18
6.5.9. Einhaltung der GLP-Grundsätze....18

7. ERGEBNISSE....19

7.1. Allgemeine Untersuchungen....19
7.2. Prüfung auf hautsensibilisierende Wirkung (Auslösung)..19

8. DISKUSSION UND BEWERTUNG....21

9. LITERATUR.....22

10. ANHANG.....23

10.1. Bewertungsscores.....23
10.2. Einzelbefunde zur Dosisfindung (Vorversuche).....23
10.2.1. Intrakutane Induktion.....23
10.2.2. Topische Induktion.....23
10.2.3. Auslösung.....24
10.3. Einzelbefunde 1. Auslösung.....25
10.4. Einzelbefunde 2. Auslösung.....26
10.5. Körpergewichte (g).....27
10.6. Hautbefunde der Positivkontrolle.....28
10.7. Randomliste.....31
10.8. Futterzusammensetzung.....31

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

2. UNTERSCHRIFTEN

Versuchsleiter: Dr. K.G. Heimann

Institutsleiter: Dr. L. Machemer

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

3. ZUSAMMENFASSUNG

In einem Sensibilisierungstest an männlichen Meerschweinchen (Maximierungs-Test nach Magnusson-Kligman) wurde geprüft, ob 2,2´-Dibenzamidodiphenyldisulfid (KA-OE 11) eine mögliche hautsensibilisierende Wirkung besitzt.

Der Versuch wurde mit folgenden Prüfmusterkonzentrationen durchgeführt:

Intradermale Induktion:	2,5 %
Topische Induktion:	50 %
1. Auslösung:	50 %
2. Auslösung:	10 %

Nach der 1. Auslösung (Prüfmusterkonzentration: 50%) reagierten in der Prüfmustergruppe 12 von 20 Tieren positiv gegenüber 1 positiv reagierenden Tier (von 10) in der Kontrollgruppe.

Nach der 2. Auslösung (Prüfmusterkonzentration: 10%) reagierten in der Prüfmustergruppe 11 von 20 Tieren positiv gegenüber 1 positiv reagierenden Tier (von 10) in der Kontrollgruppe.

Die Untersuchungen ergaben Hinweise auf ein hautsensibilisierendes Potential des Prüfmusters bei Meerschweinchen.

BAYER AG

4. EINLEITUNG

2,2´-Dibenzamidodiphenyldisulfid (KA-OE 11) wurde auf hautsensibilisierende Eigenschaften bei Meerschweinchen untersucht.

Hierzu wurde der Maximierungstest nach B. MAGNUSSON und A.M. KLIGMAN (J. Invest. Dermat. 52, 568 (1969) bzw. "Identification of Contact Allergens" in: "Allergic Contact Dermatitis in the Guinea Pig", Ed. C.C. Thomas, S. 102-103 (1970)) angewendet.

Der Versuch wurde von März bis April 1987 im Institut für Toxikologie Landwirtschaft des Fachbereichs Toxikologie der BAYER AG, Wuppertal, Friedrich-Ebert-Str. 217-333, durchgeführt.

5. STUDIENIDENTIFIKATION UND VERANTWORTLICHKEITEN

5.1. Studien-Nummer

Studien Nr.: T 7025028

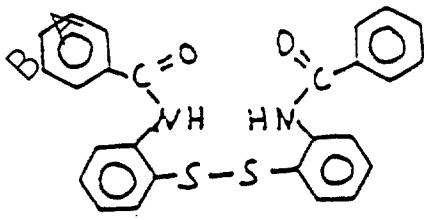
5.2. Verantwortlichkeiten

Institutsleiter Toxikologie Landwirtschaft:	Dr. L. Machemer
Versuchsleiter:	Dr. K.G. Heimann
Analytik:	Dr. K.H. Berghus
Qualitätssicherung:	Dr. H.P. Schulz
Archivierung der Versuchsdaten:	Dr. E.A. Löbbecke

BAYER AG

6. MATERIAL UND METHODEN

6.1. Prüfmuster

Prüfmusterbezeichnung:	2,2´-Dibenzamidodiphenyldisulfid (KA-OE 11)
Hersteller:	Bayer AG
Proben-Nr.:	DBD 86/5-10
Gehalt:	97,5% (KA-F, vom 29.9.1986)
Freigabe:	unbegrenzt
Aggregatzustand:	fest
Aussehen:	gelbes, kristallines Pulver
Geruch:	fast geruchlos
Aufbewahrung:	unter Lichtabschluß bei 20° - 23°C im Laborschrank
Chemische Bezeichnung:	N,N´-Dithio-2,1-phenylene-bis-benzamide (CA)
Konstitutionsformel:	
Molare Masse:	456,6 g/mol
Summenformel:	$C_{26}H_{20}N_2O_2S_2$

BAYER AG

6.2. Versuchstiere

6.2.1. Spezies und Stamm

Es wurden 40 SPF-gezüchtete männliche Meerschweinchen (Stamm: DHPW der Versuchstierzucht Winkelmann, Borchen, Kreis Paderborn) eingesetzt. Tiere dieses Stammes werden bei der BAYER AG seit Jahren für toxikologische Studien verwendet. Der Gesundheitsstatus der Zucht wird routinemäßig stichprobenweise auf die wichtigsten spezifischen Infektionserreger untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden bei der BAYER AG aufbewahrt.

Die Sensitivität dieses Meerschweinchenstammes wurde in einem Magnusson-Kligman-Test mit Formaldehyd bestätigt (siehe Anhang, Seiten 28 bis 30).

6.2.2. Eingewöhnung

Nach dem Tiereingang wurden die für diese Studie vorgesehenen Tiere bis zum Behandlungsbeginn mindestens 7 Tage lang an die Haltungsbedingungen adaptiert und ihr Gesundheitszustand überwacht.

6.2.3. Gesundheitsstatus

Es wurden nur gesunde, symptomfreie Tiere für den Versuch verwendet. Eine Vakzinierung oder Behandlung der Tiere mit Antiinfektiva fand weder vor der Tierlieferung noch während der Adaptationszeit oder Versuchszeit statt.

6.2.4. Alter und Körpergewicht

Bei Versuchsbeginn hatten die Meerschweinchen ein mittleres Anfangsgewicht von 328 g (291 bis 368 g). Dieses entspricht einem Alter von 5 bis 7 Wochen.

BAYER AG

6.3. Haltungsbedingungen

6.3.1. Unterbringung der Tiere

Während der Adaptations- und Versuchszeit wurden die Tiere konventionell in Makrolon®-Käfigen Typ IV (5 Tiere pro Käfig, nach MEISTER, G., Zschr. Versuchstierkunde 7, 144-153 (1965)) gehalten. Die Käfige wurden viermal wöchentlich gegen Käfige mit sauberer Einstreu gewechselt.

Als Einstreumaterial wurde staubarmes Holzgranulat verwendet (Hersteller: Bogner GmbH, Holzmehl-Herstellung und Vertrieb, Hansastr. 45, 565 Solingen-Ohligs). Das Holzgranulat wurde stichprobenweise auf Schadstoffgehalte untersucht. Die Unterlagen über die Untersuchungsergebnisse werden bei der BAYER AG aufbewahrt. Die Analysenergebnisse ergaben keine Anhaltspunkte für eine Beeinflussung des Versuchsziels.

6.3.2. Räumlichkeiten

Alle Tiere dieser Studie befanden sich in einem Tierraum. Aus Kapazitätsgründen waren zeitweise Meerschweinchen anderer toxikologischer Studien im selben Tierraum untergebracht. Durch eine ausreichende räumliche Trennung, Käfigkennzeichnung und entsprechende Organisation der Arbeitsabläufe wurde eine Verwechslung von Tieren ausgeschlossen.

6.3.3. Reinigung, Desinfektion, Schädlingsbekämpfung

Der Tierraum wurde einmal wöchentlich gereinigt und mit Zephirol desinfiziert. Dabei wurde eine Kontamination des Futters und der Kontakt mit Versuchstieren ausgeschlossen. Schädlingsbekämpfungen wurden in den Tierräumen während des Versuchs nicht durchgeführt.

6.3.4. Klimabedingungen

Die Klimabedingungen in dem Tierraum waren standardisiert:

Raumtemperatur:	22°C +- 2°C
Luftfeuchtigkeit (relativ):	ca. 50%
Hell-/Dunkelrhythmus:	12-stündig, von 6 bis 18 Uhr MEZ künstliche Beleuchtung
Luftdurchsatz:	ca. 10-mal pro Stunde

Gelegentliche Abweichungen von diesen Vorgaben, z.B. infolge Reinigung des Tierraumes, kamen vor. Sie hatten keinen erkennbaren Einfluß auf den Versuchsablauf.

6.3.5. Ernährung

Die Ernährung bestand aus "Altromin®3022 - Haltungsdiät für Meerschweinchen" (Hersteller: Altromin GmbH, Lage) und aus Leitungswasser (Tränkflaschen). Futter und Wasser standen zur ad-libitum-Aufnahme zur Verfügung. Im Anhang auf Seite 34 finden sich Angaben zur nutritiven Zusammensetzung von Altromin®3020, die der von Altromin®3022 entspricht.

Das Leitungswasser entsprach Trinkwasserqualität (Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe vom 22.05.1986, BGBl. I, Seite 760).

Unterlagen über die Analysen bzgl. der Einhaltung der Spezifikation des Trinkwassers werden bei der BAYER AG aufbewahrt. Die vorliegenden Daten ergaben keine Anhaltspunkte für eine Beeinflussung des Versuchsziels.

Zur Tränkung wurden während der Versuchszeit je Käfig zwei 750 ml fassende Polycarbonatflaschen (nach SPIEGEL, A., GÖNNERT, R., Zschr. Versuchstierkunde 1, 38 (1961) und MEISTER, G., Zschr. Versuchstierkunde 7, 144-153 (1965)) verwendet.

6.4. Versuchsmethoden

6.4.1. Richtlinien

OECD-Guideline for Testing of Chemicals; Section 4: Health Effects, No. 406: "Skin Sensitisation", adopted: 5/12/1981.

Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision F, Hazard Evaluation Humans and Domestic Animals (Revised), (U.S.) Environmental Protection Agency Washington, D.C., PB 86-108958, November 1984, 81-6

EG-Richtlinie
Akute Toxizität - Sensibilisierung der Haut
Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften
Nr. L 251/113-116 vom 19.9.1984

BAYER AG

6.5. Versuchsdurchführung

6.5.1. Prüfmusterformulierung

Das Prüfmuster wurde vor der Applikation mit Propylenglykol formuliert.

Die Stabilität über den Verwendungszeitraum des Prüfmusters in den Applikationsformulierungen wurde analytisch bestätigt (siehe Anhang, Seite 35). Die Homogenität des Prüfmusters in den Applikationsformulierungen konnte durch eine direkte Formulierung vor der Applikation gewährleistet werden.

6.5.2. Gruppierung und Identifikation der Versuchstiere

Es wurden per random drei Versuchstiergruppen gebildet: eine Prüfmustergruppe und zwei Kontrollgruppen, bestehend aus je 10 Tieren (Kontrollgruppen) bzw. 20 Tieren (Prüfmustergruppe). Die Erstellung der Randomliste erfolgte mit Hilfe des "Subprogram Randu" aus dem "Scientific Subroutine Package" von IBM auf der Rechenanlage IBM der BAYER AG, Wuppertal (Randomliste siehe Anhang, Seiten 32 und 33).

Die Identifizierung der Tiere erfolgte durch Käfigkennzeichnung (Käfigkarten, auf denen Prüfmuster, Studiennummer, Tiernummer, Dosis, Geschlecht angegeben wurden) und durch individuelle Markierung mit wässeriger Pikrinsäurelösung.

Es wurden zwei Kontrollgruppen mit je 10 Tieren eingesetzt. Die Tiere 1 bis 10 dienten als Kontrolle für die 1. Auslösung und die Tiere 11 bis 20 als Kontrolle für die 2. Auslösung.

BAYER AG

6.5.3. Dosiswahl und Begründung

Die Dosiswahl für die Induktions- bzw. Auslösungsbehandlung erfolgte aufgrund der im Anhang (Seiten 23 und 24) angeführten Ergebnisse von Vorversuchen. In diesen Untersuchungen wurde die lokale und systemische Verträglichkeit bei intradermaler bzw. epikutaner Behandlung geprüft sowie die Schwellenkonzentration für eine primäre Reizung des Prüfmusters bestimmt.

Für den Hauptversuch wurden folgende Konzentrationen gewählt:

Intradermale Induktion:	2,5 %
Topische Induktion:	50 %
1. Auslösung:	50 %
2. Auslösung:	10 %

Die zweite Auslösung wurde mit einer niedrigeren Konzentration durchgeführt, da nach der ersten Auslösung in der Prüfmustergruppe Hautreaktionen auftraten und geprüft werden sollte, ob die nach der 1. Auslösung aufgetretenen Hautreaktionen bei einer niedrigeren Konzentration ebenfalls sichtbar sind.

BAYER AG

6.5.4. Intradermale Induktion

24 Stunden vor der Applikation wurden die Tiere auf dem Rücken und den Flanken geschoren. Hinter dem Nacken beginnend wurden 3 intradermale Injektionen parallel auf jeder Längsseite durchgeführt. Die Abstände zwischen den Injektionsstellen betrugen 1-2 cm und das Applikationsvolumen pro Injektionsstelle 0,1 ml.

Die Tiere der drei Gruppen wurden wie folgt behandelt:

a) Prüfmustergruppe

1. Injektionsstellenpaar (kranial)

Freund´s complete adjuvant (Difco Lab.) 1:1 mit steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

2. Injektionsstellenpaar (medial)

2,2´-Dibenzamidodiphenyldisulfid 2,5%ig, in Propylenglykol formuliert.

3. Injektionsstellenpaar (kaudal)

2,2´-Dibenzamidodiphenyldisulfid 2,5%ig, in Propylenglykol und mit Freund´s complete adjuvant zu gleichen Teilen formuliert.

b) Kontrollgruppen

Die Tiere der Kontrollgruppen wurden wie die Tiere der Prüfmustergruppe behandelt, jedoch enthielten die Formulierungen für die Injektionsstellenpaare 2 und 3 kein Prüfmuster.

BAYER AG

6.5.5. Topische Induktion

Eine Woche nach der intradermalen Induktion erfolgte die topische Induktion.

24 Stunden vor der Applikation wurden die Applikationsstellen geschoren und mit 10%igem Natriumlaurylsulfat, formuliert in Paraffinöl, vorgereizt. Zwischen bzw. auf die Injektionsstellen wurden hypoallergene Wundpflaster (2 x 4 cm) aufgelegt, mit Aluminiumfolie abgedeckt und 48 Stunden lang mit einem Fermoflex-Selbstklebeband auf der Haut fixiert.

Die hypoallergenen Wundpflaster wurden wie folgt behandelt bzw. getränkt (Volumen: 0,5 ml):

a) Prüfmustergruppe

2,2´-Dibenzamidodiphenyldisulfid 50%ig, in Propylenglykol formuliert.

b) Kontrollgruppen

Formulierhilfsmittel (Propylenglykol)

BAYER AG

6.5.6. Prüfung auf Sensibilisierung

6.5.6.1. Erste Auslösung

3 Wochen nach der intradermalen Induktion erfolgte die 1. Auslösung, wobei die 1. Kontrollgruppe eingesetzt wurde.

24 Stunden vor der Behandlung wurden die Tiere auf dem Rücken und den Flanken geschoren und mit Pilca-Creme chemisch enthaart. Den Tieren der Prüfmustergruppe und der 1. Kontrollgruppe wurde auf die linke Flanke ein mit 50%iger Prüfmusterformulierung (Propylenglykol) getränktes hypoallergenes Wundpflaster aufgelegt, das für 24 Stunden mit einem Saniplast-Wickelverband auf der Haut fixiert wurde. Das Applikationsvolumen betrug 0,5 ml. Eventuelle Prüfmusterreste wurden mit physiologischer Kochsalzlösung entfernt.

Auf die rechte Flanke wurde zum Vergleich ein Kontrollpflaster aufgelegt, das nur mit dem Formulierhilfsmittel (Propylenglykol) getränkt war. Das Applikationsvolumen betrug ebenfalls 0,5 ml.

6.5.6.2. Zweite Auslösung

5 Wochen nach der intradermalen Induktion erfolgte die 2. Auslösung, wobei die 2. Kontrollgruppe eingesetzt wurde.

Die Tiere der Prüfmustergruppe wurden mit einer 10%igen Prüfmusterformulierung (Propylenglykol) wie unter 6.5.6.1. beschrieben behandelt. Die Behandlung der Tiere der 2. Kontrollgruppe erfolgte ebenfalls wie unter 6.5.6.1. für die Tiere der 1. Kontrollgrupppe beschrieben. Applikationsvolumen betrug für die Tiere beider Gruppen 0,5 ml.

6.5.7. Bewertung der Reaktion

24 und 48 Stunden nach Abnahme der Pflasterverbände wurden die behandelten Hautstellen makroskopisch beurteilt (Bewertungsscores siehe Anhang, Seite 23). Zur Bewertung einer Sensibilisierung wurden die Anzahl der mit einer Hautreizung reagierenden Tiere und die Reaktionsstärke in der Prüfmuster- und Kontrollgruppe gegenübergestellt und verglichen. Dazu wird die Zahl der auf der Kontrollseite mit einer Reizung reagierenden Tiere von der Zahl der auf der Prüfmusterseite mit einer Reizung reagierenden Tiere subtrahiert.

Kriterium für eine erfolgte Sensibilisierung ist das Auftreten von Hautreaktionen nach der Auslösung mit höherer Inzidenz und/oder stärkerer Ausprägung bei den Versuchs- als bei den Kontrolltieren.

6.5.8. Allgemeine Untersuchungen

Die Tiere wurden über die gesamte Versuchsdauer mindestens einmal täglich hinsichtlich klinischer Symptome beobachtet.

Die Körpergewichte wurden vor Versuchsbeginn und danach wöchentlich sowie am Tag 24 und 38 erfaßt.

6.5.9. Einhaltung der GLP-Grundsätze

Die Untersuchungen wurden nach den OECD-Grundsätzen der Guten Laborpraxis (GLP) durchgeführt (Bundesanzeiger 42a, 3-16, 2.3.1983). Erklärungen der Qualitätssicherung und des Versuchsleiters siehe Seite 3.

Entsprechend den GLP - Grundsätzen wurden die Untersuchungen in einem Versuchsplan festgelegt. Dieser Versuchsplan wird ebenso wie die Versuchsunterlagen im Institut für Toxikologie der BAYER AG (Archiv) aufbewahrt.

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

7. ERGEBNISSE

7.1. Allgemeine Untersuchungen

Die Einzeldaten der Körpergewichte befinden sich im Anhang auf Seite 27.

Die Körpergewichtsentwicklung der Tiere der Behandlungsgruppe entsprach der der Kontrolltiere.

Die Behandlung wurde von allen Tieren symptomlos vertragen.

Es traten keine Todesfälle auf.

7.2. Prüfung auf hautsensibilisierende Wirkung (Auslösung)

Die Einzelergebnisse der 1. und 2. Auslösung sind in der Tabelle auf den Seiten 25 und 26 im Anhang aufgeführt.

Sie sind nachfolgend tabellarisch zusammengefaßt.

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

1. Auslösung (Konzentration: 50%)

Anzahl der Tiere mit Hautreaktionen

Prüfmustergruppe (20 Tiere)		1. Kontrollgruppe (10 Tiere)	
Prüfmuster-Pflaster	Kontroll-Pflaster	Prüfmuster-Pflaster	Kontroll-Pflaster
15	3	1	0

2. Auslösung (Konzentration: 10%)

Anzahl der Tiere mit Hautreaktionen

Prüfmustergruppe (20 Tiere)		2. Kontrollgruppe (10 Tiere)	
Prüfmuster-Pflaster	Kontroll-Pflaster	Prüfmuster-Pflaster	Kontroll-Pflaster
20	9	1	0

BAYER AG

8. DISKUSSION UND BEWERTUNG

Nach der 1. Auslösung (Prüfmusterkonzentration: 50%) reagierten in der Prüfmustergruppe 12 von 20 Tieren positiv gegenüber einem positiv reagierenden Tier (von 10) in der Kontrollgruppe. Die Tiere der Behandlungsgruppe zeigten 48 Stunden nach der Applikation eine leichte bzw. mäßige Rötung und 72 Stunden nach der Applikation zum Teil Schuppen bzw. Verkrustungen im Bereich des Behandlungsfeldes. Diese makroskopischen Veränderungen sprechen für Hautläsionen und Hyperkeratosis, die als Folge einer prüfmusterbedingten Sensibilisierung gewertet werden. Das einzelne positiv reagierende Tier der Kontrollgruppe wies demgegenüber zu beiden Bewertungszeitpunkten nur eine leichte Rötung auf.

Nach der 2. Auslösung (Prüfmusterkonzentration: 10%) reagierten in der Prüfmustergruppe 11 von 20 Tieren positiv gegenüber einem positiv reagierenden Tier (von 10) in der Kontrollgruppe. Die Tiere der Behandlungsgruppe reagierten ebenfalls sehr deutlich mit den nach der 1. Auslösung aufgetretenen Befunden (Verkrustung, Schuppenbildung, zusätzlich Verschorfung). Nach der 2. Auslösung wurden diese Befunde bei niedrigerer Konzentration des Prüfmusters 48 Stunden nach der Applikation beobachtet. Demgegenüber wies das einzelne positiv reagierende Tier der Kontrollgruppe nur eine leichte Rötung zum 1. Bewertungszeitpunkt auf.

Die Untersuchungen ergaben Hinweise auf ein hautsensibilisierendes Potential des Prüfmusters bei Meerschweinchen.

BAYER AG

9. LITERATUR

Maximierungstest nach Magnusson-Kligman
J. Invest. Dermat. 52, 568 (1969)

Ed. C.C. Thomas
Identification of Contact Allergens
Allergic Contact Dermatitis in the Guinea Pig
S. 102-103 (1970)

Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision F,
Hazard Evaluation Human and Domestic Animals (Revised),
(U.S.) Environmental Protection Agency
Washington, D.C., PB 86-108958, November 1984, § 81-6

OECD-Guideline for Testing of Chemicals; Section 4: Health
Effects, No. 406: "Skin Sensitisation", adopted 5/12/1981.

EG-Richtlinie
Akute Toxizität - Sensibilisierung der Haut
Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften
Nr. L 251/113-116 vom 19.9.1984

BAYER AG

10. ANHANG

10.1. Bewertungsscores

0 = keine Reaktion
1 = leichte Rötung
2 = mäßige Rötung
3 = starke Rötung

10.2. Einzelbefunde zur Dosisfindung (Vorversuche)

10.2.1. Intrakutane Induktion

1 Tier:	0%	1%	2,5%	5%**
24h	*	*	*	*
48h	*	*	*	*

* = alle Injektionsstellen: linsengroße weiße Bezirke mit rotem Rand
** = nur sehr schwer zu applizieren

Induktionskonzentration: 2,5%

10.2.2. Topische Induktion

Tier-Nr.:	2		3		4		5	
Auswertungstag:	1	2	1	2	1	2	1	2
Konzentration:	(Hautreaktionen)							
6%	0	0*	0	0*	0	0	0	0*
12%	0	0*	0	0*	0	0*	0	0*
25%	0	0*	0	0*	0	0	0	0
50%	0	0*	0	0*	0	0	0	0

* = Behandlungsfeld schuppig

Topische Induktion: 50%

BAYER AG

10.2.3. Auslösung

Tier-Nr.:	41		42		43		44		45	
Auswertungstag:	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Konzentration:	(Hautreaktionen)									
6%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1. Auslösungskonzentration: 50%

2. Auslösungskonzentration: 10%

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

10.3. Einzelbefunde 1. Auslösung

Konzentration: 50%

Hautbefunde/Sensibilisierungsreaktion
- 3 Wochen nach 1. Induktion (= 3 Wochen nach Versuchsbeginn)

Tier-Nr.	Prüfmustergruppe				Tier-Nr.	1. Kontrollgruppe			
	Prüfmuster-Pflaster		Kontroll-Pflaster			Prüfmuster-Pflaster		Kontroll-Pflaster	
	24h	48h	24h	48h		24h	48h	24h	48h
21	0	0	0	0	1	0	0	0	0
22	0	0	0	0	2	0	0	0	0
23	1	0	0	0	3	0	0	0	0
24	0	0	0	0	4	0	0	0	0
25	1	0 *	1	0	5	0	0	0	0
26	1	0 *	0	0	6	0	0	0	0
27	0	0	0	0	7	1	1	0	0
28	1	0 *	1	0	8	0	0	0	0
29	2	1 *	0	0	9	0	0	0	0
30	2	1 *+	0	0	10	0	0	0	0
31	1	0 *	0	0					
32	0	0	0	0					
33	1	0	0	0					
34	1	0	0	0					
35	2	1 *+	1	0					
36	1	0	0	0					
37	1	0	0	0					
38	1	0 *	0	0					
39	2	1 *	0	0					
40	1	0	0	0					

* = Behandlungsfeld schuppig
\+ = Auf dem Behandlungsfeld stellenweise Verkrustungen

BAYER AG

10.4. Einzelbefunde 2. Auslösung

Konzentration: 10%

Hautbefunde/Sensibilisierungsreaktion
- 5 Wochen nach 1. Induktion (= 5 Wochen nach Versuchsbeginn)

Tier-Nr.	Prüfmustergruppe				Tier-Nr.	2. Kontrollgruppe			
	Prüfmuster-Pflaster		Kontroll-Pflaster			Prüfmuster-Pflaster		Kontroll-Pflaster	
	24h	48h	24h	48h		24h	48h	24h	48h
21	x	x	0	0	11	0	0	0	0
22	x	x	0 +	0 +	12	0	0	0	0
23	x	x	0	0	13	0	0	0	0
24	1	0	0	0	14	0	0	0	0
25	xx	xx +	0 +	0 +	15	0	0	0	0
26	xx	xx	0	0	16	0	0	0	0
27	1	0 *	0	0	17	0	0	0	0
28	x	x	0 *	0 *	18	0	0	0	0
29	x	x	0	0 *	19	1	0	0	0
30	x	x	1 *	0 *	20	0	0	0	0
31	x	x	0	0					
32	x	x	0	0					
33	x	x	0	0					
34	1 *	1 *	x	0					
35	x	x	0 *	0 *					
36	1 *	1 *	0	0					
37	1 *	1 *	0	0 *					
38	1 *	1 *	0	0					
39	x	x	0 *	0 *					
40	1	0	0	0					

x = Behandlungsfeld verschorft und teilweise verkrustet
xx = Behandlungsfeld verschorft
* = Behandlungsfeld schuppig
+ = Behandlungsfeld teilweise leichte Verkrustungen

BAYER AG

10.5. Körpergewichte (g)

Tier-Nr.	Tag 0	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 24	Tag 28	Tag 35	Tag 38
Kontrollgruppen								
1	301	336	368	395	395			
2	328	372	422	464	430			
3	330	350	405	458	466			
4	338	349	379	415	407			
5	324	363	427	466	418			
6	334	416	480	548	548			
7	309	374	429	462	476			
8	313	385	430	465	472			
9	336	408	439	487	516			
10	354	427	468	528	532			
11	324	373	419	465	499	531	537	548
12	302	363	423	480	507	552	575	603
13	330	385	442	502	527	563	610	632
14	330	384	434	490	509	545	552	582
15	316	394	437	487	523	539	525	559
16	311	370	419	474	460	536	581	601
17	328	382	425	487	467	538	581	588
18	308	359	391	425	405	475	511	521
19	346	417	475	552	530	618	665	684
20	350	410	467	525	531	600	633	657
Dosisgruppe								
21	304	348	371	403	399	456	474	496
22	328	398	435	486	475	543	579	593
23	330	378	409	457	460	510	562	586
24	336	398	431	459	478	518	563	590
25	356	407	452	485	487	537	577	591
26	319	383	413	476	489	502	539	549
27	361	433	483	530	553	575	625	627
28	361	407	451	519	532	568	614	619
29	352	430	490	547	547	574	607	601
30	368	427	477	538	543	586	645	658
31	291	328	369	409	416	442	471	485
32	317	357	402	443	462	491	507	527
33	333	394	455	515	529	560	559	612
34	313	378	421	481	494	520	552	564
35	332	381	428	468	462	506	490	515
36	326	398	412	492	493	513	575	579
37	303	375	417	463	482	495	560	568
38	308	363	386	439	452	481	521	510
39	333	361	391	478	456	430	552	563
40	323	379	422	511	513	548	596	604

Tag 0 = 1 Tag der Applikation

10.6. Hautbefunde der Positivkontrolle

(Maximierungstest nach Magnusson-Kligman)

Substanz: Formaldehyd (Bericht Nr.: 13252 vom 1.2.1985)

1. Auslösung (Konzentration: 2%)

Anzahl der Tiere mit Hautreaktionen

Prüfmustergruppe (20 Tiere)		1. Kontrollgruppe (10 Tiere)	
Prüfmuster-Pflaster	Kontroll-Pflaster	Prüfmuster-Pflaster	Kontroll-Pflaster
15	8	4	4

Korrektur-Wert:

7	0

2. Auslösung (Konzentration: 0.5%)

Anzahl der Tiere mit Hautreaktionen

Prüfmustergruppe (20 Tiere)		2. Kontrollgruppe (10 Tiere)	
Prüfmuster-Pflaster	Kontroll-Pflaster	Prüfmuster-Pflaster	Kontroll-Pflaster
16	9	3	4

Korrektur-Wert:

7	0

BAYER AG

Positiv-Kontrolle

Substanz: Formaldehyd (Bericht Nr.: 13252 vom 1.2.1985)

Einzelbefunde 1. Auslösung (Konzentration: 2%)

Sensibilisierungstest an Meerschweinchen
Hautbefunde/Sensibilisierungsreaktion
- 3 Wochen nach 1. Induktion (= 3 Wochen nach Versuchsbeginn)

Tier-Nr.	Prüfmustergruppe				Tier-Nr.	1. Kontrollgruppe			
	Prüfmuster-Pflaster		Kontroll-Pflaster			Prüfmuster-Pflaster		Kontroll-Pflaster	
	24h	48h	24h	48h		24h	48h	24h	48h
21	1	1	0	0	1	0	0	0	0
22	0	0	0	0	2	0	0	0	0
23	1	0	0	0	3	1	1	1	1
24	1	1	1	1	4	0	0	0	0
25	2	1	1	1	5	0	0	0	1
26	1	0	1	0	6	0	0	0	0
27	0	1	0	1	7	1	0	1	0
28	0	0	0	0	8	0	0	0	0
29	2	1	0	0	9	1	1	1	1
30	0	0	0	0	10	1	0	0	0
31	0	0	0	0					
32	1	2	0	1					
33	1	1	1	0					
34	0	0	0	0					
35	0	1	0	0					
36	0	1	0	0					
37	2	2	0	0					
38	0	1	0	1					
39	1	2	1	1					
40	0	1	0	0					

BAYER AG

Positiv-Kontrolle

Substanz: Formaldehyd (Bericht Nr.: 13252 vom 1.2.1985)

Einzelbefunde 2. Auslösung (Konzentration: 0,5%)

Sensibilisierungstest an Meerschweinchen
Hautbefunde/Sensibilisierungsreaktion
- 5 Wochen nach 1. Induktion (= 5 Wochen nach Versuchsbeginn)

Tier-Nr.	Prüfmustergruppe				Tier-Nr.	2. Kontrollgruppe			
	Prüfmuster-Pflaster		Kontroll-Pflaster			Prüfmuster-Pflaster		Kontroll-Pflaster	
	24h	48h	24h	48h		24h	48h	24h	48h
21	2	1	1	0	11	0	0	0	0
22	1	1	0	1	12	0	0	0	0
23	1	1	1	0	13	0	0	0	0
24	0	1	0	0	14	0	0	0	0
25	1	2	0	0	15	1	1	1	1
26	1	0	0	0	16	0	0	1	0
27	1	0	1	0	17	1	1	1	1
28	0	0	0	0	18	0	-	0	-
29	0	0	0	0	19	0	0	0	0
30	1	0	0	0	20	1	0	1	1
31	1	1	0	0					
32	1	1	1	1					
33	2	2	1	1					
34	0	0	0	0					
35	1	1	1	0					
36	1	1	0	0					
37	2	2	1	1					
38	0	0	0	0					
39	1	0	0	0					
40	1	0	1	0					

- = nicht auswertbar

10.7. Randomliste

siehe Seiten 32 und 33

10.8. Futterzusammensetzung

siehe Seite 34

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

PHARMA BIOMETRIE

WUPPERTAL, DEN 6. 3.87

R A N D O M L I S T E 1 FUER 40 T I E R E IN BLOECKEN VON 40

2,2' - DIBENZAMIDODIPHENYLDISULFID STUDIE: T7025028
SENSIBILISIERUNGSVERSUCH AN MNL.MEERSCHWEINCHEN

DR.HEIMANN,INST.F.TOXIKOLOGIE,BAYER AG,5600 WUPPERTAL 1

TIER-NR.	KOERPER GEWICHT	GE-SCHL.	KAEFIG NR.	LFD. NR.	RANDOM NR.
BEHANDLUNG : 1.KONTROLLGR.					
7	285	ML	1	1	1
39	301	ML	1	2	2
1	307	ML	1	3	3
47	314	ML	1	4	4
35	326	ML	1	5	5
10	286	ML	2	1	6
16	302	ML	2	2	7
4	307	ML	2	3	8
17	318	ML	2	4	9
15	329	ML	2	5	10
BEHANDLUNG : 2.KONTROLLGR.					
9	284	ML	3	1	11
29	289	ML	3	2	12
2	305	ML	3	3	13
46	316	ML	3	4	14
5	324	ML	3	5	15
49	285	ML	4	1	16
36	304	ML	4	2	17
31	309	ML	4	3	18
23	319	ML	4	4	19
42	338	ML	4	5	20
BEHANDLUNG : DOSISGRUPPE					
11	284	ML	5	1	21
34	299	ML	5	2	22
50	307	ML	5	3	23
44	320	ML	5	4	24
43	330	ML	5	5	25
24	285	ML	6	1	26
38	304	ML	6	2	27
26	311	ML	6	3	28
48	327	ML	6	4	29
30	334	ML	6	5	30

BAYER AG
BAYER AG
BAYER AG

PHARMA BIOMETRIE

WUPPERTAL, DEN 6. 3.87

BEHANDLUNG : DOSISGRUPPE

TIER-NR.	KOERPER GEWICHT	GE-SCHL.	KAEFIG NR.	LFD. NR.	RANDOM NR.
45	286	ML	7	1	31
6	289	ML	7	2	32
8	299	ML	7	3	33
13	304	ML	7	4	34
3	315	ML	7	5	35
41	288	ML	8	1	36
27	297	ML	8	2	37
19	299	ML	8	3	38
21	305	ML	8	4	39
33	324	ML	8	5	40

BAYER AG

BAYER AG

2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid

T 7025028

3020

altromin

Meerschweinchen-Haltung

Rohnährstoffe*	
Rohprotein	18,0
Rohfett	4,3
Rohfaser	13,5
Asche	8,9
Wasser	12,0
N-freie Extraktstoffe	43,3
Umsetzbare Energie:	
Kcal/kg	2.700,0
KJ /kg	11.300,0

Mineralstoffe*	
Calcium	1,0
Phosphor	0,7
Magnesium	0,2
Natrium	0,2
Kalium	1,5

Vitamine*** Standard-Diät	
Vitamin A	15.000,0 IE
Vitamin D_3	600,0 IE
Vitamin E	75,0 mg
Vitamin K_3	3,0 mg
Vitamin B_1	18,0 mg
Vitamin B_2	12,0 mg
Vitamin B_6	9,0 mg
Vitamin B_{12}	24,0 mcg
Nikotinsäure	36,0 mg
Pantothensäure	21,0 mg
Folsäure	2,0 mg
Biotin	60,0 mcg
Cholin	600,0 mg
Vitamin C	1.036,0 mg

Aminosäuren*	
Lysin	0,90
Methionin	0,30
Cystin	0,20
Phenylalanin	0,70
Tyrosin	0,60
Arginin	1,00
Histidin	0,40
Tryptophan	0,20
Threonin	0,70
Isoleucin	0,90
Leucin	1,40
Valin	0,90

Spurenelemente**	
Mangan	62,0
Eisen	165,0
Kupfer	16,0
Zink	50,0
Jod	0,9
Fluor	10,0

Vitamine*** Standard-Diät (fortified)	
Vitamin A	25.000,0 IE
Vitamin D_3	1.000,0 IE
Vitamin E	125,0 mg
Vitamin K_3	5,0 mg
Vitamin B_1	30,0 mg
Vitamin B_2	20,0 mg
Vitamin B_6	15,0 mg
Vitamin B_{12}	40,0 mcg
Nikotinsäure	60,0 mg
Pantothensäure	35,0 mg
Folsäure	3,0 mg
Biotin	100,0 mcg
Cholin	1.000,0 mg
Vitamin C	1.060,0 mg

* % in der Diät - Mittelw. ** mg in 1 kg Diät - Mittelw.

*** Zusatz/1 kg Diät

Guinea Pig Maintenance

Ingredients*	
Crude protein	18,0
Crude fat	4,3
Crude fiber	13,5
Ash	8,9
Moisture	12,0
Nitrogen-free extract	43,3
Metabolizable Energy:	
Kcal/kg	2.700,0
KJ/ kg	11.300,0

Minerals*	
Calcium	1,0
Phosphorus	0,7
Magnesium	0,2
Sodium	0,2
Potassium	1,5

Vitamins*** Standard-Diet	
Vitamin A	15,000,0 IU
Vitamin D_3	600,0 IU
Vitamin E	75,0 mg
Vitamin K_3	3,0 mg
Vitamin B_1	18,0 mg
Vitamin B_2	12,0 mg
Vitamin B_6	9,0 mg
Vitamin B_{12}	24,0 mcg
Nicotinic acid	36,0 mg
Pantothenic acid	21,0 mg
Folic acid	2,0 mg
Biotin	60,0 mcg
Choline	600,0 mg
Vitamin C	1.036,0 mg

Amino Acids*	
Lysine	0,90
Methionine	0,30
Cystine	0,20
Phenylalanine	0,70
Tyrosine	0,60
Arginine	1,00
Histidine	0,40
Tryptophane	0,20
Threonine	0,70
Isoleucine	0,90
Leucine	1,40
Valine	0,90

Trace elements**	
Manganese	62,0
Iron	165,0
Copper	16,0
Zinc	50,0
Iodine	0,9
Fluorine	10,0

Vitamins*** Standard-Diet (fortified)	
Vitamin A	25.000,0 IU
Vitamin D_3	1.000,0 IU
Vitamin E	125,0 mg
Vitamin K_3	5,0 mg
Vitamin B_1	30,0 mg
Vitamin B_2	20,0 mg
Vitamin B_6	15,0 mg
Vitamin B_{12}	40,0 mcg
Nicotinic acid	60,0 mg
Pantothenic acid	35,0 mg
Folic acid	3,0 mg
Biotin	100,0 mcg
Choline	1.000,0 mg
Vitamin C	1.060,0 mg

*Average % content in the diet **Average mg content in 1 kg diet

BAYER AG

Abteilung: KA-Produktion/Ökologie

Ø Dr. Heimann

Herrn
Dr. Löser
Institut für Toxikologie
Elberfeld, Geb. 500

T 7025028

Ihre Zeichen	Ihre Nachricht	Unsere Zeichen	Gebäude	Telefon	Dormagen
		BGU/st	M 16	4631	20.02.1987

T 7025028

2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid (KA-OE 11)
Sensibilierungsprüfung - Stabilität und Homogenität in der Formulierung

Sehr geehrter Herr Dr. Löser,

2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid (KA-OE 11) ist gegenüber dem Formulierhilfsmittel Propylenglykol bei RT über einem Zeitraum von 2 Stunden chemisch stabil.

Da die Substanz im Formulierhilfsmittel nur sehr wenig löslich ist (ca. 1 g/l), sind Dispersionen der erforderlichen Konzentration von 2,5 sowie 50 % jeweils direkt vor Applikation frisch herzustellen.

Wir möchten noch einmal auf die Eilbedürftigkeit der Untersuchung hinweisen.

Mit freundlichen Grüßen
KA-Produktion/Ökologie

ppa. Berghus

BAYER AG

Sachbearbeiter
Dr. Berghus

IRRITATION OR SENSITIZATION STUDIES

Compound 2,2'-Dibenzamidodiphenyldisulfid (KA-DE 11)
% AI 97,5% (KA-F, v. 29.9.86) Batch/I.D. No. DDD 86/5-10
Date _____ Report No. _____
Title Sensibilisierung am Meerschweinchen
Study Director Dr. Heimann Study Guidelines OECD
Test Facility Inst. f. Tox. / Ell. QA/GLP Audit 17.8. / 22.2.87

Dermal Irritation

Species/No.:

Anatomical Site:

Exposure Time:

Score (Classification/Regulation):

Observations:

Eye Irritation

Species/No.:

Score (Classification/Regulation):

Observations:

Dermal Sensitization

Method: Magnusson-Kligman Species/No./Sex: Meerschwein / 40 / ♂
Concentration, Induction: 2,5% / 50% Challenge: 50% / 10%
Effect: Deutliche Hinweise auf ein kontaktallergenes Potential.

Summarized By: U. Solbe
Dated: 10.6.87

BAYER

EHR 83-05r

Enclosure 5

Excerpt from Prof. Hausen's report (1990):
Experimental investigation to determine the sensitizing potential of 2,2'-dibenzamido diphenyl disulfide.
University of Hamburg (F.R.G.), Dermatological Unit of the University Hospital

Assessment (p. 4)

2,2'-dibenzamido diphenyl disulfide can be classified as a medium-strong sensitizer when applied as a pure substance. If a technical grade substance is used, the sensitization potential is even higher. This judgement is supported by the observation of a generalized dispersion pattern occuring with more than 50 % of the animals which means that already 24 hours after treatment (inflammation) spots developed which at 48 hours after treatment invaded the total (guinea pig) flanks.

From the experience made in allergological practice such phenomena are well known with several rubber ingredients. They tend to develop similarly with sensitized patients and to create a particularly unpleasant sensation.
etc.

(Complete experimental report in German is available on request).

Encl. 5(6)

PROF. DR. B. M. HAUSEN
Experimentelle Allergologie
Universitäts-Hautklinik
Martinistraße 52
D-2000 HAMBURG 20
☎ 040/466-2651/3059

B e r i c h t

Experimentelle Untersuchung zur Bestimmung des Sensibilisierungsvermögens von 2,2'-Dibenzamido-diphenyldisulfid

Beurteilung

2,2'-Dibenzamido-diphenyldisulfid ist als mittelstarker Sensibilisator einzustufen, wenn der Stoff in reiner Form eingesetzt wird. Liegt eine technische Qualität vor, so ist die Sensibilisierungspotenz jedoch als noch höher einzuordnen. Diese Beurteilung wird durch die Beobachtung der generalisierten Streuung unterstützt, die bei mehr als 50 % der Tiere zu beobachten war. Daß heißt, es kam bereits nach 24 Stunden zur Entwicklung von Streuherden, die sich nach 48 Stunden auf die gesamte Flanke ausbreiteten. Aus der Erfahrung in der allergologischen Praxis sind solche Phänomene bei einigen Gummiinhaltsstoffen durchaus bekannt. Sie entwickeln sich bei sensibilisierten Patienten in gleicher Weise und werden als besonders unangenehm empfunden.

Daß chemisch verwandte Dithio-Verbindungen vom sensibilisierten Organismus erkannt werden, zeigte sich an den deutlichen Reaktionen auf 2,2'-Dithio-bis-anilin. Bei geringerer struktureller Übereinstimmung (Stoffe Nr 4 und 5) fielen Kreuzreaktionen nur noch schwach aus oder traten überhaupt nicht auf (Stoff Nr 3).

Verblieben Naturkautschukfelle unter "harten", d.h. unter Okklusivbedingungen für 24 oder sogar 48 Stunden auf der Haut, so kam es zu starken Hautveränderungen, die z.T. auch zu Nekrosen führten. Damit wurden Situationen simuliert, die zum Beispiel dem Tragen von Gummihandschuhen bei schwerer Arbeit und Schweißbildung entsprechen könnten. Dennoch ist aus den Ergebnissen mit 6 c (Naturkautschukfell ohne Zusatz) zu erkennen, daß es nicht allein der Druck und die lange Applikationszeit sind, sondern die bei der Okklusion freigesetzten Stoffe, die zu den starken Veränderungen geführt haben. Der Einfluß von DBD bei vorliegender Sensibilisierung des Organismus ist dabei unverkennbar.

Enclosure 6

Excerpt from Report No. 20497, Bayer AG, Toxicology Department

2,2'-Dibenzamido diphenyl disulfide

Investigations for skin sensitizing potential with guinea pigs (Epicutaneous test according to Buehler), by Dr. L. Diesing (Study number: T 7039546)

2. Summary (p. 5)

On male guinea pigs the test sample, 2,2'-dibenzamido diphenyl disulfide, was examined for skin sensitizing effects with the epicutaneous test according to Buehler.

Testing was done with test sample concentrations as follows:

1st through 3rd induction:	25 %
Challenge application:	25 %

The test sample was formulated as a suspension in propylene glycol (1,2-propanediol).

Neither with the control animals nor with the treated animals did skin reactions occur following the induction or provocation treatment.
Under the conditions of the epicutaneous test, the test sample has no sensitizing potential.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY
WASHINGTON, D.C. 20460

Donald W. Lamb, Ph.D.
Vice President, Product Safety & Regulatory Affairs
Miles, Inc.
Mobay Road
Pittsburgh, Pennsylvania 15205-97412

OFFICE OF
PESTICIDES AND TOXIC
SUBSTANCES

APR 19 1994

EPA acknowledges the receipt of information submitted by your organization under Section 8(e) of the Toxic Substances Control Act (TSCA). For your reference, copies of the first page(s) of your submission(s) are enclosed and display the TSCA §8(e) Document Control Number (e.g., 8EHQ-00-0000) assigned by EPA to your submission(s). Please cite this number when submitting follow-up or supplemental information and **refer to the reverse side of this page for "EPA Information Requests"** .

All TSCA 8(e) submissions are placed in the public files unless confidentiality is claimed according to the procedures outlined in Part X of EPA's TSCA §8(e) policy statement (43 FR 11110, March 16, 1978). Confidential submissions received pursuant to the TSCA §8(e) Compliance Audit Program (CAP) should already contain information supporting confidentiality claims. This information is required and should be submitted if not done so previously. To substantiate claims, submit responses to the questions in the enclosure "Support Information for Confidentiality Claims". This same enclosure is used to support confidentiality claims for non-CAP submissions.

Please address any further correspondence with the Agency related to this TSCA 8(e) submission to:

Document Processing Center (7407)
Attn: TSCA Section 8(e) Coordinator
Office of Pollution Prevention and Toxics
U.S. Environmental Protection Agency
Washington, D.C. 20460-0001

EPA looks forward to continued cooperation with your organization in its ongoing efforts to evaluate and manage potential risks posed by chemicals to health and the environment.

12726 A

Sincerely,

Terry R. O'Bryan

Terry R. O'Bryan
Risk Analysis Branch

Enclosure

Printed on Recycled Pa

CECATS\TRIAGE TRACKING DBASE ENTRY FORM

CECATS DATA:
Submission # 8EHQ- 1092 - 12726 SEQ A

TYPE: INT SUPP FLWP

SUBMITTER NAME: Miles Inc.

INFORMATION REQUESTED: FLWP DATE:
0501 NO INFO REQUESTED
0502 INFO REQUESTED (TECH)
0503 INFO REQUESTED (VOL ACTIONS)
0504 INFO REQUESTED (REPORTING RATIONALE)

DISPOSITION:
0639 REFER TO CHEMICAL SCREENING
[redacted] CAP NOTICE

VOLUNTARY ACTIONS:
0401 NO ACTION REPORTED
0402 STUDIES PLANNED/UNDERWAY
0403 NOTIFICATION OF WORKER/OTHERS
0404 LABEL/MSDS CHANGES
0405 PROCESS/HANDLING CHANGES
0406 APP./USE DISCONTINUED
0407 PRODUCTION DISCONTINUED
0408 CONFIDENTIAL

SUB. DATE: 10/07/93 OTS DATE: 10/14/93 CSRAD DATE: 11/01/93

CHEMICAL NAME:

CAS#
135-57-9

INFORMATION TYPE:		P F C	INFORMATION TYPE:		P F C	INFORMATION TYPE:		P F C
0201	ONCO (HUMAN)	01 02 04	0216	EPI/CLIN	01 02 04	0241	IMMUNO (ANIMAL)	01 02 04
0202	ONCO (ANIMAL)	01 02 04	0217	HUMAN EXPOS (PROD CONTAM)	01 02 04	0242	IMMUNO (HUMAN)	01 02 04
0203	CELL TRANS (IN VITRO)	01 02 04	0218	HUMAN EXPOS (ACCIDENTAL)	01 02 04	0243	CHEM/PHYS PROP	01 02 04
0204	MUTA (IN VITRO)	01 02 04	0219	HUMAN EXPOS (MONITORING)	01 02 04	0244	CLASTO (IN VITRO)	01 02 04
0205	MUTA (IN VIVO)	01 02 04	0220	ECO/AQUA TOX	01 02 04	0245	CLASTO (ANIMAL)	01 02 04
0206	REPRO/TERATO (HUMAN)	01 02 04	0221	ENV. OCCC/REL/FATE	01 02 04	0246	CLASTO (HUMAN)	01 02 04
0207	REPRO/TERATO (ANIMAL)	01 02 04	0222	EMER INCI OF ENV CONTAM	01 02 04	0247	DNA DAM/REPAIR	01 02 04
0208	NEURO (HUMAN)	01 02 04	0223	RESPONSE REQEST DELAY	01 02 04	0248	PROD/USE/PROC	01 02 04
0209	NEURO (ANIMAL)	01 02 04	0224	PROD/COMP/CHEM ID	01 02 04	0251	MSDS	01 02 04
0210	ACUTE TOX. (HUMAN)	01 02 04	0225	REPORTING RATIONALE	01 02 04	0299	OTHER	01 02 04
0211	CHR. TOX. (HUMAN)	01 02 04	0226	CONFIDENTIAL	01 02 04			
0212	ACUTE TOX. (ANIMAL)	01 02 04	0227	ALLERG (HUMAN)	01 02 04			
0213	SUB ACUTE TOX (ANIMAL)	01 02 04	0228	ALLERG (ANIMAL)	01 02 04			
0214	SUB CHRONIC TOX (ANIMAL)	01 02 04	0239	METAB/PHARMACO (ANIMAL)	01 02 04			
0215	CHRONIC TOX (ANIMAL)	01 02 04	0240	METAB/PHARMACO (HUMAN)	01 02 04			

TRIAGE DATA:	NON-CBI INVENTORY	ONGOING REVIEW	SPECIES	TOXICOLOGICAL CONCERN:	USE:	PRODUCTION:
	YES (CONTINUE)	YES (DROP/REFER)	GP	LOW		
	NO (DROP)	NO (CONTINUE)		MED DERMAL SENSITIZATION		
	DETERMINE	REFER:		HIGH		

COMMENTS: Non-Cap

8(E): 12726
MEDIUM - DERMAL SENSITIZATION

Two dermal sensitization tests in guinea pigs resulted in 1) no dermal responses by Buehler epicutaneous method, and 2) 12/20 positive reactions at first challenge, and 11/20 at second challenge using the Magnusson and Kligman Maximization test.